CHỦ BIÊN
GS.TSKH. BÙI ĐẠI

VIÊM GAN VIRUT B & D

NHÀ XUẤT BẢN Y HỌC

BỆNH VIÊM GAN VI RÚT B VÀ D

CHỦ BIÊN
GS-TSKH BÙI ĐẠI

VIÊM GAN VI RÚT B VÀ D

NHÀ XUẤT BẢN Y HỌC
HÀ NỘI - 2002

Chủ biên: GS. TSKH **Bùi Đại**

Tham gia biên soạn:

GS. TSKH. **Bùi Đại**
PGS. TS. **Phạm Ngọc Đính**
TS. **Châu Hữu Hầu**
PGS.TS. **Đoàn Huy Hậu**
PGS.TS. **Hoàng Ngọc Hiển**
PGS. TS. **Nguyễn Anh Tuấn**
PGS.TS. **Nguyễn Kim Nữ Hiếu**
PGS. TS. **Nguyễn Văn Mùi**
PGS. TS. **Nguyễn Xuân Thắng**
PGS. TS. **Lê Thị Mỹ Dung**

LỜI GIỚI THIỆU

Từ chỗ còn biết rất ít về căn nguyên của bệnh viêm gan do vi rút, trong hàng chục năm qua, với sự cố gắng không mệt mỏi của các nhà khoa học trên các lĩnh vực vi rút học, miễn dịch học và lâm sàng bệnh học, đến nay chúng ta đã có thể liệt kê hàng chục loại vi rút có liên quan nhiều ít tới tình trạng bệnh lý của gan, một bộ phận vô cùng quan trọng trong cơ thể con người.

Trong số các vi rút là căn nguyên gây viêm gan, vi rút viêm gan B, và người bạn đồng hành khá thường xuyên của nó là vi rút Delta (hay vi rút viêm gan D) có vai trò đặc biệt quan trọng trong đời sống sức khỏe của hàng tỷ người dân trên thế giới, trong đó có Việt Nam. Virút viêm gan B có thể gây ra tình trạng viêm gan cấp tính, mạn tính, viêm gan kịch phát thường dẫn tới tử vong hay tình trạng mang vi rút kéo dài có thể dẫn đến xơ gan hoặc ung thư gan nguyên phát. Việt Nam được xác định là vùng dịch lưu hành cao, với tỷ lệ người dân mang dấu ấn vi rút viêm gan B từ khoảng 10% tới 20% (Hoàng Thủy Nguyên, 1995).

Cuốn sách do các tác giả Bùi Đại, Phạm Ngọc Đính, Châu Hữu Hầu, Đoàn Huy Hậu, Hoàng Ngọc Hiển cùng các cộng sự quân dân y biên soạn đã đề cập tới những nội dung rất cơ bản, từ vi rút học tới bệnh học lâm sàng và điều trị đối với các thể bệnh viêm gan do 2 loại vi rút B và D gây ra. Cuốn sách cũng cập nhật những thông tin có liên quan tới khía cạnh bệnh lý, điều trị, dự phòng của 2 thể viêm gan, từ những nguồn y văn gần đây nhất của thế giới và khu vực như : Viêm gan B và D ở người nhiễm HIV; Ghép gan trong điều trị viêm gan vi rút mạn; Điều trị viêm gan B bằng Interferon...

Với tính cơ bản nhưng cập nhật và với nội dung khá toàn diện và phong phú mà các tác giả đã cố gắng để đạt được, hy vọng rằng cuốn sách chuyên khảo này sẽ giúp ích phần nào cho các đồng nghiệp đang làm công tác chăm sóc bảo vệ sức khỏe trên cả lĩnh vực dự phòng và điều trị bệnh viêm gan do vi rút nói chung, viêm gan do vi rút B và D nói riêng.

Xin được trân trọng giới thiệu cuốn sách này với các thầy thuốc, các nhà nghiên cứu, các sinh viên y dược và toàn thể bạn đọc trong ngoài ngành đang quan tâm tới sức khỏe cộng đồng người Việt Nam.

Hà Nội, ngày 22 tháng 2 năm 2002

GS.TSKH PHẠM MẠNH HÙNG

Thứ trưởng thường trực Bộ Y tế

LỜI NÓI ĐẦU

Viêm gan do HBV là một bệnh truyền nhiễm có mặt ở mọi vùng địa lý và đang là mối quan tâm của y tế toàn cầu. Trên thế giới có hơn 2 tỷ người nhiễm HBV, hơn 350 triệu người mang HBV mạn, trong đó 60 triệu chết vì ung thư gan và 45 triệu chết vì xơ gan (Tổ chức Y tế thế giới, 1997). Việt Nam là một nước có mức nhiễm HBV vào loại cao với tỷ lệ mang HBsAg trung bình từ 10% tới 20% (Hoàng Thủy Nguyên, Nguyễn Thu Vân và cs. 1995). Nếu tính chung cả những người có mang ít nhất 1 trong 3 dấu ấn HBsAg, anti HBs và anti HBc thì tỷ lệ nhiễm HBV lên tới 45%-70%. Tỷ lệ viêm gan cấp tính do HBV hiện chiếm 37%-49%, tỷ lệ xơ gan có HBV là 47%-87% và tỷ lệ ung thư gan có HBV là 57%-80%. HBV được xem là tác nhân hàng đầu gây ung thư gan nguyên phát ở người.

Viêm gan do HBV còn là bệnh có những đặc điểm gây trở ngại cho việc phát hiện, dự phòng và điều trị: (i) Hệ gen của HBV không bền vững, dễ đột biến; nhiều thể đột biến đã được xác định như đột biến tiền lõi, biến dị YMDD ... (ii) Vẫn còn những cấu trúc của HBV chưa thật sáng tỏ, ví dụ protein X, hay ngay cả HBeAg. (iii) Đường lây truyền của virut rất đa dạng, bao gồm cả lây truyền dọc (mẹ truyền cho con) và truyền ngang sảy ra trong suốt cuộc đời. (iiii) Nguy cơ phát triển thành xơ gan, ung thư gan ở những người nhiễm HBV mạn rất cao, có thể gấp 15 tới 100 lần so với cộng đồng không bị nhiễm.

Trong 2 thập niên gần đây, nhờ sự phát triển của các lĩnh vực sinh học phân tử, virut học, miễn dịch học, nhiều thành tựu nghiên cứu về căn nguyên, bệnh lý học, điều trị và dự phòng viên gan B đã được mở ra. Tuy nhiên cũng không ít các vấn đề còn đang để ngỏ và đang được bàn luận, nghiên cứu. Để nâng cao hơn nữa hiệu quả công tác chẩn đoán, điều trị và dự phòng viêm gan B, cũng như góp phần giải quyết các vấn đề còn tồn tại, cần có nhiều tài liệu tham khảo cơ bản và hệ thống có chất lượng về vấn đề này.

Xuất phát từ những thực tế trên, nhóm tác giả, trên cơ sở các y văn cơ bản và cập nhật trong và ngoài nước, kết hợp với kinh nghiệm nhỏ bé của mình đã cố gắng biên soạn cuốn sách chuyên khảo về viêm gan virut B và D. Mục đích của sách nhằm giới thiệu một cách tương đối hệ thống các tài liệu và số liệu trên các lĩnh vực chẩn đoán, điều trị bệnh nhân viêm gan B và D, cũng như dự phòng bệnh ở mức cá thể và cộng đồng. Trong đào tạo và huấn luyện cán bộ chuyên khoa và trong nghiên cứu khoa học, với các nhà nghiên cứu, cuốn sách còn có mục đích gợi mở một số nội dung còn để ngỏ, giúp cho việc lựa chọn đề tài trong nghiên cứu và đào tạo.

Cuốn sách bao gồm 23 chương, trừ một chương tổng quan chung về các loại bệnh viêm gan virut, còn lại đi vào các nội dung chuyên khảo của viêm gan do HBV và HDV. Một phụ lục thuật ngữ chuyên môn ở phần cuối sách có thể giúp người đọc dễ nắm bắt vấn đề hơn. Cuối mỗi chương đều có tài liệu tham khảo chủ yếu. Những nội dung có tính thời sự đã được đề cập trong các chương của cuốn sách là:

– Tính không bền vững hệ gen HBV và nguyên nhân.

– Diễn biến lâm sàng VGB và vấn đề chuyển sang nhiễm virut kéo dài, viêm gan mạn và cơ chế viêm gan mạn.

– Viêm gan kịch phát và cơ chế của viêm gan kịch phát.

– Nguy cơ và cơ chế truyền nhiễm chu sinh; đánh giá đường lây truyền qua côn trùng.

– Đáp ứng miễn dịch dịch thể và miễn dịch tế bào trong viêm gan B dưới ánh sáng của những hiểu biết mới về miễn dịch và sinh học phân tử.

– Ý nghĩa của các kỹ thuật chẩn đoán viêm gan B, đặc biệt trong đánh giá nguy cơ tái nhiễm; ý nghĩa marker virut ở người tiêm chủng, nhất là với các vacxin mới có protein pré S; một số kiểu marker bất thường.

– Chẩn đoán mô học trong viêm gan B cấp và mạn tính.

– Chỉ định và đánh giá điều trị viêm gan mạn bằng interferon, bằng lamivudin và các chất tương tự nucleosid.

– Điều trị bằng ghép gan và duy trì kết quả ghép.

– Dự phòng và kiểm soát viêm gan B bằng các cơ chế đặc hiệu, nhất là dùng các thế hệ vacxin; vấn đề chủng ngừa và tái chủng cho trẻ em các lứa tuổi.

– Đồng nhiễm và bội nhiễm HBV với HDV, HIV.

– Những vấn đề nêu trên đã được các tác giả cố gắng cập nhật bằng những y văn mới nhất trong và ngoài nước.

Chúng tôi xin chân thành cảm ơn các Giáo sư, Bác sỹ trong và ngoài nước đã cho chúng tôi được tham khảo, sử dụng những kết quả nghiên cứu, những y văn đã được báo cáo trong các hội nghị, hội thảo, đăng in, hoặc đưa lên mạng thông tin khu vực và quốc tế.

Chúng tôi trân trọng cảm ơn Bộ Y tế và Nhà xuất bản Y học đã hết sức giúp đỡ trong việc xuất bản cuốn sách này.

Trong quá trình biên soạn không thể tránh khỏi những thiếu sót, một vài trùng lặp giữa các chương, mục và các khiếm khuyết trong ngôn từ, xin độc giả lượng thứ và cho chúng tôi những ý kiến đóng góp quý báu.

TM. CÁC TÁC GIẢ

Chủ biên

GS. TSKH Bùi Đại

MỤC LỤC
VIÊM GAN VIRUT B VÀ D

Mục lục

Bảng viết tắt

Chương 1: Tổng quan về các loại viêm gan virut

Chương 2: Lịch sử VG virut B

Chương 3: Cấu trúc của virut VG B

Chương 4: Sự sao chép virut VG B

Chương 5: Các biến dị phân tử của virut VG B

Chương 6: Các loại virut VG B ở loài vật

Chương 7: Dịch tễ học VG B

Chương 8: Các khía cạnh đáp ứng miễn dịch trong nhiễm HBV

Chương 9: Các xét nghiệm trong VG virut

Chương 10: Chẩn đoán VG B cấp và mạn tính

Chương 11: Điều trị VG B mạn bằng interferon

Chương 12: Điều trị VG B mạn bằng các chất tương tự nucleosit

Chương 13: Các phương pháp điều trị trong VG mạn khác

Chương 14: Viêm gan kịch phát

Chương 15: Ghép gan trong điều trị VG virut mạn

Chương 16: Các khía cạnh phân tử của ung thư tế bào gan

Chương 17: Quá trình tiến triển của VG B mạn, chẩn đoán và xử trí ung thư tế bào gan nguyên phát

Chương 18: Viêm gan do truyền máu

Chương 19: VG virut B và D ở trẻ em

Chương 20: Các khía cạnh nghề nghiệp của viêm gan B và D

Chương 21: Dự phòng và kiểm soát VG B

Chương 22: VG virut D

Chương 23: VG B và D ở người nhiễm HIV

Thuật ngữ chuyên môn sử dụng trong cuốn sách

Sách tham khảo về thuật ngữ

BẢNG VIẾT TẮT

♥♥♥

Aa: axit amin
AFP: Alpha foetal protein
ALT: Alanine aminotransferase
AST: Aspartate aminotransferase
BCĐNMNV: Bạch cầu đơn nhân máu ngoại vi
BN: Bệnh nhân
VG: Viêm gan
CS: Cộng sự
DHBV: Duck Hepatitis B Virus
GGĐVT: Ghép gan đúng vị trí
GHTBT: giới hạn trên bình thường
HAV: Hepatitis A Virus
HBcAg: Hepatitis B core antigen
HBeAg: Hepatitis B e antigen
HBsAg: Hepatitis B surface antigen
HBV: Hepatitis B virus
HCV: Hepatitis C virus
HDV: Hepatitis D virus
HEV: Hepatitis E virus
HGV: Hepatitis G virus
IFN: Interferon
KAKB: không A không B
KĐM: khung đọc mở
LAM: lamivudine
Nt: nucleotit
NVCSSK: Nhân viên chăm sóc sức khỏe
PHPHTCC: Phức hợp phù hợp tổ chức chính
TBGTN: Tế bào giết tự nhiên
TBĐNMNV: Tế bào đơn nhân máu ngoại vi
TBTGĐTB: Tế bào T gây độc tế bào
UTTBG: Ung thư tế bào gan
VG: viêm gan
VGKP: viêm gan kịch phát
WHBV: Woodchuck Hepatitis B Virus

Chương 1

TỔNG QUAN VỀ CÁC LOẠI VIÊM GAN VIRUT

Trang

1.SƠ LƯỢC VỀ VIÊM GAN VIRUT 12
2.CÁC ĐẶC TRƯNG CHỦ YẾU CỦA VG VIRUT 12
2.1. Thời kỳ tiền triệu của VG virut cấp 13
2.2. Thời kỳ toàn phát của VG virut cấp 14
2.3. Thời kỳ hồi phục của VG virut cấp 14
2.4. VG virut tái phát 14
2.5. VG virut kịch phát 15
3.CÁC LOẠI VG VIRUT .....
3.1. VG VIRUT A (HAV) 16
3.1.1. Bộ gen HAV 16
3.1.2. Dịch tễ học VG virut A 16
3.1.3. Triệu chứng lâm sàng nhiễm HAV 18
3.1.3.1. Thời kỳ nung bệnh và thời kỳ toàn phát 18
3.1.3.2. Thời kỳ hồi phục 19
3.1.4. Chẩn đoán nhiễm HAV 19
3.1.5. Các thể lâm sàng của VG virut A 20
3.1.5.1.VG A ứ mật 20
3.1.5.2.VG A tái phát 20
3.1.6. Điều trị và dự phòng VG virut A 20
3.2. VG VIRUT B (HBV) 20
3.2.1. Bộ gen HBV 20
3.2.2. Dịch tễ học của HBV 21
3.2.3. Triệu chứng lâm sàng của nhiễm HBV 22
3.2.3.1. Nhiễm HBV cấp 22
3.2.3.2. Nhiễm HBV mạn 24
3.2.3.3. Liên quan giữa các đột biến HBV đối với diễn tiến lâm sàng 26
3.2.4. Chẩn đoán nhiễm HBV 26
3.2.5. Các thể lâm sàng ngoài gan của nhiễm HBV 26
3.2.5.1. Viêm đa động mạch 26
3.2.5.2. Viêm cầu thận màng 27
3.2.5.3. Đau nhiều cơ do thấp 27
3.2.5.4. Crioglobulin-huyết hỗn hợp vô căn 27
3.2.5.5. Bệnh thần kinh 27
3.2.5.6. Viêm cơ tim 27
3.2.5.7. Thiếu máu bất sản 27
3.2.5.8. Viêm tụy cấp 27
3.2.6. Điều trị VG virut B 27
3.2.7. Dự phòng VG virut B 28
3.3. VG VIRUT DELTA (HDV) .....
3.3.1. Bộ gen HDV 28
3.3.2. Dịch tễ học nhiễm HDV 28
3.3.3. Chẩn đoán nhiễm HDV 29

3.3.4. Các thể lâm sàng nhiễm HDV 29
3.3.4.1. Thể đồng nhiễm 29
3.3.4.2. Thể bội nhiễm 29
3.3.5. Điều trị và dự phòng nhiễm HDV 30
3.4. VG VIRUT C (HCV) 30
3.4.1. Bộ gen HCV 30
3.4.2. Dịch tễ học nhiễm HCV 31
3.4.3. Chẩn đoán VG virut C 32
3.4.4. Các thể lâm sàng VG virut C 32
3.4.4.1. VG HCV cấp 32
3.4.4.2. VG HCV mạn 32
3.4.5. Các đặc trưng lâm sàng ngoài gan nhiễm HCV 34
3.4.6. Tương quan của nhiễm HCV với các virut khác 35
3.4.7. Liên quan của nhiễm HCV và rượu 35
3.4.8. VG mạn tự miễn và nhiễm HCV mạn 36
3.4.9. Điều trị và dự phòng VG virut C 36
3.5. VG VIRUT E (HEV) 37
3.5.1. Bộ gen HEV 37
3.5.2. Dịch tễ học nhiễm HEV 37
3.5.3. Các đặc trưng lâm sàng VG virut E 38
3.5.4. Chẩn đoán nhiễm HEV 38
3.5.5. Điều trị và dự phòng nhiễm HEV 39
3.6. VG VIRUT G (HGV) 39
3.6.1. Bộ gen HGV 39
3.6.2. Dịch tễ học HGV 40
3.6.3. Các đặc trưng lâm sàng nhiễm HGV 40
3.6.4. Chẩn đoán nhiễm HGV 40
3.6.5. Điều trị và dự phòng VG virut G 41
4. CÁC VIRUT VG NHIỄM QUA ĐƯỜNG MÁU MỚI PHÁT HIỆN 42
4.1. VIRUT TTV 42
4.1.1. Cấu trúc bộ gen virut TTV 42
4.1.2. Dịch tễ học virut TTV 43
4.1.3. Sinh bệnh học và các đặc trưng lâm sàng nhiễm TTV 43
4.2. Các VIRUT mới Phát hiện khác 44
5. TÓM TẮT 45

1. SƠ LƯỢC VỀ VIÊM GAN VIRUT

Khái niệm VG virut để chỉ chung các thể bệnh viêm gan có căn nguyên sinh bệnh là virut. Hiện nay, virut VG đã hình thành một danh sách theo mẫu tự la tinh ngày càng dài, thường xếp từ A, B, C, D, E, G. Trong đó chỉ có 3 virut A, E và G là truyền theo đường phân miệng, các virut khác truyền theo đường máu (G cũng có thể truyền theo đường máu). Năm 1994, virut VG F được báo cáo, nhưng hiện nay người ta xem đây chỉ là một biến dị của HBV gặp ở Nhật Bản. Gần đây, một số tác nhân gây VG virut khác đã được báo cáo tại các hội nghị về VG như TTV vào năm 1999, đến nay đã có 16 kiểu huyết thanh TTV; virut SEN vào năm 1999, đến nay đã có 8 kiểu huyết thanh; virut SANBAN; virut nhỏ tương tự

TTV (TLMV= TTV-like minivirut); virut YONBAN; virut Sentinel (SNTV)... Các virut mới phát hiện được cho là không gây bệnh cảnh lâm sàng và chỉ là các tác nhân nội cộng sinh trong cơ thể.

VG A là một bệnh tự giới hạn, lan truyền theo đường tiêu hóa, chỉ gây bệnh cấp tính, có thể phát triển thành dịch lớn. VG B là một bệnh truyền nhiễm theo đường máu thường trở nên mạn tính. VG D lan truyền theo đường máu và chỉ gây bệnh khi HDV RNA được bao bọc bằng vỏ ngoài của virut VG B, có thể trở thành mạn tính. VG C truyền nhiễm theo đường máu có tỉ lệ mạn tính khá cao và là nguyên nhân chính của các VG sau truyền máu. VG E và VG G, tương tự như VG A, lan truyền theo đường tiêu hóa, thường do nước ô nhiễm và gây VG tự giới hạn ở các nước đang phát triển. Chắc chắn sẽ còn các thành viên VG khác sẽ được phát hiện, tuy rằng hiện nay cách đặt tên ban đầu có thể chưa theo thứ tự alphabet. Hiện vẫn còn một số trường hợp VG được xác định là do virut, nhưng tác nhân vẫn chưa được xác định (bảng 1-2).

Tại Việt Nam, các tác nhân VG virut hiện đã được xác định là có mặt đầy đủ. Nhiều tác nhân gây nhiễm rất cao (HAV, HBV), một số các tác nhân có nhiều nguy cơ gia tăng (HCV, HEV). VG virut thực sự tác động lên sức khỏe của nhân dân, cần đến các chiến lược đúng đắn, lâu dài để phòng chống các tác nhân này. Theo Hoàng Thủy Nguyên, Phạm Song tỷ lệ nhiễm các virut VG trong cộng đồng người Việt Nam (1990-97) như sau (bảng 1-1):

Bảng 1-1. Tỷ lệ nhiễm HAV, HBV, HCV, HDV và HEV trong cộng đồng người Việt Nam.

Đối tượng	HAV	HBV	HCV	HDV	HEV
Cộng đồng người khỏe mạnh	92% (IgG anti-HAV)	15-26% (HBsAg)	0,4-1,35% (anti-HCV)	9,2% (anti-HDV bằng RIA)	
BN VG virut cấp	36,9% (IgM anti-HAV)	45% (IgM anti-HBc)	10,69% (anti-HCV+ và ALT ↑)		7,6%

2. CÁC ĐẶC TRƯNG CHỦ YẾU CỦA VG VIRUT

Thể bệnh nhẹ nhất là thường không triệu chứng, hoặc chỉ tăng nhẹ transaminase huyết thanh, thường được gọi là bệnh cảnh dưới lâm sàng. Đa số BN không vàng da nhưng có thể có một vài triệu chứng đường tiêu hóa và triệu chứng giống cúm. BN thường không được chẩn đoán, trừ khi có một bệnh sử phơi nhiễm rõ ràng hay đang được theo dõi sau truyền máu. Mức độ bệnh VG virut rất thay đổi: từ thể dưới lâm sàng, đến thể vàng da thường hồi phục hoàn toàn, một số ít diễn tiến đến VG virut kịch phát dễ tử vong. Một số loại virut VG lại có thể diễn tiến đến tình trạng mạn tính (B, C, D, G).

2.1. THỜI KỲ TIỀN TRIỆU CỦA VG VIRUT CẤP

VG có vàng da thường gặp ở người lớn, thường có một thời kỳ tiền triệu, độ 3 hoặc 4 ngày, nhưng có thể 2-3 tuần. Trong thời kỳ này, BN thường cảm thấy mệt

mỏi, có triệu chứng đường tiêu hóa nhất là biếng ăn, buồn nôn. Sốt nhẹ có thể gặp trong các giai đoạn muộn hơn, thường không có rét run. BN có cảm giác tức hoặc đau ở hạ sườn phải, đau tăng thêm khi cử động. BN mất cảm giác ngon miệng khi hút thuốc hoặc uống rượu. BN thường xuyên thấy rất khó chịu, tình trạng khó chịu tăng lên vào buổi chiều, đôi khi nhức đầu nặng nề. Ở trẻ em, nhức đầu thường đi kèm với cổ cứng. Protein và tế bào lympho có thể tăng lên trong dịch não tủy.

2.2. THỜI KỲ TOÀN PHÁT CỦA VG VIRUT CẤP

Sau thời kỳ tiền triệu, nước tiểu dần dần trở nên có màu vàng sẫm và phân màu trắng. Các triệu chứng chủ quan giảm dần nhưng vàng da ngày càng phát triển, nhiệt độ trở về bình thường và nhịp tim có thể chậm.

Đôi khi vàng da kéo dài theo kiểu ứ mật. Khởi phát cấp tính; vàng da xuất hiện và màu ngày càng sẫm, trong vòng 3 tuần BN bắt đầu ngứa. Sau vài tuần đầu, BN cảm thấy tốt hơn, trọng lượng tăng trở lại, không có các dấu hiệu thực thể ngoại trừ vàng da và gan to nhẹ. Vàng da tồn tại trong 8-29 tuần lễ, sau đó hồi phục hoàn toàn. Cần phân biệt với:

- *Vàng da tắc nghẽn ngoại khoa*: khởi phát cấp và gan to trung bình.
- *Vàng da do thuốc gây ứ mật*: loại trừ qua bệnh sử.

BN dần dần có cảm giác ngon miệng trở lại và tình trạng ấm ách ở bụng và buồn nôn giảm dần. Cảm giác ngứa có thể xuất hiện trong một ít ngày. Các biến chứng thần kinh, như hội chứng Guillain-Barré, có thể gặp ở tất cả các thể của VG virut. Gan sờ chạm tay với bờ nhẵn và đau trong đa số BN. Khi gõ mạnh vào các xương sườn dưới phía sau bên phải, BN có cảm giác khó chịu, lợm giọng. Lách có thể sờ chạm trong khoảng 20% BN.

2.3. THỜI KỲ HỒI PHỤC CỦA VG VIRUT CẤP

Ở BN người lớn, sau thời kỳ vàng da từ 1-4 tuần, bệnh thường hồi phục dần, giảm độ 2-4 kg, sao mạch có thể xuất hiện. Ở trẻ em, sự hồi phục thường rất nhanh và vàng da chỉ thoáng qua hoặc không có. Sau khi có biểu hiện hồi phục, phân trở lại màu bình thường, BN cảm thấy ngon miệng, nhưng vẫn còn tình trạng uể oải và mệt mỏi trong vài tuần. Hồi phục lâm sàng và sinh hóa thường hoàn toàn trong vòng 6 tháng sau khi khởi bệnh. Tuy nhiên, VG có thể trở thành mạn tính sau khi nhiễm các virut VG kiểu B, C, D và một virut mới được phát hiện gần đây là virut VG G.

2.4. VG VIRUT TÁI PHÁT

Sau VG virut cấp, tái phát xảy ra từ 1,8%-15% các trường hợp. Tái phát thường có bệnh cảnh lâm sàng nhẹ hơn, thường chỉ được xác định bằng nồng độ transaminase huyết thanh tăng lên và đôi khi bilirubin cũng tăng. Tái phát có thể xảy ra nhiều đợt, nhưng phục hồi sau tái phát thường hoàn toàn. Tùy theo loại virut gây VG, các đợt tái phát có thể tiến triển đến tình trạng VG mạn.

2.5. VG VIRUT KỊCH PHÁT

VG kịch phát (VGKP) thường xuất hiện ở BN trong vòng 10 ngày. VGKP có thể phát triển khá nhanh trong khi vàng da chỉ biểu hiện kín đáo và chẩn đoán bị lầm với bệnh tâm thần cấp hoặc viêm não màng não. Sau một khởi phát cấp điển hình, BN vàng da đậm hơn. Các dấu hiệu xấu là ói mửa liên tục, có mùi hôi VG, lẫn lộn và ngủ gà. Sự run bần bật có thể chỉ tạm thời và thường có co cứng cơ. Hôn mê xảy ra nhanh chóng và BN có dấu hiệu suy gan cấp. Nhiệt độ tăng lên, vàng da đậm hơn và gan teo nhỏ lại. Xuất huyết lan rộng có thể xảy ra.

Bảng 1-2. So sánh các đặc điểm và bệnh lý của các virut VG.

Virut	HAV	HBV	HCV	HDV	HEV	GBV-C/HGV
Axit nucleic	SsRNA	dsDNA/ssDNA	SsRNA(+)	SsRNA	SsRNA(+)	SsRNA
Họ	(+)	Hepadnavirut	Flavivirut	Viroid?	Tựa Caliciviruts	Flavivirut
Kích cỡ hạt (nm)	Picornavirut	42 (Dane)	55-65	30-35	27-34	30-60
Truyền nhiễm	27	Máu/tình dục	Máu/tình dục	Máu/tình dục	Phân miệng	Máu, phân miệng
Ủ bệnh (ngày)	Phân-miệng	45-160	14-180	42-180	15-64	?
Khởi phát	15-50	Âm thầm	Âm thầm	Đột ngột	Đột ngột	?
Mức độ trầm trọng	Đột ngột	Đôi khi nặng	Thường dưới lâm sàng	Đồng, bội nhiễm HBV	Nhẹ, trừ khi mang thai	± VG kịch phát
Mạn tính	Nhẹ	Có	Có	Có	Không	Có
Bệnh khác	Không	UTTBG, xơ gan	UTTBG, xơ gan	Xơ gan, VG kịch phát	Không	?
Tử vong	Không	1-2%	0,5-1%		1-20%, cao nhất khi mang thai	?
	<0,5%					
Xét nghiệm	Huyết thanh học phát hiện các dấu ấn kháng nguyên, không phân lập virut					
Vacxin	Có	Có	Không	Có, vacxin HBV	Không	Không
Kháng thể thụ động	ISG	HBIG	ISG-không chắc chắn	Không	Không	Không
Điều trị	Không	Mạn,IFN-α	Mạn,IFNα	Không	Không	Không

Viết tắt: UTTBG: ung thư tế bào gan; ISG: globulin huyết thanh miễn dịch; HBIG: globulin miễn dịch VG B; IFN-α: interferon-α. SsRNA, RNA mạch đơn. DsDNA, DNA mạch kép.

3. CÁC LOẠI VG VIRUT

3.1. VG VIRUT A (HAV)

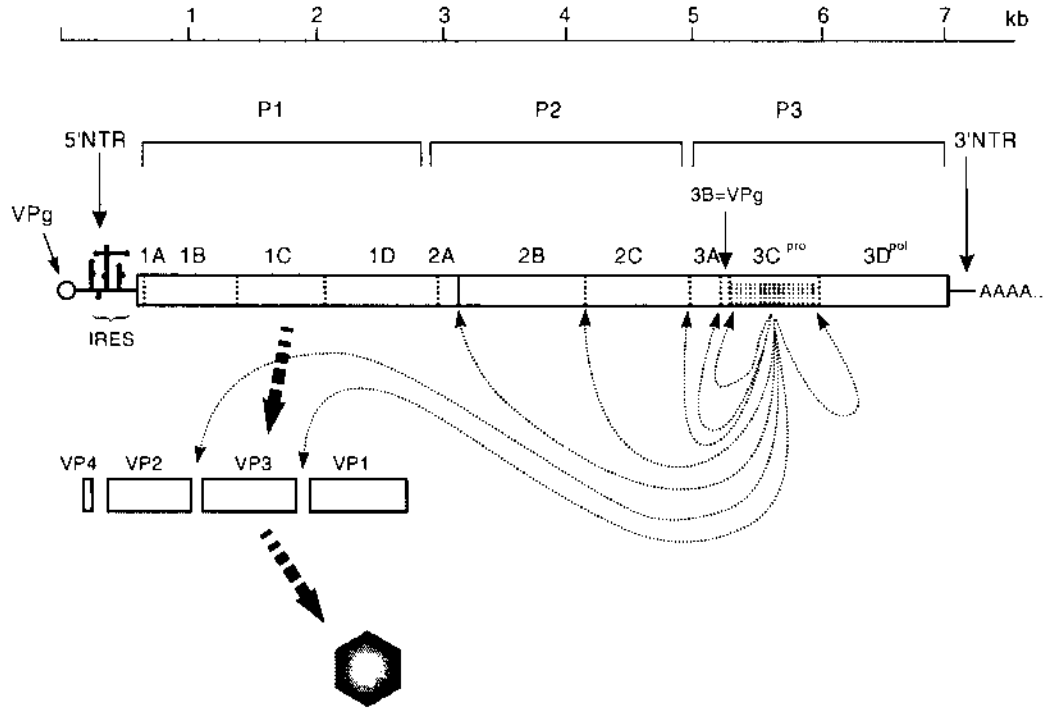
3.1.1. Bộ gen HAV

HAV thuộc họ Picornaviridae, là một virut RNA mạch đơn, dài khoảng 7,5 kb, không có vỏ ngoài. Hạt virut toàn vẹn có 4 polypeptit capsid bao quanh RNA virut, được đánh số từ VP1 đến VP4. Protein thứ tư (VP4) cũng đã được mô tả nhưng trọng lượng phân tử được báo cáo (7-14kDa) khác với dự đoán trước đây (1,5 hoặc 2,3 kDa).

3.1.2. Dịch tễ học VG virut A

VG do virut VG A xảy ra tản phát hoặc thành dịch và có một thời gian ủ bệnh từ 15 đến 50 ngày. Bệnh thường lan truyền bằng con đường phân miệng. Truyền nhiễm theo đường máu là cực kỳ hiếm, nhưng cũng có thể truyền sau truyền máu và dịch thay thế máu không xử lý do người cho ở trong giai đoạn ủ bệnh VG A vì HAV thường có trong máu BN một số ngày cuối thời kỳ ủ bệnh (hình 1-1).

VG A phổ biến trên toàn thế giới, cao ở nước đang phát triển và cả ở nước chưa phát triển với các tính chất dịch tễ học khác nhau.



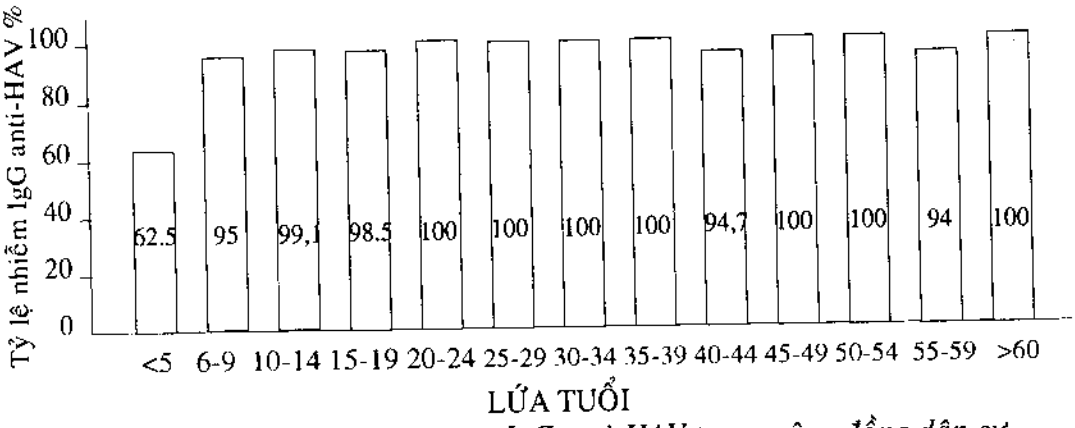
Hình 1-1. Cấu trúc virut VG A và các sản phẩm.

RNA virion có chiều dài 7,5 kb, cực tính dương, chứa 3 vùng chính: các vùng không dịch mã 5' và 3' (5'NTR và 3'NTR) và một khung đọc mở lớn duy nhất mã hóa polyprotein virut (hình chữ nhật lớn). Nt đầu tận 5' của 5'NTR gắn kết đồng dịch mã vào một protein virut nhỏ (3B, còn gọi là VPg). 3'NTR có một dải poly(A) đầu tận 3'. 5'NTR chứa cấu trúc RNA quan trọng tạo thành điểm vào bên trong ribosom (IRES) điều khiển dịch mã polyprotein virut. Polyprotein này có thể phân chia thành 3 vùng (P1, P2 và P3); mỗi vùng được phân giải nhằm sản xuất ra các protein virut nhỏ hơn (như 1A, 1B và 1C). Protein capsit VP1 (1D), VP2 (1B), VP3 (1C) (và có lẽ VP4, 1A), được vùng P1mã hóa, và các protein không cấu trúc được mã hóa bởi các vùng P2 và P3. Các protein này gồm một nucleosit triphosphataza (2C) có hoạt tính helicaza; VPg (3A), có thể giữ một vai trò khởi đầu tổng hợp RNA mới; một proteaza đặc hiệu virut ($3C^{pro}$, vùng đậm); và một RNA polymeraza phụ thuộc RNA ($3D^{pro}$). Sự phân giải của polyprotein được điều khiển hoàn toàn bởi $3C^{pro}$. Các đường chấm cho thấy hoạt tính phân cắt của proteaza này cũng có hoạt tính gắn kết RNA và giữ một vai trò trong sao chép RNA.

Ở các nước đang phát triển như châu Á, HAV là dịch lưu hành. Các nước như Ấn Độ và Indonesia, nơi có gần 100% trẻ em dương tính đối với IgG anti-HAV vào tuổi lên 10. Tuy nhiên, VG A tại đây thường là dưới lâm sàng. Nhiễm virut xảy ra ở tuổi còn nhỏ và gây miễn dịch gần như suốt đời. Vì thế, VG toàn phát do HAV hiếm xảy ra.

Ở các nước phát triển cao, tần suất nhiễm HAV những năm gần đây đã giảm xuống. Hậu quả là phần lớn thanh niên trong các nước này hiện nay trở thành người dễ mắc bệnh vì người lớn thường đã có kháng thể do nhiễm virut từ lúc nhỏ. Hiện nay, ở các nước này, VG A đã trở thành một bệnh của người đi du lịch, nhất là thanh niên du lịch ba lô rẻ tiền. Sự hiện diện của một cộng đồng trưởng thành không có kháng thể anti-HAV nên từ đó dịch bệnh có thể xảy ra nếu các tiêu chuẩn vệ sinh hoặc các điều kiện cải thiện vệ sinh bị buông lỏng như các trận dịch lan rộng gần đây ở những người nam đồng tính Australia.

Tại Việt Nam, một nghiên cứu dịch tễ học ngẫu nhiên, cắt ngang theo cụm về tình hình nhiễm HAV đã được nghiên cứu trong cộng đồng của huyện Tân Châu, tỉnh An Giang. Kết quả cho thấy cộng đồng này có tần suất nhiễm IgG anti-HAV khá cao 97,0 ± 1,5%. Do tần suất nhiễm IgG anti-HAV quá cao nên không có yếu tố nguy cơ nào được phân tích có ý nghĩa. Lứa tuổi từ 0-9 có tỷ lệ nhiễm 81,8%, 10-19 tuổi 97,6%, 40-49 tuổi 93,7%. Ngoài ra các lứa tuổi khác đều bị nhiễm 100%. Trong cộng đồng này, nhiễm IgG anti-HAV xảy ra rất sớm, trẻ dưới 5 tuổi đã mang IgG anti-HAV là 62,5% và dưới 3 tuổi đã có 50% mang kháng thể (hình 1-2).



***Hình 1-2.** Tỷ lệ người mang IgG anti-HAV trong cộng đồng dân cư huyện Tân Châu, An Giang.*

3.1.3. Triệu chứng lâm sàng nhiễm HAV

Nhiễm HAV có thể gây ra nhiều hậu quả lâm sàng khác nhau, từ nhiễm virut không vàng da im lặng chỉ được phát hiện qua xét nghiệm huyết thanh, đến các trường hợp dưới lâm sàng với các bất thường sinh hóa của chức năng gan, và VG vàng da cổ điển cho đến suy gan kịch phát dẫn đến hôn mê (0,3%). Các yếu tố ảnh hưởng đến các kiểu bệnh khác nhau chưa được hiểu rõ hoàn toàn, nhưng có lẽ quan trọng nhất là tuổi. Về mặt lâm sàng, VG A toàn phát thường tăng theo tuổi trong đa số các báo cáo. Triệu chứng lâm sàng khác biệt khá rõ ở người lớn và trẻ em. Độ 5% trẻ dưới 3 tuổi, 10 % trẻ từ 4 đến 6 tuổi và hơn 80% ở người lớn phát triển bệnh cảnh lâm sàng vàng da.

3.1.3.1. Thời kỳ nung bệnh và thời kỳ toàn phát

Nung bệnh 15-50 ngày, khởi phát thường đột ngột, nhiễm virut lâm thời từ 3-5 ngày; thời kỳ cấp trung bình 6 tuần, tối đa 3 tháng.

Khi triệu chứng vàng da-mắt xuất hiện, tất cả không còn sốt, tuy nhiên nôn ói, đau hạ sườn phải vẫn còn khoảng 10-14 ngày sau. Gan to chỉ được phát hiện ở 36% BN. Không có trường hợp nào có lách to. Nồng độ bilirubin trung bình 3,66 ± 2,97 mg/100 ml, ALT khoảng 453 ± 58 IU/l. Nồng độ bilirubin ở trẻ bệnh thấp hơn ở người lớn một cách ý nghĩa, được giải thích là ở trẻ em mức độ vàng da-mắt ít hơn ở người lớn. Bệnh diễn tiến tốt, không có tử vong, xuất viện sau 3-4 tuần (hình 1-3).

Nguyễn Hữu Chí và cs nghiên cứu trên 360 người (trong đó có 175 người thuộc nhóm chứng), có nhận xét như sau: trong nhóm VG cấp, HAV là nguyên nhân gây nhiễm hàng đầu. Tỷ lệ VG A rất cao ở trẻ em dưới 5 tuổi (100%) và giảm dần theo lứa tuổi (79,68% ở tuổi 6-12, 29,73% ở trẻ trên 12 tuổi và người lớn). BN nhập viện suốt cả năm, nhưng có 2 thời điểm cao nhất vào tháng 3-4 và tháng 8-9. Triệu chứng

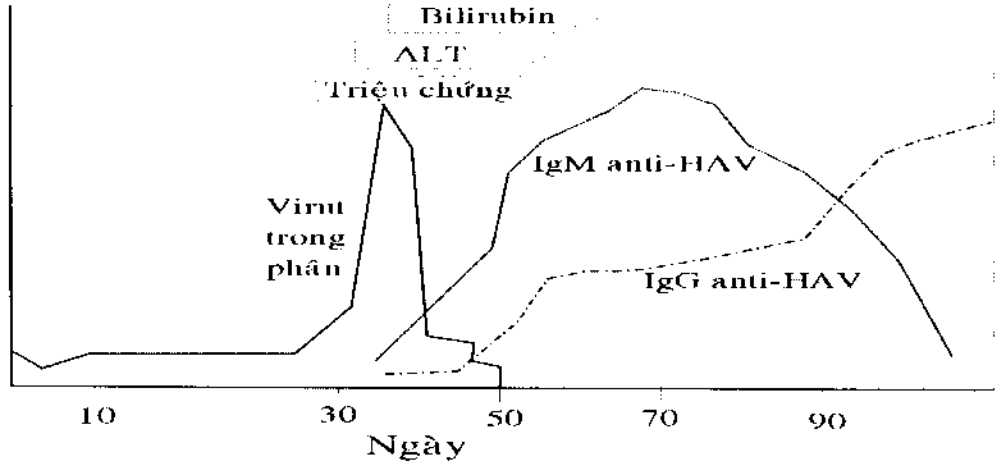
trước khi có dấu hiệu vàng da-mắt: sốt nhẹ (81,05%), nôn ói (64,21%), mệt mỏi (62,10%), đau hạ sườn phải (48,42%), đau cơ (11,58%), đau khớp (5,26%), ngứa (21,05%), phát ban (4,21%). Các dấu hiệu này xuất hiện và kéo dài khoảng 5-10 ngày trong 82% các trường hợp.

Theo Lê Đăng Hà, triệu chứng sốt hay gặp trong VG A cấp hơn VG B và VG E. Các biểu hiện nặng của bệnh (mệt lả, dịch ổ bụng , lách to, hôn mê gan...) chỉ gặp ở nhóm BN VG B cấp mà hiếm gặp ở BN VG A, chứng tỏ về mặt lâm sàng VG A cấp nhẹ hơn VG B cấp.

3.1.3.2. Thời kỳ hồi phục

Sau thời kỳ hồi phục, BN có thể hoàn toàn bình phục trong 6-12 tháng, tế bào gan về bình thường trong 3 tháng, tỷ lệ khỏi hoàn toàn là 99%. Biến chứng của VG A tương đối ít gặp: có thể là vàng da ứ mật với ngứa và sốt.

Tử vong vì VG A là 0,17% ở tuổi 1-14, 0,3% ở lứa tuổi 15-19 và 2,1% ở lứa tuổi trên 40 (Bùi Đại, tháng 9/2000). Tiên lượng tùy theo tuổi, BN cao tuổi hay có biến chứng. Thể kịch phát do HAV hãn hữu: trong số 188 VG virut kịch phát ở Hoa Kỳ, HAV chỉ chiếm 2% (Rakela J và cs 1978).



Hình 1-3. *Quá trình VG A cấp*
(ALT: Alanin aminotransferase; HAV: virut VG A).

3.1.4. Chẩn đoán nhiễm HAV

Tìm virut HAV: thải trong phân trước khi kháng nguyên HAV thấy trong gan. HAV nhân trong gan và thải theo mật.

ALT và AST huyết thanh: tăng lên nhanh chóng ở thời kỳ ủ bệnh, đến gần mức độ đỉnh (500-2.000U/l) trong một tuần sau khi bắt đầu các triệu chứng và giảm mạnh sau khi bắt đầu vàng da.

Bilirubin đạt đến mức độ đỉnh từ 170 đến 2000 μmol/L sau đỉnh của transaminaza.

IgM, IgG anti-HAV: Kháng thể IgM anti-HAV xuất hiện từ lúc khởi phát và mất đi sau nhiều tháng (3-6 tháng) thường dùng để chẩn đoán VG A cấp. Kháng thể IgG anti-HAV tồn tại có giá trị bảo vệ và xác định tình trạng nhiễm HAV trước đây.

3.1.5. Các thể lâm sàng của VG virut A

3.1.5.1.VG A ứ mật

Thể VG này hay gặp ở người lớn. Vàng da kéo dài 3 đến 4 tháng và ngứa nhiều. IgM anti HAV huyết thanh dương. Tiên lượng tốt.

3.1.5.2.VG A tái phát

Đôi khi sau 30-90 ngày, BN có một đợt tái phát. Nồng độ transaminase huyết thanh tăng lên. Bệnh giống như đợt tấn công ban đầu về mặt lâm sàng và sinh hoá, và virut A được tìm thấy trong phân. Sự tái phát có thể kéo dài nhiều tháng, nhưng cuối cùng cũng hồi phục. Một báo cáo từ Israel mô tả 14 trường hợp nhiễm HAV tái phát, được xác định bằng xét nghiệm huyết thanh IgM anti HAV(+). Một hoặc nhiều đợt tái phát sau giai đoạn hồi phục ban đầu. Tái phát có thể xảy ra ở 3,8% đến 20% BN có đợt nhiễm HAV cấp đầu tiên. HAV tái phát kết hợp với sự tồn tại tình trạng virut huyết và phát tán virut trong phân trong giai đoạn tái phát. Cơ chế bệnh sinh có lẽ do tương tác giữa tình trạng nhiễm virut tồn tại và miễn dịch đáp ứng đối với sự kích thích kháng nguyên liên tục. Tái phát có thể đi kèm với viêm khớp, viêm mạch máu và crioglobulin huyết, nhưng rất hiếm (hình 1-3). Tái phát trước đây thường cho là do nhiễm một virut VG khác như HEV, nhưng ngày nay đã xác nhận có VG A tái phát (10%) (Bùi Đại, tháng 9-2000).

3.1.6. Điều trị và dự phòng VG virut A

VG A cấp không có điều trị đặc hiệu. Dự phòng VG A có nhiều biện pháp: các biện pháp không đặc hiệu (vệ sinh...) và các biện pháp tiêm chủng sau phơi nhiễm với globulin miễn dịch cũng như các biện pháp phòng ngừa trước phơi nhiễm bằng vacxin như Havrix (do viện bào chế SmithKline Beecham Biologicals), Vaqta (do Merck & Company, Inc) v.v...

3.2. VG VIRUT B (HBV)

3.2.1. Bộ gen HBV

HBV thuộc họ Hepadnaviridae, một họ gây VG cho nhiều loài động vật. Hệ gen là một DNA xoắn kép không hoàn toàn (hình 3-2). Hệ gen HBV không bền vững (như vẫn thường nghĩ), nhiều biến thể và thể đột biến đã được xác định. Virut nhân lên nhờ men phiên mã ngược của bản thân, men này dễ sai lầm hơn men DNA

polymerase cho nên hay gây đột biến, là một trong những nguyên nhân gây chuyển VG mạn, diễn biến kịch phát, không đáp ứng thuốc đặc hiệu và vacxin...

3.2.2. Dịch tễ học của HBV

Có khoảng trên 2 tỷ người nhiễm HBV trên thế giới, hơn 350 triệu người mang HBV mạn, trong đó 60 triệu chết vì UTTBG và 45 triệu chết vì xơ gan (TCYTTG, 1997).

Tỉ lệ người mang HBsAg thay đổi khác nhau trên thế giới từ 0,1% đến 0,2% ở Anh Mỹ và Scandinavia, đến hơn 3% ở Hy Lạp và miền nam nước Ý và có thể lên đến 10%-11% hoặc hơn nữa ở châu Phi và Viễn Đông trong đó có Đông Nam Á. Người mang HBsAg có thể có tỷ lệ rất cao trong vài cộng đồng sống biệt lập như người Eskimo Alaska và người dân bản xứ Australia. Chính ở người dân bản xứ Australia mà Blumberg đã phát hiện ra HBsAg dưới tên là kháng nguyên Australia.

Tại Việt Nam, đã có rất nhiều công trình nghiên cứu về VG B. Mức nhiễm HBV của Việt Nam tương đối cao, tỷ lệ có HBsAg trong cộng đồng nói chung vào khoảng 10-20% (Hoàng Thủy Nguyên, Nguyễn Thu Vân, 1992; Phạm Song và cs 1996...) cho thấy nước ta là nước có dịch HBV địa phương cao.

Virut VG B truyền chủ yếu qua đường máu, thứ yếu qua đường tình dục, rồi đến đường truyền dọc, tiếp xúc...tùy theo từng vùng dịch HBV.

Truyền máu tiếp tục gây nhiễm VG B trong các nước nơi mà máu người cho không được sàng lọc HBsAg. Máu của những người bán máu có nhiều khả năng truyền nhiễm hơn máu của những người cho tình nguyện. Khả năng nhiễm virut theo đường máu bao gồm việc dùng các dụng cụ nhiễm khuẩn trong điều trị răng, xỏ lỗ tai, cắt sửa móng tay, khám thần kinh, tiêm chủng dự phòng, châm cứu và xăm mình. Những người tiêm chích ma túy nhiễm VG thường do dùng chung các dụng cụ không vô khuẩn. Tỉ lệ tử vong có thể cao trong nhóm này.

Nhân viên bệnh viện trong tiếp xúc với BN, nhất là máu của BN, thường có tỷ lệ người mang cao hơn cộng đồng chung. Đặc biệt là các nhân viên ở các đơn vị thẩm tách máu hoặc các đơn vị ung thư. Những người phục vụ BN bị nhiễm qua tiếp xúc với máu như do tai nạn kim tiêm hoặc dập da. Phẫu thuật viên và nha sĩ đặc biệt có nguy cơ trong phẫu thuật trên các BN có cả hai dấu ấn HBsAg và HBeAg. Lan truyền từ một phẫu thuật viên đến BN hiếm gặp và thường xảy ra qua các cuộc mổ lớn. Một phẫu thuật viên có HBeAg(+) dù đã tuân thủ đầy đủ các thực hành kiểm soát nhiễm virut, có thể truyền nhiễm HBV cho nhiều BN.

Tuy các vùng dịch lưu hành cao như châu Phi, Hy Lạp và Hồng Công, sự truyền nhiễm thường trong tuổi thơ ấu và có thể là truyền nhiễm ngang qua hôn hít và dùng chung các dụng cụ như bàn chải đánh răng và dao cạo râu. Tiếp xúc trong các trung tâm chăm sóc trẻ mẫu giáo ban ngày có khả năng truyền nhiễm virút. Tiếp xúc tình dục trong gia đình cũng có nguy cơ.

Các trẻ em ở các trung tâm chăm sóc trẻ chậm phát triển tâm thần (đặc biệt ở các trẻ có hội chứng Down) và những người phục vụ cho chúng có một tỉ lệ người mang HBsAg cao.

Nhiễm virut thường gặp ở người đồng tính luyến ái và liên quan với thời gian hoạt động đồng tính, số lượng tiếp xúc tình dục và tiếp xúc qua hậu môn.

Trong những vùng có tỉ lệ người mang HBsAg cao, nhiễm virut thường theo chiều dọc từ mẹ sang con. Nhiễm virut thường không qua tĩnh mạch rún, mà chủ yếu vào lúc sinh và trong các tiếp xúc gần gũi mẹ con sau đó. Nguy cơ truyền nhiễm khi tiếp xúc với BN nhiễm HBV cấp thường cao hơn là ở những người mang mạn tính. Mẹ HBsAg(+) mà HBeAg cũng dương sẽ là nguồn truyền nhiễm HBV cho con quan trọng nhất. Kháng nguyên huyết thanh phát triển ở trẻ trong vòng 2 tháng sau sinh và có khuynh hướng tồn tại. Có một tỷ lệ nghịch giữa nguy cơ mạn tính và tuổi nhiễm virut, nguy cơ là 80% đến 90% nhiễm virut trước 1 tuổi và 20% đến 50% nhiễm virut ở tuổi trên 1. Ngược lại, nhiễm VG B ở người lớn tạo ra một tỉ lệ người mang thấp hơn nhiều từ 1% đến 2%.

3.2.3. Triệu chứng lâm sàng của nhiễm HBV

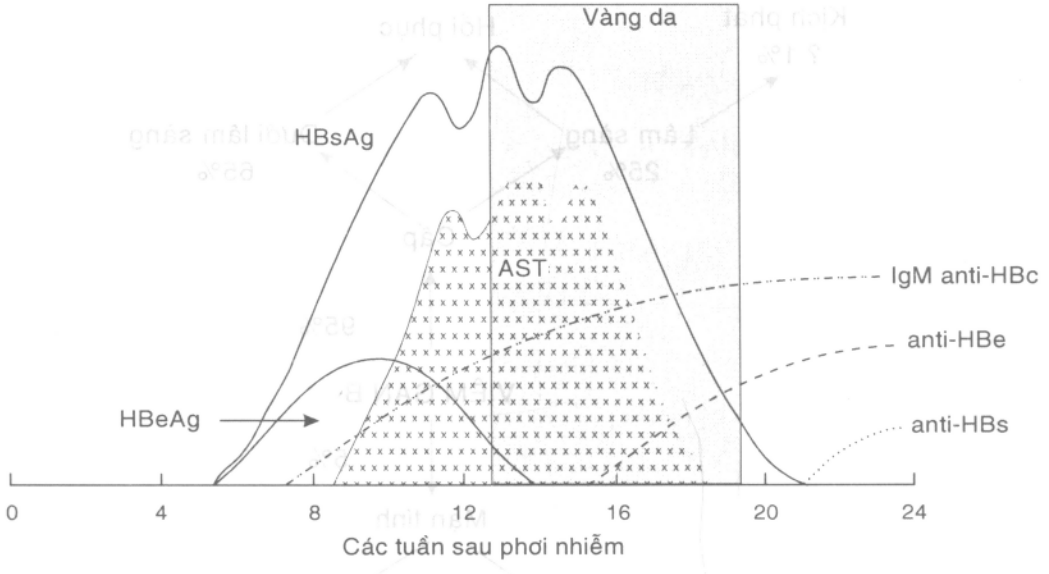
3.2.3.1. Nhiễm HBV cấp

Lâm sàng HBV có những đặc trưng sau:

- Khởi phát từ từ hơn HAV, kéo dài hơn HAV.
- Nhìn chung nặng hơn HAV, dễ thành mạn tính.
- Khoảng 90% trường hợp nhiễm HBV không triệu chứng và 10% có triệu chứng VG cấp; 0,1-1% là VG kịch phát.
- Đa số nhiễm HBV ở người lớn (90-95%) sẽ phục hồi, 5-10% trở thành nhiễm HBV mạn.
- Tỷ lệ chyển từ VG cấp sang mạn dao động từ 10-90%, tùy theo tuổi, giới, trạng thái miễn dịch, đường truyền bệnh, chất lượng săn sóc điều trị.
- Xơ gan và UTTBG thường phát triển từ VG mạn tấn công.

Tổn thương gan trong VG B chủ yếu do đáp ứng miễn dịch bệnh lý tế bào, do lympho T gây độc tế bào, do trung gian các phức hợp miễn dịch.

Nhiễm HBV cấp có thể không có vàng da chiếm ≥ 50% số VG cấp người lớn, và cao hơn ở trẻ em. Một tỷ lệ cao người mang các dấu ấn huyết thanh không có bệnh sử nhiễm HBV cấp cho thấy các đợt bệnh dưới lâm sàng rất thường gặp. Trường hợp không vàng da thường có nhiều khả năng trở thành mạn tính hơn là trường hợp vàng da (hình 1-4).

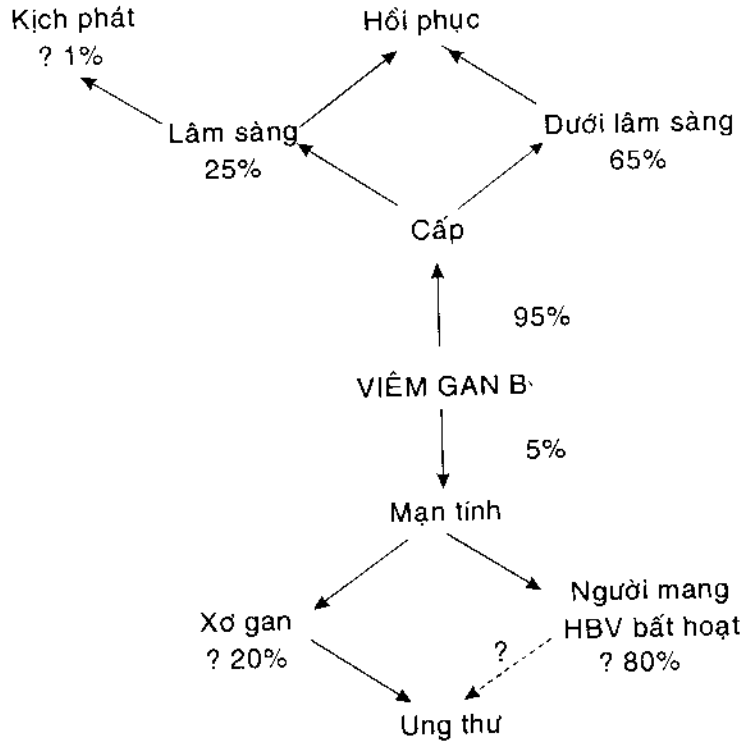


Hình 1-4. *Quá trình của VG B cấp. HBsAg, kháng nguyên bề mặt virut VG B; HBeAg, kháng nguyên e VG B; Anti-HBs, kháng thể chống lại kháng nguyên bề mặt virut VG B; anti-HBe, kháng thể chống lại kháng nguyên e virut VG B.*

Về mặt lâm sàng, VG B cấp thường được chẩn đoán ở người lớn và có khuynh hướng nặng hơn VG A và E với tình trạng vàng da nặng và kéo dài với nồng độ bilirubin huyết thanh tăng cao và kéo dài, nồng độ prothrombin thấp hơn, và vì thế thời gian điều trị VG B cấp cũng kéo dài hơn. Các triệu chứng như buồn nôn và sốt cao ít gặp ở người VG A cấp.Tuy nhiên, hình ảnh chung tương tự như các loại VG virut khác. Bệnh vàng da lành tính thường vàng da dưới 4 tuần. Đôi khi, một diễn tiến lành tính kéo dài với nồng độ transaminase huyết thanh tăng cao hơn 100 ngày. Tái phát hiếm gặp. VG ứ mật, với vàng da đậm kéo dài, thường ít gặp.

Bệnh cảnh lâm sàng VG B cấp có thể có các đặc trưng gợi ý cơ chế bệnh phức hợp miễn dịch. Điều này được chứng minh trong thời kỳ tiền triệu với một hội chứng giống như bệnh huyết thanh. Hội chứng này phát triển độ một tuần lễ trước khi vàng da. Có thể kết hợp với một đợt vàng da hoặc không vàng da. Hội chứng cũng được mô tả với HBV mạn. Sốt hay gặp. Tổn thương da là nổi mề đay và ở trẻ em đôi khi thấy một viêm sần da đầu chi (papular). Bệnh khớp đối xứng và không di chuyển, tác động ở những khớp nhỏ. Các yếu tố dạng thấp trong huyết thanh âm tính. Bệnh khớp thường tạm thời, nhưng có thể kéo dài.

Một đợt kịch phát của VG B trong 4 tuần lễ đầu liên quan đến đáp ứng miễn dịch tăng lên với sự thải trừ virut nhanh hơn. Các kháng thể đối với kháng nguyên bề mặt và kháng nguyên e gia tăng và virut ngưng sao chép. Trong VG B kịch phát, kháng nguyên bề mặt có thể có nồng độ thấp hoặc không phát hiện được. Chẩn đoán có thể được thực hiện chỉ qua phát hiện IgM anti-HBc trong huyết thanh (hình 1-5).



Hình 1-5. *Tác dụng của phơi nhiễm đối với HBV.*

Nhiễm virut VG khác, bội nhiễm trên người mang VG B không triệu chứng, có thể đẩy nhanh tiến trình kịch phát. Tác nhân bội nhiễm có thể là virut A, virut delta, hoặc virut VG C.

Sự tái hoạt sao chép virut VG B đã được biết rõ trong một số trường hợp như: sau hóa trị liệu ung thư, dùng methotrexate cho viêm khớp dạng thấp, ghép cơ quan, hoặc dùng corticoit ở các BN HBeAg(+). Hậu quả của hiện tượng tái hoạt là VG vàng da, suy gan, hoặc tử vong. Sự bùng phát tự nhiên có thể xảy do hậu quả của tình trạng tái hoạt sao chép HBV.

3.2.3.2. Nhiễm HBV mạn

Những người quá trẻ và quá già đều có nhiều nguy cơ nhiễm HBV mạn. Nhiễm HBV mạn thường có tính trội ở nam giới.

Nhiễm HBV mạn có thể theo sau một HBV cấp với các triệu chứng thường khá nhẹ nhàng. BN có một khởi đầu bùng phát và vàng da đậm nhưng thường hồi phục

hoàn toàn. Cũng thế, sau VG virut kịch phát, người sống sót rất ít khi có bệnh gan tiến triển. Sau đợt tấn công, nồng độ transaminase huyết thanh dao động với vàng da từng đợt. BN có thể gần như không triệu chứng nhưng các bằng chứng sinh hóa vẫn cho thấy bệnh đang tiến triển. Đôi khi BN có thể than phiền mệt mỏi, không khỏe và chỉ chẩn đoán được sau khi kiểm tra y khoa thường qui. Chẩn đoán có thể thực hiện ở các BN không có triệu chứng vào thời điểm cho máu hoặc sàng lọc thường qui thấy có HBsAg(+) và transaminase huyết thanh tăng nhẹ.

VG mạn thường là một bệnh im lặng. Các triệu chứng không tương quan với mức trầm trọng của tổn thương gan. Khoảng phân nửa các trường hợp, BN đến khám khi VG đã được xác định là mạn tính có vàng da, báng bụng, hoặc tăng áp tĩnh mạch cửa. Bệnh não ít xảy ra. BN thường không có bệnh sử của một đợt tấn công của VG cấp trước đó.

Các khoảng thời gian giữa các giai đoạn nhiễm virut khác nhau đáng kể trên toàn thế giới, cả ở trẻ con và người lớn. Nhất là người châu Á có thể có tình trạng virut huyết kéo dài với thải trừ miễn dịch, HBeAg lưu hành dương và nồng độ HBV DNA cao. Người châu Âu thường có một thời kỳ không triệu chứng kéo dài trong đó HBeAg(-), các xét nghiệm sinh hóa bình thường và nguy cơ ung thư tế bào gan thấp hơn người châu Á.

Tại Tây Ban Nha, 26% các trường hợp không có triệu chứng thải trừ HBeAg mỗi năm. Một sinh thiết gan lần thứ 2 cho thấy HBcAg(-) và thường có vẻ cải thiện, tuy 6 trong 15 BN được nghiên cứu, VG mạn hoạt động đã tiến triển đến xơ gan.

Ở nhiều BN, thường xơ gan đã ổn định và tiến triển chậm qua nhiều năm, bắt đầu có UTTBG. Một BN có vẻ ổn định với bệnh HBV mạn vẫn có thể có tái phát lâm sàng. Tái phát thường được đánh dấu bằng gia tăng mệt mỏi và transaminase huyết thanh tăng cao. Tái phát có thể liên quan đến chuyển huyết thanh từ một tình trạng HBeAg(+) đến tình trạng HBeAg và HBV DNA(-). Sinh thiết gan cho thấy một VG tiểu thùy cấp, thường hồi phục và nồng độ transaminase huyết thanh giảm xuống. Chuyển huyết thanh có thể xảy ra tự nhiên trong 10%-15% các BN hàng năm. HBV DNA có thể còn dương ngay cả khi kháng thể anti-HBe đã tăng lên. Trong một số BN HBeAg(+), có các đợt bùng phát sao chép virut và gia tăng transaminase và cuối cùng không thải trừ được HBeAg.

Hồi chuyển huyết thanh (seroreversion) tự nhiên từ HBeAg(-) đến HBeAg và HBV DNA(+) cũng đã được mô tả. Hình ảnh lâm sàng khá thay đổi từ không có triệu chứng đến suy gan kịch phát. Tình trạng tái hoạt đặc biệt nặng nề ở những người HIV(+). Tái hoạt về mặt huyết thanh có thể phát hiện một cách đơn giản bằng xét nghiệm IgM anti-HBc(+). Trong một số trường hợp bệnh trầm trọng còn phải xem xét vấn đề bội nhiễm với virut VG D (HDV), HAV hoặc HCV.

3.2.3.3. Liên quan giữa các đột biến HBV đối với diễn tiến lâm sàng

Các biến dị của bộ gen VG B tạo nên từ các đột biến trong các khung đọc mở khác nhau đã được mô tả. Tác dụng của đột biến khá thay đổi, có lẽ liên quan đến hệ miễn dịch của BN hoặc do tác dụng của interferon.

Đột biến tiền lõi thường kết hợp với bệnh gan kịch phát ở Israel, Nhật Bản nhưng không có ở Pháp hoặc ở Bắc Mỹ. Hoạt hóa đột biến tiền lõi có thể dẫn đến suy gan kịch phát sau khi điều trị bằng các chất gây độc tế bào. Đột biến tiền lõi có thể kết hợp với bệnh tái phát nặng sau ghép gan. Các đột biến tiền lõi có thể được phát hiện trong các thành viên trong gia đình HBsAg(+) không triệu chứng.

Một số người mẹ mang HBV có các đột biến tiền lõi và kháng thể anti-HBe có thể truyền VG kịch phát cho con cái họ. Một tỉ lệ mắc các đột biến tiền lõi cao có thể có ở những người mang anti-HBe có bệnh gan mạn.

3.2.4. Chẩn đoán nhiễm HBV

Nhiễm HBV cấp được chẩn đoán đặc hiệu bằng việc xác định HBsAg trong huyết thanh, với sự có mặt hay không của anti-HBc. Khi không có HBsAg, chẩn đoán nhiễm HBV không hoàn toàn bị loại trừ, vì kháng nguyên huyết có thể chỉ tạm thời. Trong trường hợp này, sự hiện diện của IgM anti-HBc có thể giúp chẩn đoán VG B cấp.

Nhiễm HBV mạn khi HBsAg(+) kéo dài quá 6 tháng, HBV DNA huyết thanh > 100.000 bản sao/ml hoặc có HBcAg trong gan, ALT tăng kéo dài quá 6 tháng, sinh thiết gan có chỉ số HAI > 4.

3.2.5. Các thể lâm sàng ngoài gan của nhiễm HBV

Một vài bệnh ngoài gan kết hợp với các phức hợp miễn dịch lưu hành chứa HBsAg. Bệnh gan đi kèm thường nhẹ và trong đa số trường hợp, là VG mạn tồn tại.

3.2.5.1. Viêm đa động mạch

Viêm đa động mạch bao gồm phần lớn các động mạch nhỏ và trung bình và thường xuất hiện sớm trong diễn tiến bệnh. Các phức hợp miễn dịch chứa HBsAg được tìm thấy trong các tổn thương mạch máu, và các nồng độ trong máu của chúng tương quan với hoạt tính của bệnh. Viêm đa động mạch là một biến chứng hiếm gặp của VG B.

3.2.5.2. Viêm cầu thận màng

Viêm cầu thận màng kết hợp với nhiễm VG B, thường gặp ở trẻ con. Tổn thương gan thường tối thiểu. Các BN hay có HBeAg(+). Các phức hợp miễn dịch của HBsAg và anti-HBs, HBcAg và anti-HBc, hoặc HBeAg và anti-HBe được tìm thấy ở các màng cầu thận và các màng cơ bản của gai thận. Các thay đổi siêu

cấu trúc tương quan với HBeAg huyết thanh và các cầu thận. Ở trẻ em, điều trị bằng interferon có thể thuyên giảm bệnh trong khi đáp ứng với corticoit rất kém. Viêm cầu thận màng có thể thuyên giảm trước khi chuyển huyết thanh HBeAg thành anti-HBe.

Ở trẻ con, viêm cầu thận thường hồi phục tự nhiên trong 6 tháng đến 2 năm. Ở người lớn, bệnh diễn tiến xấu hơn, tiến triển chậm nhưng tiến triển một cách chắc chắn ở 1/3 các trường hợp. Bệnh biểu hiện như một hội chứng thận hư. Điều trị với prednisolon làm tăng sao chép virut. Ở các BN Trung Quốc, điều trị với interferon có kết quả đáng thất vọng. Thuyên giảm tự nhiên ít xảy ra và bệnh thường tiến triển chắc chắn đến tình trạng suy thận.

3.2.5.3. Đau nhiều cơ do thấp

Đau nhiều cơ do thấp (polymyalgia rheumatica) có thể kết hợp với nhiễm VG B.

3.2.5.4. Crioglobulin-huyết hỗn hợp vô căn

Một BN có bệnh thần kinh ngoại biên và crioglobulin-huyết cho thấy có các kết tủa lạnh với nồng độ cao HBsAg. Tuy nhiên, anti-HBsAg và bổ thể không được tìm thấy. Mối liên quan của VG B với bệnh này chưa được chứng minh.

3.2.5.5. Bệnh thần kinh

Bệnh thần kinh như hội chứng Guillain-Barré, có thể kết hợp với nhiễm HBV. Các phức hợp miễn dịch chứa HBsAg đã được gặp ở huyết thanh và dịch não tủy trong hội chứng Guillain-Barré.

3.2.5.6. Viêm cơ tim

Viêm cơ tim có thể có một cơ sở phức hợp miễn dịch.

3.2.5.7. Thiếu máu bất sản

Thiếu máu bất sản thường gây tử vong và được kết hợp với nhiễm HBV. Thực nghiệm *in vitro,* nhiễm HBV gây ức chế tế bào mầm tạo máu (hematopoietic stem cells).

3.2.5.8. Viêm tụy cấp

Viêm tụy cấp đã được ghi nhận trong nhiễm HBV, nhất là sau ghép gan.

3.2.6. Điều trị VG virut B

VG B cấp không có điều trị đặc hiệu. Trong trường hợp được xác định là VG B mạn, interferon (IFN)-α được dùng với liều 5 triệu đơn vị, 3 lần/tuần, kéo dài 4-6 tháng, chuyển huyết thanh anti-HBe trong khoảng 30-40%. Gần đây, lamivudine 100 mg/, dùng đường uống, dùng càng kéo dài càng tăng tỷ lệ chuyển huyết thanh anti-

HBe. Lamivudine có đáp ứng như nhau trên mọi chủng tộc, giới tính, lứa tuổi nhiễm v.v... khác với IFN-α.

3.2.7. Dự phòng VG virut B

VG B có thể được dự phòng bằng nhiều cách: sau phơi nhiễm với globulin miễn dịch VG B (HBIG), dự phòng trước phơi nhiễm với các vacxin có nguồn gốc huyết tương hoặc tái tổ hợp. Đây cũng là vacxin duy nhất được cho là phòng ngừa ung thư với bằng chứng tỷ lệ xơ gan và UTTBG giảm nhiều sau nhiều năm được tiêm chủng.

3.3. VG VIRUT DELTA (HDV)

3.3.1. Bộ gen HDV

HDV là một virut không hoàn chỉnh, phải nhờ vào HBV để sao chép, là một virut RNA có một nucleocapsid bao lấy kháng nguyên HDAg; bên ngoài được bọc bởi vỏ ngoài của HBV (HBsAg). HDV chỉ có khả năng gây nhiễm khi được kích hoạt bởi sự hiện diện của HBV. HDV giống như các virut vệ tinh của thực vật (viroids), không thể sao chép nếu không có một virut chuyên biệt nào khác (hình 22-2). Tương tác giữa 2 virut là khá phức tạp. Sự tổng hợp virut delta có thể ức chế sự xuất hiện các dấu ấn virut VG B trong các tế bào nhiễm virut và có thể dẫn đến cả việc loại trừ sự sao chép HBV hoạt động.

VG B và nhiễm virut Delta có thể đồng thời (đồng nhiễm) hoặc delta có thể gây bệnh ở một người mang HBsAg mạn (bội nhiễm). Nhiễm delta thường gặp nhất ở nhóm người tiêm chích ma túy, nhưng có thể gặp ở tất cả các nhóm nguy cơ nhiễm VG B. Bệnh có thể lan truyền theo kiểu tình dục khác giới. Lan truyền trong gia đình đã được ghi nhận ở miền nam nước Ý.

3.3.2. Dịch tễ học nhiễm HDV

Nhiễm delta có ở khắp nơi trên thế giới, nhưng đặc biệt phổ biến ở miền nam châu Âu, vùng Balkan, Trung Đông, miền nam Ấn Độ, và một phần của Châu Phi. Bệnh thường hiếm gặp ở Viễn Đông (gồm cả Nhật Bản) và Nam Mỹ. Tuy nhiên, các đợt dịch nhiễm delta đã được báo cáo ở lưu vực sông Amazon, Brazil (sốt Labrea), Columbia (VG Santa Marta),Venezuala, và Châu Phi xích đạo. Trong các đợt dịch ở vùng này, trẻ em thuộc các cộng đồng người bản xứ bị nhiễm và tử vong cao.

Tỷ lệ nhiễm HDV tại Việt Nam được xác định lần đầu tiên bởi Phạm Song và cs với 9,2% có kháng thể toàn phần anti-HDV trong 76 BN VG cấp. Và Châu Hữu Hầu đưa ra một tỷ lệ nhiễm HDV qua việc xác định dấu ấn anti-HDV là 4,6% (7/151) ở những người người mang HBV mạn.

BN nhiễm HBV mắc phải virut delta có hiện tượng viêm hoại tử hoạt động nhiều hơn và phát triển đến xơ gan khá nhanh so với VG B mạn hoặc các tác nhân virut khác. Tuy nhiên, xơ gan còn là một bệnh ổn định và có thời gian sống dài hơn. Ung thư tế bào gan là một biến chứng của nhiễm HDV nhưng ít gặp ở người mang HBsAg có HDV hơn là người mang HBV đơn thuần.

3.3.3. Chẩn đoán nhiễm HDV

HDV chỉ sao chép khi có sự hiện diện của HBV. Tuy nhiên, trong một số trường hợp, virut delta có thể hiện diện mà không có HBsAg(+), hay gặp trong các BN nhiễm HIV và BN sau ghép gan do BN ở vào giai đoạn cuối của đồng nhiễm HBV và HDV. Tiêu chuẩn "vàng" để chẩn đoán nhiễm HDV là phương pháp nhuộm miễn dịch để tìm HDAg trong gan. Trong nghiên cứu, phương pháp thấm tác Northern được dùng để tìm HDV RNA trong huyết thanh hoặc trong gan. Tuy nhiên, trong thực hành, xét nghiệm EIA hoặc RIA được dùng để phát hiện nhiễm HDV bằng anti-HDV toàn phần hoặc nhiễm HDV cấp bằng IgM anti-HDV.

3.3.4. Các thể lâm sàng nhiễm HDV

3.3.4.1. Thể đồng nhiễm

VG delta cấp thường tự giới hạn, vì tác nhân delta không thể sống lâu hơn tình trạng kháng nguyên huyết HBV tạm thời. Hình ảnh lâm sàng thường không thể phân biệt với VG HBV đơn thuần. Tuy nhiên, ALT tăng lên thường có 2 pha, và sự gia tăng lần 2 như thế được cho là do tác dụng của delta cấp. Xu hướng đồng nhiễm cấp HDV và HBV kéo dài và nặng hơn nhiễm HBV cấp đơn thuần, nhưng ít chuyển thành VG mạn nặng như bội nhiễm HDV và HBV. Có 5% đồng nhiễm cấp chuyển mạn và tử vong từ 2-20%.

3.3.4.2. Thể bội nhiễm

Đợt tấn công cấp tính thường nặng nề có thể xảy ra kịch phát và chỉ được đánh giá qua nồng độ transaminase huyết thanh gia tăng. Nhiễm delta luôn luôn phải được nghĩ đến ở bất cứ người mang HBV có VG tái phát. Đồng nhiễm có nhiều khả năng phục hồi và BN trở nên miễn dịch đối với delta. Bội nhiễm chỉ được hồi phục hoàn toàn trong 10% BN và có một tỉ lệ mạn tính cao khoảng 70%.

Cả 2 cách nhiễm virut đều có thể có diễn tiến kịch phát. Một nghiên cứu lớn từ Greek Island of Rhodes cho thấy chỉ có 1 thiểu số người bệnh nhiễm virut delta có bệnh gan, và đa số là người mang khỏe mạnh. Trong các vùng khác như Los Angeles, bệnh tác động ở người tiêm chích ma túy và đồng tính luyến ái. Sự tái hoạt sinh hóa (ALT cao hơn 10 lần giới hạn trên bình thường) tác động đến 41%, trong đó 58% là hậu quả của HDV và 16% được xem như hậu quả của HBV. Trong một vùng dịch lưu hành cao, như ở Sicily, phát triển tự nhiên của nhiễm delta không thể phân biệt với phát triển tự nhiên của HBV kiểu hoang dại đơn thuần.

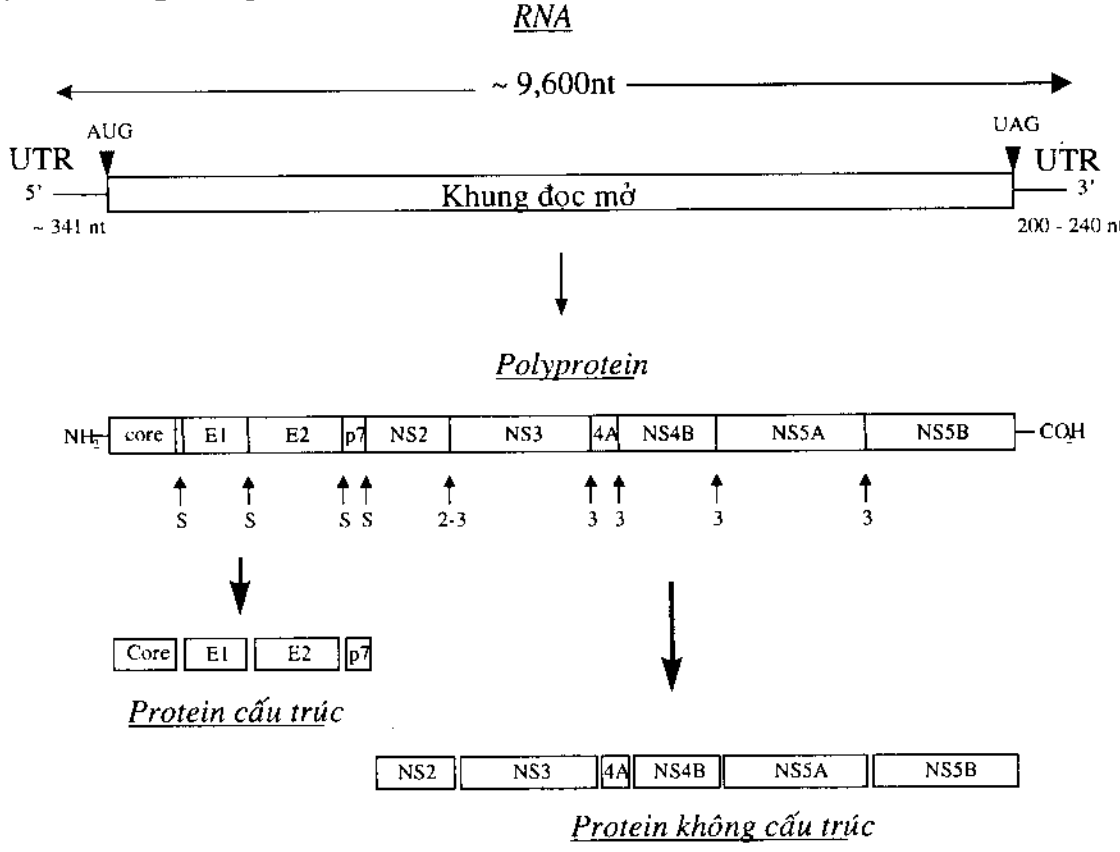
3.3.5. Điều trị và dự phòng nhiễm HDV

Không có biện pháp điều trị và dự phòng riêng cho VG D mà phụ thuộc vào kết quả điều trị và dự phòng VG B.

3.4. VG VIRUT C (HCV)

3.4.1. Bộ gen HCV

HCV thuộc họ Flaviviridae, hệ gen gồm một dây xoắn đơn RNA. Tới nay có 6 genotype (1-6) và hơn 50 subtype (a, b, c..) đã được xác định, phổ biến là 1a, 1b, 2a, 2b (Erlinger, 1996). HCV có vùng đột biến RNA rất cao khu trú ở 2 gen vỏ E1 và E2 (HVR1, HVR2). Những vùng này hay biến đổi và có thể tạo ra trạng thái nhiễm virut kéo dài ở 80% BN (hình 1-6). Sau nhiễm HCV cấp, hoàn toàn không có miễn dịch với đồng chủng lẫn khác chủng, tái nhiễm vẫn xảy ra.



Hình 1-6. *Cấu tạo sơ lược của bộ gen HCV và các protein mã hóa.*

RNA virut bao gồm một khung đọc mở duy nhất (mã hóa khoảng 3.011 aa) gắn kết vào đầu 5' và 3' của các vùng không dịch mã (UTR). Polyprotein được phân cắt sau dịch mã với các peptidase tín hiệu (S) và NS2-3 (2-3) mã hóa virut và NS3/4 (3) protease để sản sinh các protein không cấu trúc và cấu trúc trưởng thành. Cấu tạo này được tóm tắt như sau: NH2-C-E1-E2-P7-NS2-NS3-NS4A-NS4B-NS5A-NS5B-COOH.

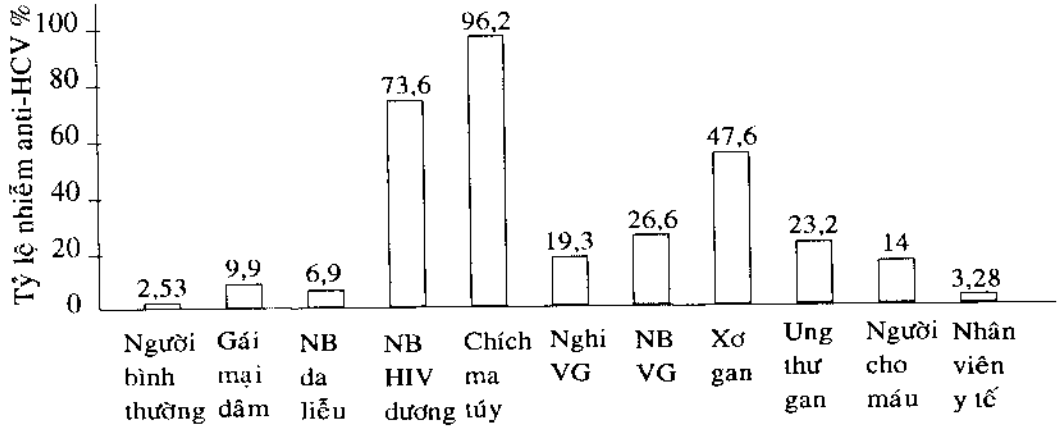
3.4.2. Dịch tễ học nhiễm HCV

Nhiễm HCV mắc phải theo nhiều con đường khác nhau. Bệnh chủ yếu do tiêm chích ma túy, hoặc truyền máu nhiễm virut, thường gặp ở các BN bị chấn thương, tai biến sản khoa hoặc các loại phẫu thuật khác.. Lượng máu truyền có thể chỉ là một đơn vị. Những người tiêm chích ma túy và người nhận các sản phẩm máu như bệnh ưa chảy máu là những người có nguy cơ cao Các BN ưa chảy máu nhận các yếu tố đông máu, không tiệt trùng, đã có một tần suất HCV gần 100%. Globulin miễn dịch anti-rhesus D nhiễm HVC đã gây nên các đợt dịch lớn HCV ở Ireland và Đức. Nhiễm HCV trong bệnh viện còn được nhận thấy thông qua các can thiệp trong điều trị cấp cứu, trong thăm dò chẩn đoán như: lọc máu, ghép tạng, thận nhân tạo, các giây luồn tĩnh mạch, các ống dẫn lưu v.v...

Truyền nhiễm qua đường tình dục và trong gia đình hiện nay được cho là thấp. Bệnh hiếm gặp ở những người đồng tính châu Âu. Lan truyền chu sinh cũng ít gặp, thường xảy ra lúc chuyển dạ hoặc khi người mẹ có nồng độ HCV cao hoặc nhiễm HIV.

Tuy vậy, khoảng 50% nguồn nhiễm HCV còn chưa được hiểu rõ. Lan truyền trong gia đình có thể xảy ra nhưng hiếm gặp. Nhiễm virut có thể do dùng chung dao cạo râu, bàn chải đánh răng, ống tiêm và kim tiêm không vô khuẩn với những người nhiễm virut. Các khả năng khác bao gồm bệnh sử có dùng các biện pháp điều trị dân gian như châm cứu, cắt lể bằng dao không vô khuẩn, phơi nhiễm trong nghề y.

Tại Việt Nam, nhiều công trình đã đề cập đến tình hình nhiễm HCV, nhất là trong các đối tượng có nguy cơ cao. Trong nhóm người bình thường, theo Trương Xuân Liên, có tỷ lệ mang dấu ấn anti-HCV ở thanh phố Hồ Chí Minh là 2,55%; theo Châu Hữu Hầu, tỷ lệ này là ở Tân Châu 4,1%. Qua đó, cho thấy nước ta thuộc vào vùng có tỷ lệ nhiễm HCV cao (hình 1-7).



***Hình 1-7.** Biểu đồ thể hiện tình hình nhiễm HCV ở một số đối tượng tại Thành phố Hồ Chí Minh (theo Trương Thị Xuân Liên).*

3.4.3. Chẩn đoán VG virut C

Chẩn đoán nhiễm HCV dựa vào sự hiện diện của kháng thể anti-HCV trong huyết thanh. Đây là loại kháng thể không bảo vệ. Các xét nghiệm huyết thanh thế hệ thứ nhất cho nhiều(+) giả, nhưng các xét nghiệm thế hệ thứ hai và ba đáng tin cậy hơn. Anti-HCV thường chỉ xuất hiện sau nhiều tuần nhiễm virut cấp, vì thế, một xét nghiệm anti-HCV(-) không thể loại trừ nhiễm virut gần đây. Các xét nghiệm định lượng cũng như xác định kiểu huyết thanh hiện đang được phát triển và ngày càng được ứng dụng trong chẩn đoán và điều trị.

3.4.4. Các thể lâm sàng VG virut C

3.4.4.1. VG HCV cấp

VG C cấp có các đặc tính lâm sàng như sau:

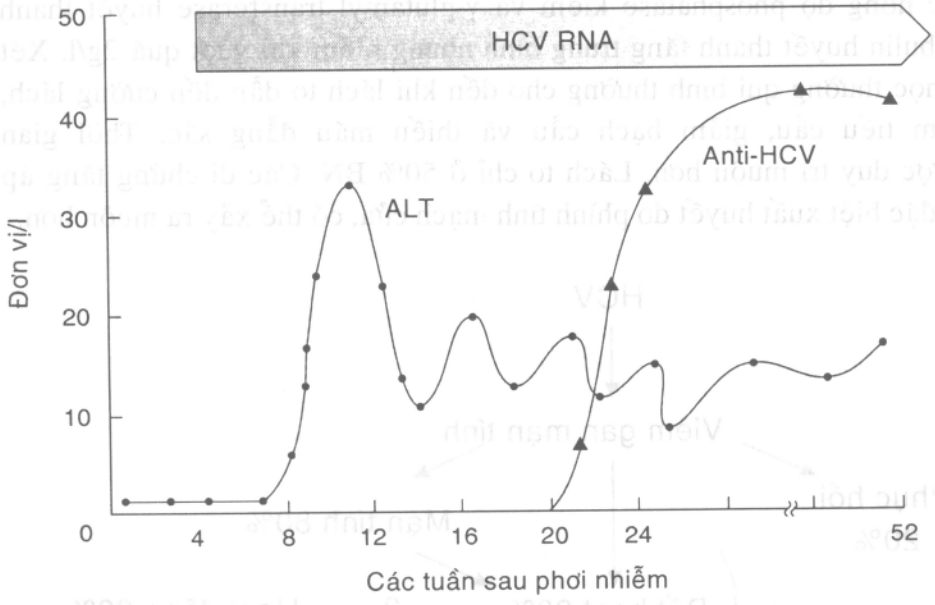
- Khoảng 3/4 nhiễm HCV cấp thường im lặng về lâm sàng. 40-60% BN có nồng độ ALT bình thường mặc dù có HCV RNA cao.
- Tỷ lệ chuyển thành mạn tính cao: thấp nhất 50%, có nơi tới 90%.
- BN có HCV(+) có men ALT bình thường, nhưng có tổn thương gan 80%; vàng da gặp ở khoảng 10% BN VG C cấp.

Thời kỳ ủ bệnh có lẽ từ 5 đến 12 tuần lễ. Chỉ có 25% người bệnh là có vàng da và 3/4 BN có thể hoàn toàn không triệu chứng. BN có anti-HIV(+) có thể có một quá trình diễn tiến nhanh. Tuy nhiên, diễn tiến kịch phát hiếm gặp, nếu có phải cân nhắc đến đồng nhiễm với virut khác. VG C sau truyền máu cần phải được giám sát. Nồng độ transaminase huyết thanh chỉ tăng trung bình, độ 15 lần của giới hạn trên từ 7 đến 8 tuần sau nhiễm virut. Nhiều đỉnh cao được gặp trong 70% các trường hợp, 21% có 2 đỉnh và chỉ có 0,5% có một đỉnh duy nhất. RNA VG C trong huyết thanh có thể được phát hiện 1 đến 2 tuần sau nhiễm virut. Trong các trường hợp hồi phục hoàn toàn, HCV RNA huyết thanh bị mất đi, nhưng kháng thể HCV tồn tại trong nhiều tháng. Sau 1 năm, đa số các BN VG sau truyền máu sẽ còn tăng transaminase huyết thanh. Đa số các BN sẽ phát triển VG mạn và 20% sẽ phát triển xơ gan. Bệnh diễn tiến âm ỉ với transaminase huyết thanh dao động (hình 1-8).

3.4.4.2. VG HCV mạn

Trường hợp chuyển thành VG C mạn thường ít triệu chứng, chủ yếu là mệt, một số có các biểu hiện ngoài gan (ở khớp, ban...), nồng độ ALT dao động, 20-30% VG C mạn chuyển xơ gan và có nguy cơ xơ hóa cao.

Nhiễm VG C có thể xảy ra khoảng 25 năm về trước. Các yếu tố nguy cơ bao gồm bệnh sử có truyền máu và các sản phẩm máu cũng như tiêm chích ma túy.



Hình 1-8. *Quá trình huyết thanh học của nhiễm HCV mạn sau truyền máu.*

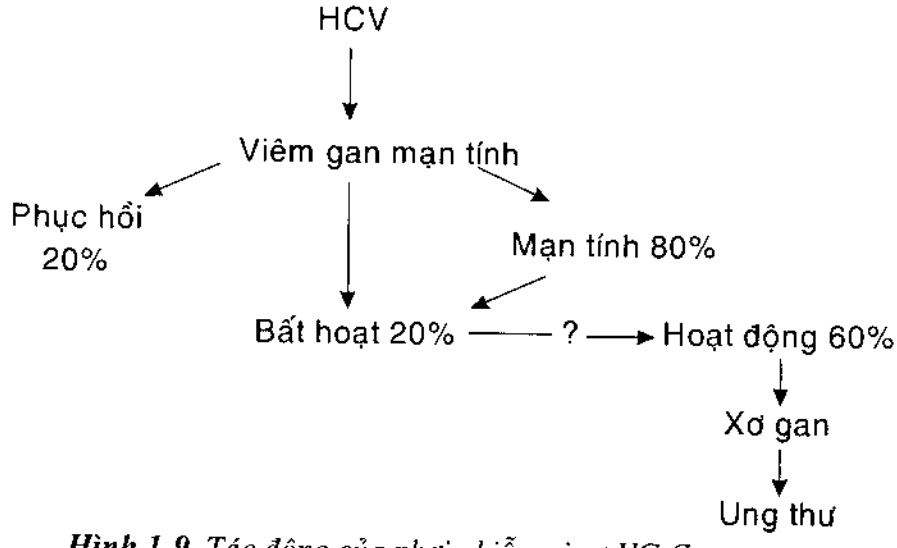
HCV RNA huyết thanh xuất hiện rất sớm. Kháng thể anti HCV xuất hiện muộn hơn. ALT huyết thanh có các dao động đặc trưng.

Tại Mỹ, Di Bisceglle và cs vào năm 1991 đã ghi nhận VG cấp phát triển trong 65/1.070 (6,1%) người nhận máu truyền trong lúc mổ tim. Tiến triển mạn tính phát triển trong 45 (69%). Theo dõi (trung bình 9,7 năm), 39 BN (20%) phát triển xơ gan. Tại Nhật Bản, người ta ước tính chỉ có 2% BN nhiễm HCV có thuyên giảm tự nhiên, sau 8 năm 30% có nhiễm HCV mạn, 20% sẽ tiến triển đến xơ gan và 15% khác sẽ phát triển UTTBG. Tại Nhật Bản, nhiễm HCV được tin liên quan chặt chẽ đến UTTBG hơn là HBV (hình 1-9).

BN có thể mệt mỏi âm ỉ như một triệu chứng chính. BN cảm thấy yếu hơn bình thường với nhiều mức độ thay đổi khác nhau. Chẩn đoán chỉ được thực hiện khi sàng lọc máu thường qui thấy transaminase huyết thanh tăng lên. Nhiễm VG C thường không triệu chứng.

Bệnh diễn tiến chậm, với nồng độ transaminase dao động qua nhiều năm. Mỗi đợt gia tăng có lẽ tiêu biểu cho một đợt virut huyết VG C có thể do một "phụ loài" (quasispecies). Lúc BN đến khám bệnh, nồng độ transaminase huyết thanh hiếm khi vượt quá 6 lần giới hạn trên của nồng độ bình thường và trung bình khoảng 3 lần bình thường. Ở BN không có tình trạng nghiện rượu, transaminase dao động gần như phải nghĩ đến nhiễm HCV. Trong thời điểm có các đỉnh ALT, các triệu chứng, nhất là mệt mỏi gia tăng. Nồng độ transaminase bình thường có thể kéo dài trong nhiều tuần hoặc nhiều tháng, mặc dù HCV RNA còn dương.

Các nồng độ bilirubin và albumin huyết thanh bình thường cho đến suy gan giai đoạn cuối. Các nồng độ phosphatase kiềm và γ-glutamyl transferase huyết thanh tăng nhẹ. γ-globulin huyết thanh tăng trung bình nhưng hiếm khi vượt quá 2g/l. Xét nghiệm huyết học thường qui bình thường cho đến khi lách to dẫn đến cường lách, sau đó là giảm tiểu cầu, giảm bạch cầu và thiếu máu đẳng sắc. Thời gian prothrombin được duy trì muộn hơn. Lách to chỉ ở 50% BN. Các di chứng tăng áp tĩnh mạch cửa, đặc biệt xuất huyết do phình tĩnh mạch cửa, có thể xảy ra muộn hơn.



Hình 1-9. *Tác động của phơi nhiễm virut VG C.*

3.4.5. Các đặc trưng lâm sàng ngoài gan nhiễm HCV

Bệnh gan mạn liên quan đến HCV có thể kết hợp với nhiều rối loạn miễn dịch khác nhau. HCV thường phối hợp với crioglobulin-huyết hỗn hợp vô căn. Huyết thanh chứa các phức hợp gồm các virion HCV và các kháng thể đối với kháng nguyên HCV. Bệnh biểu hiện như một viêm mạch máu toàn thân với ban xuất huyết, bệnh dây thần kinh và hiện tượng Raynaud nhưng chỉ trong một số ít các trường hợp. Viêm cầu thận màng kết hợp với các phức hợp miễn dịch vi cầu thận chứa HCV, anti-HCV, IgM, IgG và các yếu tố dạng thấp.

Viêm tuyến nước bọt tế bào lympho giống với hội chứng Sjogren đã được mô tả nhưng không có các đặc trưng của hội chứng khô (sicca syndrome). Có một kết hợp với viêm tuyến giáp ngay cả ở BN không điều trị với interferon, cũng như có loạn chuyển hoá pocphirin da muộn. HCV có thể tác động châm ngòi ở những người có khuynh hướng dễ mắc bệnh.

Liken phẳng liên quan với bệnh VG mạn, trong đó có HCV. Các kết hợp khác gồm có nổi mề đay và ban xuất huyết. Nhiễm HCV thường kết hợp với ban xuất huyết giảm tiểu cầu tự miễn.

Thiếu máu bất sản là một biến chứng được biết rõ của VG không A không B cấp. Tuy nhiên, liệu HCV thật sự có phải là nguyên nhân trong đa số trường hợp thiếu máu bất sản hay không, hiện vẫn còn bàn cãi. Thế nhưng các virut hướng gan hiện nay đã hay chưa được xác định đặc điểm (gọi là không A không B không C) có thể liên can trong đa số trường hợp của thiếu máu bất sản sau VG. Sự kết hợp mạnh của VG C và UTTGG cũng đã được ghi nhận.

3.4.6. Tương quan của nhiễm HCV với các virut khác

Do cùng một kiểu truyền nhiễm, BN nhiễm HCV có nhiều khả năng đã nhiễm với HBV và cả HIV, nhất là khi BN lại là người tiêm chích ma túy. Chọn lọc các yếu tố có nhiều khả năng là nguyên nhân gây bệnh gan mạn rất khó khăn và sự tác động lẫn nhau của virut này đối với virut khác phải được cân nhắc. Trong một nhóm BN nhiễm HBV mạn đã được chọn lọc được chuyển đến Viện Nghiên cứu quốc gia về Sức khỏe trong một thử nghiệm điều trị, anti-HCV được phát hiện trong 11% cao hơn 0,9 đến 1,4 lần tần suất ở người cho máu tự nguyện và tương tự với tần suất được báo cáo ở các BN người Ý có HBsAg(+). Ở các BN HBsAg(+), anti-HCV có nhiều khả năng dương nếu BN anti-HBe(+), nhưng HBV DNA(-) (35% so với 8%). Trong nhóm phụ này, HCV có thể giữ một vai trò dẫn đầu trong việc gây ra bệnh gan và chẩn đoán phải được cân nhắc ở người mang HBV trong giai đoạn virut hòa nhập có diễn tiến xấu đi khác thường. Nồng độ HBV DNA huyết thanh thấp hơn ở những người có anti-HCV(+), gợi ý rằng HCV có thể ức chế nhiễm HBV.

3.4.7. Liên quan của nhiễm HCV và rượu

Tùy thuộc vào dân số, 5% đến 25 người nghiện rượu có phơi nhiễm đối với HBV, HCV hoặc cả hai. Rõ ràng các xét nghiệm % kháng thể HCV, với thế hệ 1 hoặc 2, thực sự không đủ nêu lên sự góp phần của HCV đối với bệnh gan ở người nghiện rượu, mà phải dùng đến xét nghiệm HCV RNA. Trong một nghiên cứu ở Nhật trên 80 BN bệnh gan do rượu, các phương pháp xét nghiệm HCV đặc hiệu hơn được dùng, tần suất HCV giảm xuống đáng kể. BN với HCV RNA(+) có các thay đổi viêm hoại tử nghiêm trọng hơn trong sinh thiết gan. HCV hình như là một yếu tố quan trọng trong sự phát triển VG mạn và xơ gan ở các BN nghiện rượu ở Nhật Bản.

Với một BN dùng quá nhiều rượu và có các dấu ấn HCV, chỉ được xem nhiễm HCV là thủ phạm chính khi HCV RNA(+). Khi nồng độ transaminase huyết thanh tồn tại lớn hơn 100 và tỉ suất trung bình ASP/ALT nhỏ hơn 1 (0,6), đó là đặc trưng của một bệnh virut, hơn là bệnh gan do rượu.

Ảnh hưởng của sự kiêng rượu lên nồng độ transaminase huyết thanh cũng có thể có ích. Khi 25 BN nghiện rượu có bệnh gan ngừng uống, 11 có HCV RNA(+) có khuynh hướng giảm nồng độ transaminase trong lúc nằm viện, nhưng các nồng độ này tăng lên khi xuất viện. 14 BN không có HCV RNA, transaminase giảm xuống

một cách ý nghĩa trong lúc nằm viện, nhưng chỉ tăng trong 3/14 sau khi xuất viện. Những người nghiện rượu nào có các dấu ấn HCV, sẽ có bệnh gan nặng hơn. Mối liên quan giữa 2 yếu tố HCV và nghiện rượu hiện còn nhiều vấn đề chưa rõ..

3.4.8. VG mạn tự miễn và nhiễm HCV mạn

Bảng 1-3. Tương phản giữa VG C mạn và VG tự miễn.

	VG C	*VG tự miễn*
Tuổi	Tất cả lứa tuổi	Thanh niên và trung tuần
Giới	Bằng nhau	Trội hơn ở nữ
Tiếp xúc máu	Thường	Hiếm
Các bệnh tự miễn	Bất thường	Có thể có
Liên kết HLA-B8 Dr3	Không	Có
Transaminase huyết thanh >10x	Hiếm	Thường
Dao động	Thường	Rất hiếm
γ-globulin huyết thanh > 2,5 g/l	Bất thường	Thường
Các tự kháng thể, kháng thể kháng nhân (lan tỏa)	Không, hay nồng độ thấp	Thường dương
Cơ trơn	Không, hay nồng độ thấp	Thường dương
Đáp ứng với corticoid	Không hoặc khiêm tốn	Tuyệt vời
Đáp ứng với interferon	50% đáp ứng	Không (có thể tăng nặng)

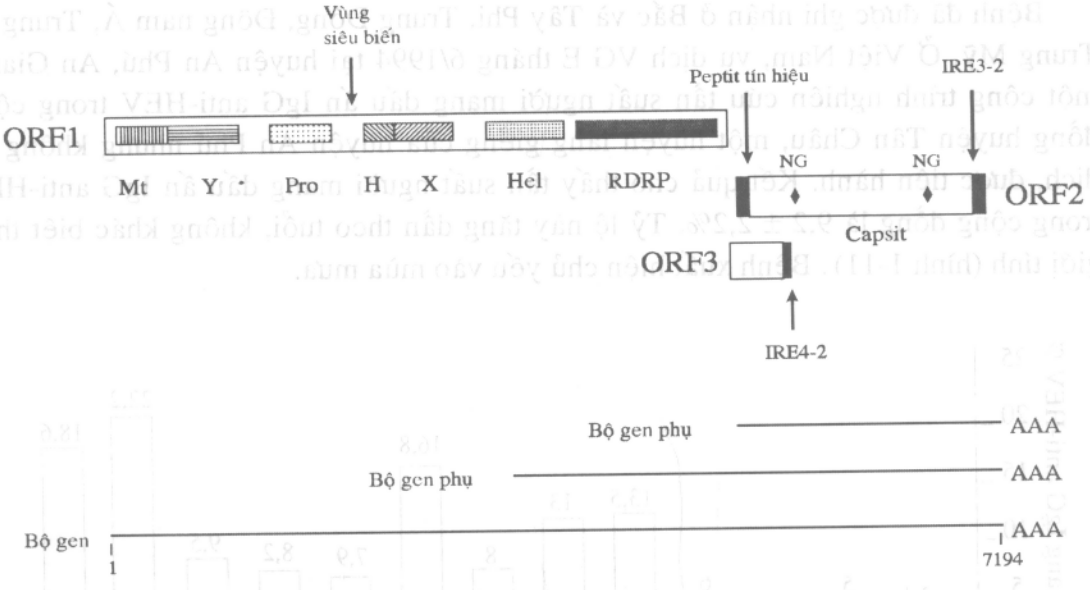
Độ 5% BN VG tự miễn có các xét nghiệm dương giả đối với anti-HCV và độ 10% BN nhiễm HCV có các tự kháng thể lưu hành. Tuy nhiên, 2 bệnh này hoàn toàn khác biệt nhau. Một kết hợp được tìm thấy giữa HCV và một xét nghiệm kháng thể dương đối với LKM-1. Điều này có thể liên quan đến sự có chung các điểm kháng nguyên giữa nhiễm HCV mạn và VG mạn hoạt động tự miễn LKM-1, tuy phân tích chi tiết đã chứng minh các điểm này khác nhau. Có các khác biệt lâm sàng giữa 2 kiểu: các BN liên quan đến HCV thường lớn tuổi, phái nam và có nồng độ LKM-1 thấp hơn. Sự phát hiện các tự kháng thể trong một BN có anti-HCV và HCV RNA(+) có thể dẫn đến các khó khăn trong điều trị, hoặc ức chế miễn dịch đối với những BN tự miễn mạn tính sẽ đáp ứng, hoặc kháng virut đối với những người nhiễm HCV (bảng 1-3).

3.4.9. Điều trị và dự phòng VG virut C

Đơn trị VG C mạn bằng IFN-α, 3triệu đơn vị, 3 lần/tuần, sau 12 tháng, có đáp ứng kéo dài khoảng 10-20%. Điều trị phối hợp IFN- và ribavirin sẽ tăng tỷ lệ đáp ứng lên 40-50%. Kết quả điều trị phụ thuộc vào kiểu gen HCV, nồng độ HCV RNA, tuổi v.v... Không có biện pháp dự phòng đặc hiệu đối với HCV. Khi phát hiện được VG C cấp, điều trị bằng IFN-α cũng là một biện pháp cần thiết dự phòng VG C trở thành mạn tính.

3.5. VG VIRUT E (HEV)

3.5.1. Bộ gen HEV



Hình 1-10. Cấu tạo bộ gen của HEV RNA với 3 khung đọc mở và 2 bộ gen phụ có đuôi polyadenyl hóa.

ORF1: Mt, methyltranferaza; Y, phạm vi Y; Pro, proteaza giống papain; H, phạm vi bản lề giàu prolin; X, phạm vi X; Hel, helicaza; RDRP, RNA polymeraza phụ thuộc RNA. ORF2 mã hóa protein được xem là capsit: NG, các điểm glycosyl hóa liên kết N. ORF3 mã hóa một peptit 123 aa với chức năng sinh học chưa rõ. IRE3-2 và IRE4-2 biểu hiện các quyết định kháng nguyên phản ứng miễn dịch nhận biết qua dòng vô tính 406.3-2 và 406.4-2 biểu thị lần lượt tại đầu tận cùng carboxyl của ORF2 và ORF3. Số 1 và 7194 biểu thị các đầu 5' và 3' của chuỗi mã nucleotit của HEV Miến Điện, không kể chuỗi mã polyadenyl hóa.

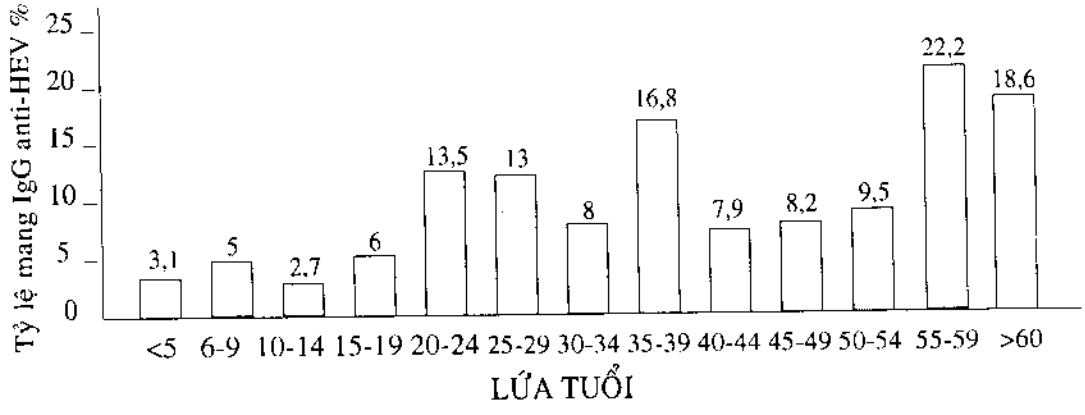
HEV là một virut RNA mạch đơn, khoảng 7,5 kb, có 3 khung đọc mở riêng biệt. Trước đây vẫn xếp vào họ Caliciviridae, gần đây nghiên cứu phân tử gợi ý nên xếp vào họ Togaviridae. Hầu như chỉ có một serotype HEV. HEV và HAV có hệ gen khác nhau và kháng nguyên khác nhau (hình 1-10).

3.5.2. Dịch tễ học nhiễm HEV

Nhiễm VG E (HEV) thường gây các đợt dịch tản phát và các đợt dịch lớn ở các nước đang phát triển, nhất là khi có lụt. Bệnh truyền theo đường tiêu hóa, thường bởi nước nhiễm bẩn chất thải. Bộ gen virut đã được tìm thấy trong phân các BN. Nhìn chung, dịch tễ học VG E rất giống VG A. VG E gây bệnh ở thanh thiếu niên, chủ yếu trên 20 tuổi, hiếm gặp ở trẻ con, ngược lại với HAV. Có lẽ BN bị nhiễm trước

đây ở tuổi thơ ấu nhưng đã mất kháng thể phát hiện được. Lây nhiễm HEV từ người sang người ít gặp và truyền nhiễm dọc hiếm xảy ra.

Bệnh đã được ghi nhận ở Bắc và Tây Phi, Trung Đông, Đông nam Á, Trung Á, Trung Mỹ. Ở Việt Nam, vụ dịch VG E tháng 6/1994 tại huyện An Phú, An Giang, một công trình nghiên cứu tần suất người mang dấu ấn IgG anti-HEV trong cộng đồng huyện Tân Châu, một huyện láng giềng của huyện An Phú nhưng không có dịch, được tiến hành. Kết quả cho thấy tần suất người mang dấu ấn IgG anti-HEV trong cộng đồng là 9,2 ± 2,2%. Tỷ lệ này tăng dần theo tuổi, không khác biệt theo giới tính (hình 1-11). Bệnh xuất hiện chủ yếu vào mùa mưa.



***Hình 1-11.** Tỷ lệ người mang IgG anti-HEV trong cộng đồng dân cư huyện Tân Châu, An Giang.*

3.5.3. Các đặc trưng lâm sàng VG virut E

Các nghiên cứu trên người tình nguyện đã cho thấy một thời kỳ ủ bệnh từ 22 đến 46 ngày đối với máu và 34 đến 36 ngày đối với phân. Khởi phát bệnh đột ngột: 100% BN bị vàng da và không có các đặc trưng ngoài gan. HEV thường gây suy gan cấp trong các vùng dịch lưu hành. Bệnh cũng có thể xảy ra kịch phát. Diễn tiến có thể bị ứ mật. Không có diễn tiến đến tình trạng VG E mạn. Cũng như VG A, các triệu chứng lâm sàng trong nhiễm VG E cấp thường nhẹ hơn VG B cấp.

Tỉ lệ tử vong khá cao (độ 25%) ở phụ nữ trong 3 tháng cuối của thai kỳ. Hình ảnh nặng nề lúc mang thai thường gặp trong các đợt dịch hơn là ở các trường hợp tản phát. Nhiễm HEV kịch phát có thể lầm lẫn với gan thoái hóa mỡ cấp trong lúc mang thai.

3.5.4. Chẩn đoán nhiễm HEV

Chẩn đoán được thực hiện bằng các xét nghiệm kháng thể dùng các protein tái tổ hợp biểu hiện HEV được nhân dòng. Các xét nghiệm này phát hiện các kháng thể

cả IgG lẫn IgM. Các xét nghiệm kháng thể không hoàn toàn tốt. HEV RNA có thể được xác định bằng PCR. Không có điều trị đặc hiệu.

3.5.5. Điều trị và dự phòng nhiễm HEV

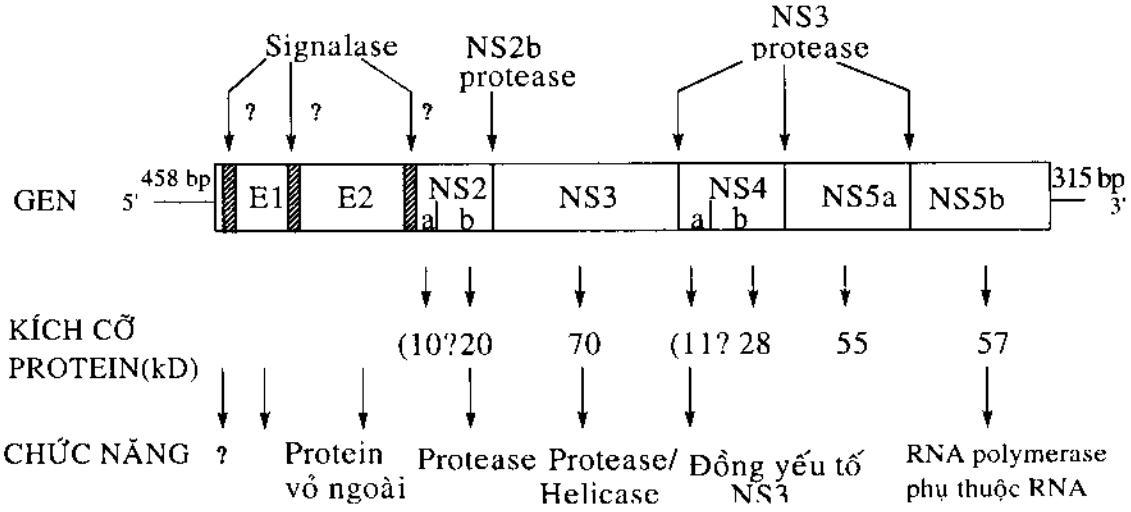
Không có phương pháp điều trị và dự phòng nào đặc hiệu đối với VG E.

3.6. VG VIRUT G (HGV)

3.6.1. Bộ gen HGV

Năm 1967, huyết thanh lấy từ một phẫu thuật viên Chicago 34 tuổi có VG cấp gây VG ở khỉ vuốt tay (tamarin). VG có thể được cấy chuyền liên tục. Tác nhân được gọi là GBV. GB là các chữ đầu của tên phẫu thuật viên. Tác nhân thường được cho là virut hiện nay được khảo sát bởi phương pháp PCR trừ (subtractive PCR) và các chuỗi mã nucleotit đặc hiệu đã được nhân dòng từ một con khỉ vuốt tay nhiễm GBV. Đến nay, các tác giả đã xác định được 3 tác nhân: GBV-A và GBV-B có lẽ là virut của khỉ vuốt tay, GBV-C là một virut của người.

Một tác nhân được xác định gần đây là virut VG G (HGV) được nhân dòng từ một BN có VG mạn mắc phải ở cộng đồng có protein huyết tương đã truyền nhiễm VG cho khỉ vuốt tay. Các chuỗi mã của GBV-C và HGV tương đồng hơn 95% và cả hai virut được xem là các chủng phân lập liên quan chặt chẽ của cùng một virut.



Hình 1-12. Cấu trúc của gen HGV.

UTR, vùng tận cùng không dịch mã; E1 và E2, các gen vỏ ngoài 1 và 2; NS2a, NS2b, NS3, NS4, NS5a và NS5b; các gen không cấu trúc 2a, 2b, 3, 4a, 4b, 5a và 5b (Theo Kim và Fry).

Cấu trúc bộ gen HGV/GBV-C đã được xác định chuỗi mã và được xếp vào họ Flaviviridae. Có dưới 25% tương đồng chuỗi mã với HCV và các thành viên khác trong họ Flaviviridae (hình 1-12). PCR đã được dùng để giám sát tình trạng virut

huyết. Một xét nghiệm kháng thể đáng tin cậy đang được chờ đợi. HGV truyền qua đường máu và các thủ thuật chăm sóc sức khỏe.

3.6.2. Dịch tễ học HGV

Ở Mỹ, người cho máu có HGV dương chiếm khoảng 1%-2%. HGV phổ biến trong cộng đồng hơn là HCV, nhưng HGV có các yếu tố nguy cơ tương tự như HCV. Các yếu tố này bao gồm người tiêm chích ma túy; người bệnh ưa chảy máu nhận các sản phẩm của máu và những người truyền máu nhiều lần. HGV được phát hiện trong 3,1% các BN thẩm tách máu ở Nhật Bản và những người HGV dương có bằng chứng bệnh hoạt động. HGV có thể tồn tại trong máu đến 16 năm.

HGV được phát hiện trong 33% các BN sau ghép gan và có thể gây bệnh nghiêm trọng hơn ở người bị ức chế miễn dịch. HGV được phát hiện trong 6% các BN có VG mạn tản phát.

Tại Việt Nam, nghiên cứu về VG G còn ít, Trần Văn Bé và Bửu Mật, bằng phương pháp PCR đã sơ bộ xác định tỷ lệ HGV ở người cho máu tình nguyện là 7,4%, quân nhân 5,2% và phụ nữ mang thai là 4,0%. Tỷ lệ chung là 5,7%. Tỷ lệ này cao hơn tỷ lệ trong cộng đồng dân cư nhiều nước nước như Nhật (4,8%), New Zealand (3,6%), Mỹ (5,3%); nhưng còn thấp hơn một số cộng đồng như châu Âu (9,7%), Tây Phi (26,9%).

Nói chung còn nhiều điều chưa rõ xung quanh nhiễm HGV. Số người nhiễm HGV khỏe mạnh đông hơn hẳn số bị bệnh gan có HGV dương. Hoặc HGV là một lữ khách vô tội (innocent bystander) hoặc là một tác nhân gây bệnh nghiêm trọng ở người, hoặc HGV chỉ là một virut gây bệnh gan thứ phát như EBV, CMV, vấn đề này hiện vẫn chưa được xác định. Các nghiên cứu về các đặc trưng lâm sàng, mô học gan và nồng độ virut hiện chưa đầy đủ. HGV sẽ không là virut cuối cùng trong alphabet của VG và các virut VG khác còn đang được xác định.

3.6.3. Các đặc trưng lâm sàng nhiễm HGV

Ý nghĩa lâm sàng của HGV còn chưa chắc chắn với 75% không có triệu chứng lâm sàng. Tác nhân đã được truyền nhiễm cho hắc tinh tinh, không có tăng transaminase hoặc các thay đổi trong sinh thiết gan. VG cấp thường nhẹ với transaminase chỉ tăng nhẹ hay không tăng. Tuy nhiên, GBV có thể kết hợp với VG kịch phát hoặc VG chưa rõ nguyên nhân ở Nhật Bản.

3.6.4. Chẩn đoán nhiễm HGV

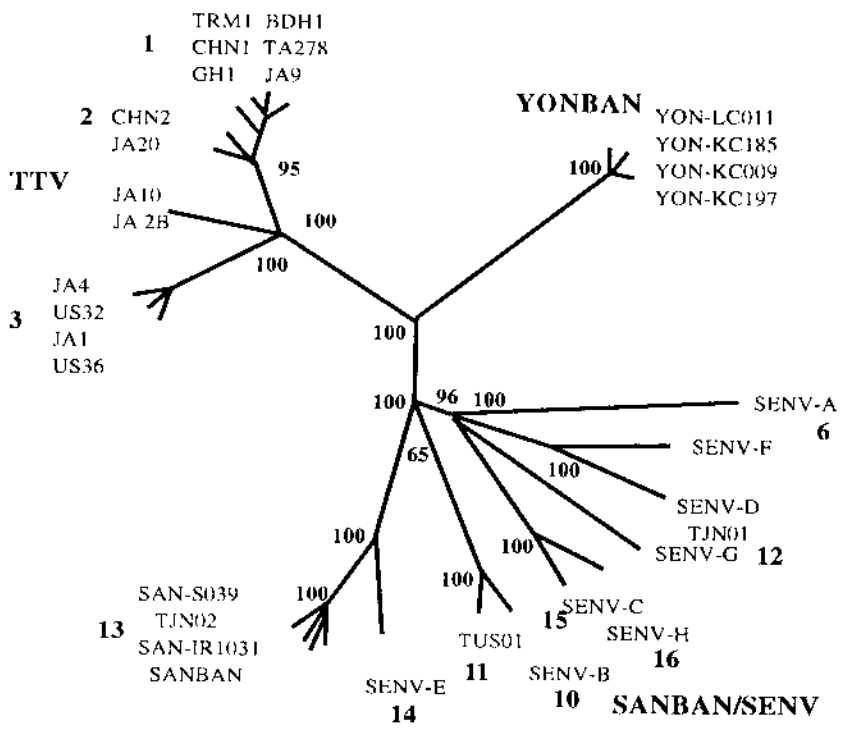
Xét nghiệm đối với kháng thể glycoprotein vỏ ngoài E2 của HGV đã được phát triển. Đây là dấu ấn liên quan đến sự hồi phục của bệnh. Chẩn đoán xác định nhiễm HGV cần đến các phương pháp sinh học phân tử (PCR). Không có điều trị đặc hiệu.

3.6.5. Điều trị và dự phòng VG virut G

Hiện chưa có biện pháp điều trị và dự phòng nào đặc hiệu đối với VG G.

4. CÁC VIRUT VG NHIỄM QUA ĐƯỜNG MÁU MỚI PHÁT HIỆN

Ngày càng có nhiều bằng chứng cho thấy có các trường hợp VG virut xảy ra mà không liên quan đến các virut từ A-E đã được xác định. Những trường hợp này bao gồm các loại VG: cấp, mạn, kịch phát, sau truyền máu và VG mắc phải tại cộng đồng. Vào năm 2000, chỉ tính riêng ở Mỹ đã có 68.000 trường hợp VG sau truyền máu chưa rõ căn nguyên xảy ra ở những người nhận máu và cuối cùng có một tỷ lệ phát triển VG mạn với các biến chứng về gan.



Để xác định các tác nhân VG không A-E này, hàng loạt công trình khám phá virut mới. Từ năm 1997, 5 virut được xem là các virut không A-E đã được mô tả trong y văn hoặc trong các báo cáo chính thức tại các hội nghị khoa học quốc tế bao gồm (bảng 1-4):

Hình 1-13. Cây phả hệ các virut VG mới phát hiện căn cứ vào việc so sánh các bộ gen nguyên vẹn hoặc gần nguyên vẹn.

Nhóm di truyền đầu tiên (TTV) gồm các chủng phân lập TTV mà trước đây được gọi là kiểu gen 1, 2 và 3. Nhóm di truyền thứ nhì (SANBAN/SENV) gồm các chuỗi mã của các thể phân lập cho thấy giống với kiểu gen TTV từ 9 đến 16 được mô tả trước đây. Nhóm di truyền thứ ba gồm các chủng phân lập YONBAN.

1. Virut TT (TTV) phát hiện năm 1997, hiện có tới 16 kiểu gen.
2. Virut SANBAN
3. Virut mini tương tự TTV (TLMV)

4. Virut SEN (SENV, lấy từ tên viết tắt của BN nhiễm virut này), có 8 kiểu huyết thanh.
5. Virut Sentinel (SNTV)

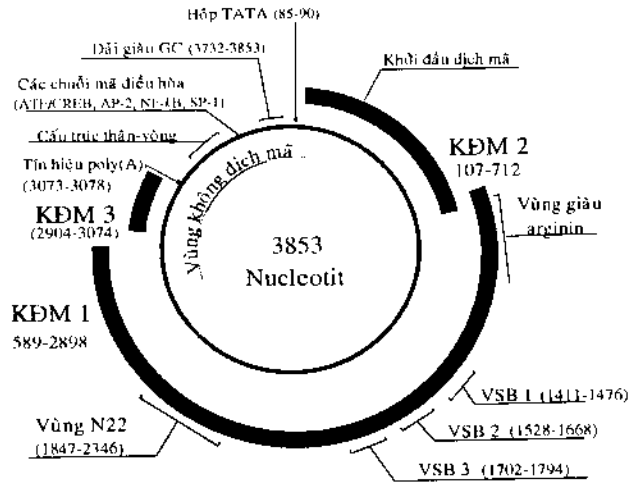
Bảng 1-4. Các đặc trưng vật lý và sinh hóa của TTV và các virut giống TTV

	TTV	SANBAN	TLMV	SENV	SNTV
Bộ gen	DNA	DNA	DNA	DNA	DNA
Mạch	Đơn/vòng	Đơn/vòng	Đơn/vòng	chưa biết	Đơn/vòng
Chiều dài bộ gen	3.852	3.808	2.856-2.897	3.249-3.619	>3.000
(nt)	30-50	chưa biết	< 30	26	30
Kích cỡ (nm)	1,31-1,34	chưa biết	1.31-1.34	1.403	1,33-1,35
Tỷ trọng (g/ml)	antisense	antisense	antisense	chưa biết	chưa biết
Phân cực	3	2	3	3	3
KĐM (ORF)	đường máu/ruột	chưa biết	đường máu	đường máu	đường
Truyền nhiễm	Circinoviridae/	chưa biết	Paracircoviridae	chưa biết	máu
Xếp loại	Circoviridae				chưa biết

4.1. VIRUT TTV

4.1.1. Cấu trúc bộ gen virut TTV

Năm 1997, Nishizawa và cs lần đầu tiên đã xác định virut TTV ở các BN Nhật Bản có nồng độ ALT cao sau khi truyền máu. Các BN này được xét nghiệm các dấu ấn của các virut VG từ A đến G, cũng như các tác nhân virut khác như GBV/C và herpesvirus 8 đều cho kết quả âm tính. Huyết thanh của các NB này được tìm thấy có chuỗi mã DNA không phù hợp với các chuỗi mã trong ngân hàng dữ liệu. Từ đó, virut này được xác định là một tác nhân VG mới được gọi là TTV. Đây là các chữ đầu của tên họ NB được dùng để đặt tên và Nishizawa cho rằng tên này dùng thay cho từ virut truyền theo đường máu.



***Hình 1-14.** Bộ gen virut TTV.*

Bộ gen chưa được xác định đầy đủ, còn nhiều chỗ giả định, được xếp vào giống Circoviridae, thuộc họ Circinoviridae.

Bộ gen TTV có cấu trúc DNA mạch đơn, cực tính âm, có vỏ ngoài bao bọc lấy capsit tạo thành một virut hoàn chỉnh. Bộ gen chưa được hiểu biết đầy đủ, còn nhiều phần trên bộ gen còn là giả định. Bộ gen có 3853 nt (thuộc chủng TA278), bao gồm 3 KĐM VÀ 3 vùng siêu biến (VSB) (hình 1-14).

4.1.2. Dịch tễ học virut TTV

Với phương pháp xét nghiệm PCR ban đầu có độ nhạy thấp, tỷ lệ nhiễm TTV được xác định chiếm 1/3 trong cộng đồng dân cư, tuy có thay đổi theo từng nước và theo từng nghiên cứu khác nhau. Nhìn chung, tỷ lệ nhiễm TTV thấp ở Mỹ và Bắc Âu, trung bình ở châu Á và cao ở châu Phi và nam Mỹ. Ngay cả các cộng đồng sống cách biệt cũng có tỷ lệ nhiễm khác cao. Nhiễm TTV xảy ra rất sớm và tăng dần theo tuổi.

Truyền nhiễm TTV theo nhiều đường truyền khác nhau cả truyền nhiễm theo chiều dọc lẫn chiều ngang: đường máu, đường tiêu hóa, đường từ mẹ sang con, đường tình dục, do tiếp xúc trong nhà và cả với loài vật (gà, heo, bò, cừu...).

Gần đây, các xét nghiệm PCR đã cải tiến độ nhạy, dựa vào vùng không mã hóa hoặc vùng bảo tồn cao của bộ gen TTV, đã cho thấy tỷ lệ nhiễm TTV trong các công trình trước đây là quá thấp. Hiện nay, trong đa số quốc gia được khảo sát tỷ lệ nhiễm TTV, tỷ lệ người mang TTV vào khoảng 80% với đỉnh cao ở các nước như Nhật bản, Myanmar, Saudi Arabia và Singapore. Với các nghiên cứu này, độ chênh theo tuổi và theo vùng địa lý không còn nhiều ý nghĩa. TTV có thể có nhiều trong nước uống và thức ăn tùy theo các điều kiện về vệ sinh đến nỗi nhiều tác giả đã có ý định dùng virut TTV như là dấu ấn nhiễm virut, tương tự như Escherichia coli là dấu ấn của tình trạng nhiễm khuẩn có nguồn gốc đường tiêu hóa.

4.1.3. Sinh bệnh học và các đặc trưng lâm sàng nhiễm TTV

Ngay từ lúc Nishizawa mô tả những trường hợp đầu tiên được cho là nhiễm TTV, nồng độ ALT gia tăng ở 3/5 NB. Vì thế, tác giả cho rằng TTV có thể là nguyên nhân của một vài thể VG mạn và suy gan kịch phát đến thời điểm đó chưa rõ nguyên nhân. Tuy nhiên, nhiều nghiên cứu sau đó cho thấy NB nhiễm TTV không có biểu hiện lâm sàng nào rõ rệt, đến nỗi Griffiths và Simmonds đã cho rằng TTV là một phần của vi sinh chí (microflora) bình thường ở người và được xếp vào loại các virut mồ côi (các virut được phân lập trong môi trường tế bào mà không liên quan đến bất cứ bệnh nào được biết).

Nồng độ TTV cao lưu thông trong máu có thể phức hợp với IgG liên quan đến các bệnh viêm cầu thận, viêm mạch máu và các bệnh khác trong đó phức hợp miễn

dịch mạn tính từ lâu đã bị nghi ngờ là một cơ chế sinh bệnh quan trọng, nhất là khi kết hợp với các bệnh khác như HCV, HBV v.v...

4.2. CÁC VIRUT MỚI PHÁT HIỆN KHÁC

Khi phân tích cây phả hệ (hình 1-13), người ta thấy 3 nhóm TTV, SANBAN và SENV là thành viên của một họ duy nhất. Trong khi đó, TLMV có kích thước nhỏ nên không thuộc vào cây phả hệ này. SNTV lại chưa xác định được chuỗi mã nên chưa biết được mối liên quan giữa virut này và cây phả hệ. Tính truyền nhiễm và tính khiếm khuyết gây bệnh của chúng tương tự nhau. Khiếm khuyết tính gây bệnh có thể do nhiều yếu tố:

- Bệnh sử thích nghi lẫn nhau khá dài giữa virut và ký chủ
- Thiếu điểm gắn kết thụ thể tế bào đặc hiệu đối với các virut này ngăn ngừa lan truyền virut và tính không gây bệnh tế bào do lan truyền từ tế bào sang tế bào.

Các kiểu virut TTV và tương tự TTV "vô hại" được xem là các virut mồ côi. Do đó, các virut này có thể được đặt tên là nội cộng sinh.

Bởi thế, đây không thể là các virut VG mới do chúng không hội đủ tiêu chuẩn cần thiết để xếp loại như là virut VG. Các tiêu chuẩn này bao gồm:

- Sao chép trong gan và sau đó gây tổn thương gan của ký chủ bị nhiễm.
- Có thể truyền nhiễm cho hắc tinh tinh với ALT tăng cao.
- Gan bất thường về mặt mô học.
- Bằng chứng phát triển VG cấp hoặc mạn.

5. TÓM TẮT

Đến nay, các virut gây VG đã được xác định bao gồm 6 loại mang tên theo thứ tự của mẫu tự la tinh là A, B, C, D, E và G. Ngoài ra, nhiều tác giả đã đưa ra một số virut mới phát hiện được cho là có khả năng gây VG như TTV, SEV, SNTV, SABAN, TLMV... Tuy nhiên, khả năng gây VG của các virut này còn cần thời gian để xác định. Nhiều công trình gần đây cho rằng chúng chỉ là các virut nội cộng sinh của cơ thể, hay thuộc thành phần vi sinh chí bình thường của cơ thể. Tuy nhiên, việc tìm kiếm thêm các virut VG mới vẫn được tiếp tục vì còn một tỷ lệ BN có bệnh cảnh VG virut chưa được xác định tác nhân.

Hầu hết các virut VG gây bệnh cho người đều được tìm thấy ở Việt Nam và thường có mức độ nhiễm cao (virut VG A, virut VG B, virut VG C, virut VG E). Các virut VG D và G cũng được phát hiện, nhưng chưa có một nghiên cứu về tần suất của các loại này trong cộng đồng một cách đầy đủ. VG do virut là một vấn đề ảnh hưởng rất lớn đến sức khỏe, đời sống, tuổi thọ của cộng đồng, cần phải có giải pháp hữu hiệu để phòng chống.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. **Sherlock S.** Clinical features of hepatitis. In Zuckerman AJ, Thomas HC, editors. Viral Hepatitis. 2nd ed. London. Churchill Livingstone; 1998. p. 1-13

2. **Specter S.** Introduction. In S. Specter editor. Viral hepatitis: Diagnosis, Therapy, and Prevention.Totowa, NJ. Humana Press Inc. 1999;7-33.

3. **Wu JS.** Virus hepatitis (history). Revised April 10, 2000. http://hometown.aol.com/chiaungo/profes/vh-histo.htm.

4. **Mushahwar IK.** Recently discovered Blood-borne Viruses: Are they hepatitis viruses or mery endosymbionts? J Med Virol, 2000, 62: 399-404.

5. **Nguyễn Thu Vân, Hoàng Thủy Nguyên và Howard A. Fields.** Tình trạng nhiễm virut VG A, B, C và D trong những người khác nhau và việc nghiên cứu ứng dụng sản xuất vacxin viêm gan B ở Việt Nam. Tạp chí Vệ sinh phòng dịch tập II, số 1, 1992.

6. **Trần Văn Bé; Bửu Mật; Young NS; Wong S.** Virus viêm gan G (GBV-C/HGV) ở một số đối tượng tại Thành Phố Hồ Chí Minh. Y Học Việt Nam, số 10, tập 209, 1996, tr 26-28.

7. **Nguyễn Hữu Chí, Võ Minh Quang, Ngô Thị Kim Cúc, Lê Mạnh Hùng, Nguyễn Văn Hợi, Bùi Kim Mai, Đinh Khắc Hiếu, A.L. Corwin.** Một số đặc điểm dịch tễ học và lâm sàng của viêm gan siêu vi A cấp điều trị tại Trung tâm Bệnh nhiệt đới TP. Hồ Chí Minh. Thời sự Y học, 4/1998, tr 71-74.

8. **Lê Đăng Hà, Hồ Thị Vân Anh, Trịnh Thị Minh Liên, Đào Đình Đức, Nguyễn Đức Hiền, Trần Công Đại.** Góp phần tìm hiểu lâm sàng của viêm gan virut A, B, E cấp. Y học thực hành, số 8 (353), 1998, tr 30-33.

9. **Sac PK; Nhung VT; Yên VT et al.** Investigation of a waterborn outbreak of hepatitis E virus in South of Viêt Nam, Pasteur Institute, HCM City and US Naval Med. Research unit, Jakarta, Indonesia, 1994.

10. **Lê Đăng Hà.** Nghiên cứu lâm sàng và biến diễn của viêm gan do virut A và B. Y học Việt Nam, số 5 (154), 1990, tr 18-23.

11. **Châu Hữu Hầu, Andrew Lee Corwin, Trần Tịnh Hiền, Lê Thị Kim Tiến, Hạ Bá Khiêm, Phạm Kim Sắc, Võ Tuyết Nhung.** Tình trạng nhiễm virut viêm gan lây truyền theo đường tiêu hóa (HAV, HEV) ở cộng đồng dân cư huyện Tân Châu, tỉnh An Giang. Kỷ yếu các công trình nghiên cứu khoa học. Trường Đại học Y khoa Hà Nội. 7/1996; tr 142-149.

12. **Châu Hữu Hầu, Hà Văn Tâm, Phạm Ngọc Đính, Đoàn Huy Hậu.** Tình trạng nhiễm virut viêm gan lây truyền ngoài đường tiêu hóa (HBV, HDV, HCV) ở cộng đồng dân cư huyện Tân Châu, tỉnh An Giang. Kỷ yếu các công trình nghiên cứu khoa học. Trường Đại học Y khoa Hà Nội. 7/1996; tr 179-187.

13. **Trương Xuân Liên.** Tình hình nhiễm virut viêm gan C tại Thành phố Hồ Chí Minh. Luận Án PTS khoa học Y Dược. Hà Nội. 1994.

14. **Lê Vũ Anh.** Bước đầu đánh giá tình trạng mang và mang kéo dài virus viêm gan B trên quần thể dân cư vùng Hà Nội. Luận Án PTS y học. Hà Nội 1988.

15. **Phạm Song, Đào Đình Đức, Bùi Hiền và cs.** Đánh giá bước đầu căn nguyên viêm gan virut ở Việt Nam. Nghiên cứu lâm sàng căn nguyên học viêm gan virut (1992-1996). Đề tài KY 01-09. 04/1996.

16. **Bendinelli M; Pistello M; Maggi F; Fornai C; Freer G; Vatteroni ML.** Mocular Properties, Biology, and Clinical Implications og TT Virus, a recently identified widespread infectious agent of humans. Clin Med Rev, Jan. 2001:98-113.

17. **Lemon S M.** Hepatitis A virus. Hepatitis A Virus. In Gorbach SL, Bartlett JG, Blacklow NR, editors. Infectious Disease. 2nd ed. Philadelphia: W.B. Saunders Company; 1998. p. 2180-88.

18. **McGarvey MJ; Houghton M; Weiner AJ.** Structure and Molecular Virology. In Zuckerman AJ, Thomas HC, editors. Viral Hepatitis. 2nd ed. London. Churchill Livingstone; 1998. p. 253-270.

19. **Tam AW**; Bradley DW. Structure and Molecular Virology. In Zuckerman AJ, Thomas HC, editors. Viral Hepatitis. 2nd ed. London. Churchill Livingstone; 1998: 395-401.

20. **Kim JP; Fry KE.** Structure and molecular virology of HGV (GBV-C). Viral Hepatitis. 2nd ed. London. Churchill Livingstone; 1998: 417-426.

21. **Võ Thị Tuyết Nhung.** Bước đầu tìm hiểu một số đặc điểm dịch tễ học nhiễm viêm gan siêu vi E trên những bệnh nhân vàng da cấp tại tỉnh An Giang. Luận văn thạc sĩ y học. TĐHYD TP.HCM. 2000.

Chương 2
LỊCH SỬ VIÊM GAN VIRUT B

Hiện nay, virut có tính hướng gan được xếp vào một danh sách ngày càng dài, thường xếp theo mẫu tự la tinh từ A, B, C, D, E, G, TTV (đến nay đã có 16 kiểu huyết thanh TTV), virut SENV (phát hiện vào năm 1999, đến này đã có 8 kiểu gen), virut SANBAN, virut nhỏ giống TTV, virut YONBAN, virut Sentinel...Trong đó chỉ có 2 virut A, E và G là truyền theo đường tiêu hóa, các virut khác truyền theo đường máu (virut VG G cũng được cho là có thể truyền qua đường máu). Năm 1994, virut VG F được báo cáo, nhưng hiện nay, virut VG F được xem là thể biến dị của HBV gặp ở Nhật Bản.

Ở đây, chúng tôi chỉ đề cập đến 2 loại virut VG là HBV và HDV, cả hai virut truyền theo đường máu, có liên quan chặt chẽ với nhau. Trong đó, HDV tồn tại khá độc đáo khi phải nhờ vào vỏ ngoài HBV, mà vỏ ngoài HBV (HBsAg) lại được sản xuất rất thừa thải trong huyết thanh của người nhiễm (ký chủ).

Sự hiện diện của một thể VG virút lây nhiễm trực tiếp từ máu người hoặc các dẫn xuất của máu được xác định từ năm 1883. Vào năm này, Luerman mô tả một trận dịch tại xưởng đóng tàu Bremen ở những người được chủng vacxin đậu mùa có chứa bạch huyết người. Một trận dịch **vàng da** khác **sau tiêm chủng** xảy ra ở Merzig cùng năm đó.

Giáo trình của Virchow về **bệnh vàng da xuất tiết** đã cản trở các quan điểm tiến bộ về nguyên nhân và sinh bệnh học của VG virut trong thế kỷ 20. Ngay cả Hans Eppinger (1879-1946) trong công trình nổi tiếng của ông "Các rối loạn chức năng gan", xuất bản năm 1937, đã chối bỏ bản chất dịch tễ của VG và khẳng định VG là do chế độ ăn sai lầm. Tuy nhiên, ngay từ năm 1919, Lindstedt ở Thụy Điển đã tiên phong trong việc đặt ra thuật ngữ VG cho bệnh vàng da xuất tiết và đã cố gắng phân biệt dạng VG dịch tễ ra khỏi VG huyết thanh. Nhưng chỉ đến các trận dịch VG trên toàn thế giới trong Thế chiến thứ II mới đưa đến nhận thức tổng quát về bản chất lây nhiễm của bệnh vàng da xuất tiết của Virchow.

Ngày nay người ta có thể theo dõi dấu vết VG truyền theo đường máu tại châu Âu vào đầu thế kỷ 20. Năm 1909 khi arsphenamine được dùng để điều trị giang mai, vàng da đã xảy ra sau khi điều trị. Sau đó, cả hai thể sớm và muộn của **vàng da sau khi dùng arsenic** cũng được ghi nhận. Đối với arsphenamine, trong một vài trường

hợp vàng da có thể do thuốc gây ra, đặc biệt khi vàng da xảy ra chỉ trong vài ngày sau liều điều trị ban đầu. Nhưng đa số trường hợp **vàng da sau khi dùng arsphenamine** có khả năng là do virút. Vàng da cũng liên quan tới các phương pháp điều trị theo đường tiêm khác trong các bệnh hoa liễu. **Vàng da** được báo cáo **sau khi dùng acriflavine, bismuth** và **penicillin**. Vào lúc penicillin được dùng, sự lây nhiễm VG virút đã được hiểu khá tường tận và các biện pháp phòng ngừa đã được thực hiện.

Bệnh sốt rét gây nhiễm nhân tạo để điều trị giang mai thể não, được thực hiện từ năm 1917, cũng liên quan đến vàng da trong một số lớn BN được gây nhiễm thực nghiệm. **Vàng da sau khi gây nhiễm sốt rét** còn xảy ra ở nhân viên phục vụ những người bị gây bệnh sốt rét trong thế chiến thứ hai.

Từ những năm 1920 đến cuối những năm 1940 vàng da được ghi nhận ở các BN bệnh tiểu đường nằm viện hoặc điều trị ngoại trú do bơm tiêm insuline không được sát khuẩn đầy đủ, lúc này người ta gọi là **vàng da do bơm tiêm**.

Sau khi một số vacxin mới được đưa vào sử dụng khoảng thập niên 1930, vàng da sau tiêm chủng vacxin lại xuất hiện. Vàng da sau tiêm chủng bệnh sốt vàng được ghi nhận vào năm 1934 do Findlay và cộng sự, nhưng chỉ là những trường hợp lẻ tẻ và số trường hợp gia tăng nhiều vào những năm 1936-1937. Vàng da sau tiêm chủng cũng được quan sát tại Brasil vào cuối thập niên 1930. Vào lúc này, vàng da sau tiêm chủng cũng xảy ra tại Liên Xô khi triển khai một phương pháp tiêm chủng phòng sốt do ruồi cát (sand-fly fever).

Quan niệm VG vàng da mà tác nhân nằm trong huyết thanh xuất hiện vào năm 1930 khi tiêm chủng phòng bệnh sốt vàng đã gây ra ít nhất 28.585 trường hợp vàng da, trong đó có 52 tử vong trong quân đội Mỹ vùng Thái Bình Dương. Con số này hiện nay được biết có thể lớn hơn nhiều. Huyết thanh của thời kỳ dưỡng bệnh được dùng tương đối rộng rãi trong thập niên 1930 và đầu thập niên 1940 để phòng các bệnh truyền nhiễm. Hai đợt dịch **vàng da huyết thanh** xảy ra ở Anh, bao gồm 44 trường hợp bệnh và 10 trường hợp chết rõ ràng liên quan đến việc sử dụng vacxin bệnh sởi bào chế từ máu dự trữ. Tuy nhiên, huyết thanh từ máu dự trữ vẫn tiếp tục được dùng và một đợt dịch khác xảy ra 4 năm sau khi hai lô huyết thanh chống bệnh quai bị được sử dụng ở các đơn vị quân đội và tỷ lệ tấn công của bệnh vàng da lên đến 44,7%. Trong thế chiến thứ hai, **vàng da sau truyền máu** đã xảy ra phổ biến ở các đơn vị quân đội.

Hiện nay, đa số các trường hợp VG nêu trên có thể là do một số tác nhân được gọi là virút VG không A không B (KAKB) như virút VG C v.v...ngoài ra còn do virút VG B (HBV).

Năm 1947, MacCallum đề nghị gọi bệnh VG nhiễm từ huyết thanh là VG B, và VG nhiễm bằng đường phân miệng, có thể gây dịch lớn, là VG A. cuối cùng, các thuật ngữ này được Ủy ban của Tổ chức Y tế Thế Giới về VG virut chấp thuận.

VG huyết thanh không được phân biệt rõ với VG nhiễm khuẩn cho đến thập niên 1940 và thập niên 1950, khi các khác biệt rõ ràng về kháng nguyên và sinh học được chứng minh trong các nghiên cứu gây nhiễm thực nghiệm ở người tình nguyện. Năm 1963, Blumberg, trong một nghiên cứu các protein huyết thanh đa hình (polymorphic), đã phát hiện một protein trong máu của một thổ dân Australia trước đó chưa từng biết. Năm 1965, protein Autralia được gọi là kháng nguyên Australia (hiện nay được gọi là kháng nguyên bề mặt hoặc HBsAg). Vào lúc này, xét nghiệm miễn dịch men (EIA) đối với các dấu ấn miễn dịch của các loại VG virut trong huyết thanh vẫn còn là cơ sở chính trong chẩn đoán lâm sàng. Sau khi khám phá ra kháng nguyên Australia trong huyết thanh, Blumberg và cs nhận xét rằng kháng nguyên này hiện diện với nồng độ cao ở BN ung thư máu và ở các trẻ bị bệnh Down. Năm 1968, các nhà nghiên cứu khác, nhất là Prince, Okochi và Murakami, đã xác định kháng nguyên Au chỉ được tìm thấy trong huyết thanh người nhiễm virut VG B, từ đó virút VG B mới được nhận biết và được xác lập đặc điểm. Blumberg lĩnh giải Nobel y học vào năm 1976 nhờ phát hiện này.

Các nghiên cứu thực nghiệm VG trên chính con người đã được thực hiện từ lâu. Tại Đức, năm 1942, Voegt đã chứng minh bản chất truyền nhiễm của bệnh bằng cách gây nhiễm thực nghiệm trên người. Các nghiên cứu tương tự cũng được McCollum và Bradley thực hiện năm 1944 và Findlay và Willcox vào năm 1945 ở Mỹ . Sau đó, vào năm 1967, Krugman và cộng sự nghiên cứu thực nghiệm tại trường trẻ em chậm phát triển tâm thần ở Willowbrook bằng cách gây nhiễm các trẻ em này để chứng minh sự hiện diện của hai virút VG gây vàng da, mà một loại hiện diện trong huyết thanh MS2 truyền một bệnh VG (VG MS2), nhưng không có trong huyết thanh MS1 là huyết thanh của các trẻ bị gây nhiễm VG qua đường ruột. Ngoài ra, ông cũng không thấy có miễn dịch chéo. Công trình thực nghiệm trên chính con người sau này bị nhiều người phê phán do vấn đề y đức. Nhưng cũng nhờ đó mà các đặc điểm dịch tễ, bệnh sử và phòng ngừa của hai loại VG A và B được hiểu biết rõ hơn.

Năm 1970, qua kính hiển vi điện tử, một hạt tương tự virut được phát hiện tình cờ gọi là hạt Dane mang trên bề mặt của nó kháng nguyên Autralia trong huyết thanh của BN VG B và những hạt này được cho là virut VG B. Các virut không liên quan khác gây truyền nhiễm VG ở người theo đường máu được khám phá sau đó,

nhưng HBV vẫn giữ tên cũ. Năm 1973, bản chất virut của các hạt Dane được xác định qua phát hiện DNA polymerase nội sinh bên trong vỏ ngoài của chúng qua nghiên cứu của Kaplan. Chính DNA polymerase này giúp Robinson phát hiện và xác định đặc điểm bộ gen HBV. Nhân dòng HBV DNA và xác định chuỗi mã nucleotit DNA toàn phần vào năm 1979 mở ra các phương pháp mới tìm hiểu sinh học HBV như là một tác nhân gây bệnh theo đường máu nhưng không sao chép trong môi trường nuôi cấy mô. Từ đó, bộ gen HBV là bộ gen độc đáo trong thế giới virut do bản chất đậm đặc của chúng, do dùng các khung đọc gối lên nhau và do phụ thuộc vào bước phiên mã ngược, dù rằng virion chứa chủ yếu DNA. Do phát hiện này, virut VG B người trở thành kiểu nguyên sinh của họ hepadnavirut, *Hepadnaviridae*.

Năm 1983, Mullis KB, nhận thấy các phương pháp trước đây để có được một chuỗi mã DNA với số lượng đủ dùng để nghiên cứu là khó khăn, tốn thời gian và đắt tiền, đã tìm ra phương pháp phản ứng chuỗi polymerase (PCR). Đây là một phương pháp nhân dòng *in vitro* nhằm tạo ra một số lượng lớn bản sao của một chuỗi mã nhất định. Nhờ phát minh này, sinh học phân tử có những bước tiến bộ mới, mạnh mẽ và Mullis được lĩnh giải Nobel vào năm 1993.

Sự khuếch đại DNA virut bằng PCR giúp phát hiện trực tiếp và rất nhạy HBV DNA trong huyết thanh, tế bào và các mô, hơn là phát hiện nhiễm HBV gián tiếp qua đáp ứng miễn dịch ký chủ đối với kháng nguyên virut. Nhờ đó, trong thập kỷ vừa qua, nhiều tiến bộ đã đạt được về sinh học phân tử, dịch tễ học, sinh bệnh học, chẩn đoán, điều trị và dự phòng của HBV.

Năm 1972, Magnus phát hiện ra HBeAg. Năm 1977, Rizzetto phát hiện ra virut VG D sống nhờ vào vỏ HBV.

Sự phát triển các xét nghiệm huyết thanh đối với kháng nguyên HBV và các kháng thể của chúng cho thấy HBV được phân bố toàn cầu và tỷ lệ nhiễm virút khá cao tại vài vùng như một phần châu Á, châu Phi và châu Đại Dương. Xét nghiệm huyết thanh cho những bằng chứng trực tiếp xác định VG huyết thanh liên quan đến nhiễm HBV và HBV khác biệt với virút trong VG nhiễm khuẩn (HAV). Xét nghiệm huyết thanh cũng cho biết không phải tất cả các trường hợp VG sau truyền máu là do nhiễm HBV, mà các tác nhân khác (virút không A không B truyền theo đường máu, còn gọi là HCV...) có trách nhiệm trong phần lớn các trường hợp.

HBV là một virút DNA nhỏ với các đặc điểm về siêu cấu trúc, phân tử, kháng nguyên và sinh học độc đáo, khác biệt với các thành viên của tất cả các họ virút đã được biết. Gần đây, các virút tương tự được tìm thấy ở loài sóc macmot (woodchuck) ở miền đông nước Mỹ, sóc đất ở California, vịt Bắc Kinh và ở một loài diệc. Các virút loài vật rất ích lợi trong nghiên cứu nhiễm HBV người. Các virút này tạo nên

một họ mới mà gần đây được gọi là Hepadnaviridae. Các đặc điểm phân tử độc đáo của chúng là do cấu trúc DNA (một DNA khá nhỏ, tròn, một phần mạch đơn), do cơ chế sao chép của chúng và do có men phiên mã ngược. Các đặc điểm sinh học đáng chú ý là tính hướng cơ quan (tropism) nổi bật đối với tế bào gan và có khuynh hướng gây nhiễm virút tồn tại (tình trạng người mang mạn tính), với nồng độ cao của kháng nguyên virút gồm các thể virút toàn vẹn hay không toàn vẹn chứa trong máu tồn tại trong nhiều tháng hoặc nhiều năm. Trong các vùng dịch lưu hành cao trên thế giới, tình trạng người mang mạn tính có thể vượt quá 10% cộng đồng dân cư và luôn là gánh nặng cho ngành y tế và cho cộng đồng ở các nước này. Ngày nay, dù đã có các vacxin hiệu quả chống lại VG B, HBV cũng gây ra khoảng 1,2 triệu cái chết hàng năm trên toàn thế giới và đến cuối năm 2000 trên thế giới được tính là có khoảng 400 triệu người mang HBV mạn tính. Tên gọi VG huyết thanh cho biết đường lây nhiễm thông thường của HBV lúc đầu gây ra do nhiễm virút máu (viremia) và do huyết thanh xuyên qua da. Hiện nay, HBV đã được chứng minh có thể lây truyền qua con đường không liên quan đến xuyên da trực tiếp như tiếp xúc tình dục và từ mẹ qua thai nhi và trẻ sơ sinh. Nhiễm HBV là một trong những nguyên nhân thường gặp của VG virút cấp. Nhiễm HBV tồn tại gây nhiều bệnh cảnh bao gồm VG mạn tính, đôi khi dẫn đến xơ gan; ung thư biểu mô tế bào gan và các bệnh phức hợp miễn dịch với các hình thức như viêm đa động mạch và viêm cầu thận.

Đến nay, các đặc điểm của HBV được xác định khá đầy đủ, nhiều dấu ấn kháng nguyên và kháng thể đã được mô tả, nhiều xét nghiệm có độ nhạy ngày càng cao đã được áp dụng. Nhờ đó việc sàng lọc máu đã loại gần hoàn toàn VG B sau truyền máu. HBsAg bất hoạt đã được dùng làm chất sinh miễn dịch (immunogen) để sản xuất anti-HBs và anti-HBs bảo vệ chống lại nhiễm virút dẫn đến sự phát triển vacxin VG B nguyên mẫu (prototype). Gần đây, việc phát triển vacxin VG B đã khởi đầu một kỷ nguyên mới trong đó việc thiết lập các chương trình tiêm chủng có thể cắt đứt sự lây truyền tác nhân gây bệnh này. Nhiễm HBV mạn tính là một trong các nguyên nhân dẫn đến tử vong ở người lớn trên toàn thế giới do tiến triển đến bệnh gan mạn tính và ung thư tế bào gan. Hiện nay, ung thư gan nguyên phát có khả năng được kiểm soát một phần nhờ vào vacxin phòng HBV .

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. **Wu JS**. Virus hepatitis (history). Revised April 10, 2000. http://hometown.aol.com/chiaungo/profes/vh-histo.htm.
2. **Nguyễn Đình Bảng, Đàm Viết Cương, Hoàng Ngọc Hiển Và Phạm Lê Hùng**. Vi sinh vật y học, NXB GD – ĐH và CN, Hà Nội 1992.
3. **Koff RS.; Galambos J**. Viral hepatitis. Liver. J.B. Lippincott company. Philadelphia. Toronto. 1982: 461-610.
4. **Trepo C**. Les virus des hépatites. La révue du praticien. Paris. 1995. 45: 161-167.
5. **Hadler SC; Margolis HS**. Viral hepatitis. Viral infections of humans: epidemiology and control. 1990: 351-391
6. **Robinson W.S**. Hepatitis B virus and hepatitis delta virus. Principles and practice of infectious disease. 3rd edition. Churchill Livingstone Inc. 1990, volume 1.204-1231.
7. **Shaw T; Locarnini S**. Combination chemotherapy for Hepatitis B virus: The final solution? Hepatology Vol. 32, No 2, 2000: 430-32.
8. **Vyas-NG; Yen TSB**. Hepatitis B virus: Biology, Pathogenesis, Epidemiology, Clinical Description, and Diagnosis. In S. Specter editor. Viral hepatitis, NJ. Humana Press Inc. 1999:7-33.
9. **Mullis, Kary B**. Encyclopedia Britannica, CD Room 1999.
10. **Franken FH; Falk H**. History of hepatology. In Oxford textbook of Clinical hepatology, 2th edition. Oxford University Press, 1999, 2067-73.
11. **Robert's page**. History of the Hepatitis B virus. http://www.Globalserve.net/~harlequin/HBV/history.htm

Chương 3
CẤU TRÚC CỦA VIRUT VIÊM GAN B

Trang
1. CẤU TRÚC CỦA HEPADNAVIRIDAE 54
1.1. Hình thái học hạt Virut hoàn chỉnh (VIRION) 55
1.2. Các hạt HBs 56
1.3. Hepadnaviridae của gia cầm 56
1.4. Các hạt HBs trong gan 56
1.5. Các hạt lõi trong gan 56
2.THÀNH PHẦN PROTEIN CỦA CÁC HẠT HBV 57
2.1.Các protein bề mặt 57
2.2. Các protein lõi 59
3. THÀNH PHẦN PROTEIN CỦA HBV CÓ NGUỒN GỐC KÝ CHỦ 59
3.1. Protein kinase 59
3.2. Protein sốc nhiệt 70 59
3.3. Protein đi kèm calnexin 59
3.4. Protein hsp90 và protein đi kèm p23 60
4.BỘ GEN HBV 60
4.1.DNA polymerase nội sinh của HBV 60
4.2. Cấu trúc của DNA virion 60
4.3. Nhân dòng HBV DNA 63
4.4. Định nghĩa các khung đọc mở 64
4.5. Cấu trú bộ gen của HBV 64
5. PROTEIN VỎ HBs 65
5.1. SHBs 65
5.1.1. Chuỗi mã protein SHBs 65
5.1.2. Các kiểu SHBs phụ 67
5.1.3. Cấu trúc của SHBs 68
5.2. Cấu trúc của MHBs 69
5.3. Cấu trúc của LHBs 70
6. CÁC PROTEIN LÕI HBc 73
6.1. Sản xuất KĐM C 73
6.2. Protein HBc 73
6.2.1. Cấu trúc HBc 73
6.2.2. Chức năng của protein HBc 74
6.3. Protein HBe 75
6.3.1. Cấu trúc protein HBe 75
6.3.2. Chức năng của protein HBe 76
7. CÁC SẢN PHẨM CỦA KĐM P 77
7.1. Vùng của KĐM P 77
7.2. Các sản phẩm của KĐM P ở VIRION 78

8. PROTEIN HBx 79
8.1. Cấu trúc Protein HBx 79
8.2. Chức năng của HBx 80
9. CÁC KIỂU GEN HBV 81
10. CẤU TRÚC PHÂN TỬ CỦA BỘ GEN HBV 82
10.1 Bộ gen HBV hoàn chỉnh kiểu phụ adr 82
10.2. Kháng nguyên bề mặt 84
10.3. Kháng nguyên X 84
10.4. Kháng nguyên lõi 85
10.5. HBV Polyerase 85
11. TÓM TẮT 87

1. CẤU TRÚC CỦA HEPADNAVIRIDAE

Virut VG B (HBV) là virut VG người đầu tiên mà đặc điểm cấu trúc protein và bộ gen được nhận dạng và xác định một cách cơ bản. Trước khi khám phá các virut, hai kiểu truyền nhiễm VG được phân biệt trên cơ sở quan sát dịch tễ học: kiểu A được xem chủ yếu truyền theo đường tiêu hóa (phân miệng), trong khi kiểu B truyền theo đường máu.

Vào năm 1963, Blumberg phát hiện kháng nguyên Australia và vào năm 1967 phát hiện sự liên quan của kháng nguyên này trong VG kiểu B. Các tiến bộ về sinh học phân tử đã giúp hiểu rõ hơn về bệnh này. Nhân dòng HBV DNA và xác định chuỗi mã nucleotit DNA toàn phần vào năm 1979 mở ra các phương pháp mới trong việc tìm hiểu sinh học HBV như là một tác nhân gây bệnh theo đường máu. Sự khuếch đại DNA virut bằng phương pháp PCR do Mullis phát minh vào năm 1983 (ông được giải Nobel năm 1993 nhờ phát minh này), giúp phát hiện HBV DNA trực tiếp và khá nhạy trong huyết thanh, tế bào và các mô, hơn là phát hiện nhiễm HBV gián tiếp qua đáp ứng miễn dịch của cơ thể với kháng nguyên virut. Nhờ đó, nhiều tiến bộ về sinh học phân tử, dịch tễ học, sinh bệnh học, chẩn đoán, điều trị và dự phòng của HBV đã đạt được trong thập kỷ vừa qua.

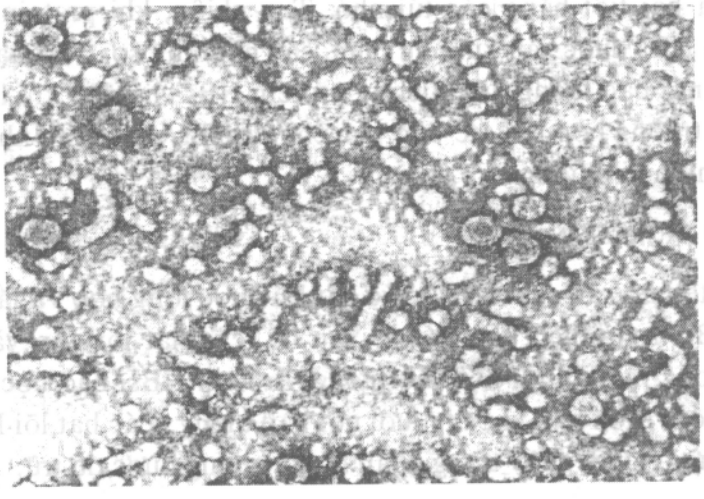
Nhiễm HBV gây bệnh VG cấp và mạn tính. Từ đầu những năm 1970, dựa trên các số liệu dịch tễ, người ta cho HBV là một nguyên nhân sinh ung thư gan. Do chưa nuôi HBV được trong môi trường tế bào, các nhà nghiên cứu phải tìm kiếm một tác nhân tương tự HBV ở loài vật. Kết quả đã tìm được tác nhân tương tự HBV ở sóc đen (woodchuck, loài sóc ở Bắc Mỹ) và tác nhân này đã được xác định liên quan đến việc phát triển ung thư gan. Sau đó, virut VG sóc đen (WHV) được khám phá. Các virut tương tự cũng gặp ở loài sóc đất khỏe mạnh mang virut (ground squirrel, GSHV) và các loài sóc đất Bắc cực (arctic squirrel). Cả hai loài liên quan xa với sóc đen. Một virut tương tự HBV khác cũng được phát hiện ở vịt Bắc Kinh (DHBV), diệc xám (gray heron, HHBV), ngỗng Ross (Ross goose, RGHV), vịt có bờm (maned

duck, MDHBV) và ở mòng két xám (gray teal, GTHBV) sống trong tình trạng hoang dã tự nhiên.

Hiện nay, HBV và các dạng tương đồng trong loài vật thuộc về một họ virut có tên là *Hepadnaviridae*, do tính hướng tế bào gan. *Hepadnaviridae* súc vật không được quan tâm trong thú y, nhưng chúng lại là các động vật nghiên cứu quan trọng cho HBV người. Một bước thiết yếu trong sao chép bộ gen virut là phiên mã ngược RNA thành DNA trong hạt lõi của DHBV như ở retrovirut. Hepadnavirut, badnavirut và caulimovirut có cùng kiểu sao chép tương tự, nên cũng được gọi là pararetrovirut; khác với orthoretrovirut, có một bộ gen RNA.

1.1. HÌNH THÁI HỌC HẠT VIRUT HOÀN CHỈNH (VIRION)

HBV có 3 kiểu hạt hiện diện trong máu của người nhiễm virut. Các hạt tương tự cũng gặp ở huyết thanh của sóc đen hoặc ở sóc đất nhiễm hepadnavirut. Virut hoàn chỉnh (virion) có hình cầu, đường kính 42 nm. Dùng phương pháp nhuộm âm bản, virion hấp phụ vào các rây của kính hiển vi điện tử và một cấu trúc hai vỏ của virion hiện rõ (hình 3-1). Vỏ protein bên ngoài (hoặc màng bao) được tạo thành bởi các protein HBs. Các chi tiết cấu trúc bề mặt như núm hoặc gai, như ở nhiều virut có màng bao khác, không thấy có trên HBV. Vỏ protein bên trong là hạt lõi hay còn gọi là capsit có đường kính 34 nm nhìn qua kính hiển vi điện tử lạnh. Vỏ trong có thành phần protein HBc và bao gói DNA virut, thường được nhuộm dương bản.



***Hình 3-1.** Hình thái học và thành phần protein của HBV và các hạt HBsAg tinh khiết.*

Hình chụp một mẫu huyết thanh qua kính hiển vi điện tử cho thấy các hạt HBV kích cỡ 42 nm, các hạt cầu và các dạng sợi nhỏ hơn 22 nm chứa các protein và lipit vỏ ngoài HBsAg.

1.2. CÁC HẠT HBs

Huyết thanh của người mang virut nồng độ cao chứa một lượng khá lớn các hạt không gây nhiễm là các protein HBs dư thừa (HBsAg). Đa số là các hạt hình cầu từ 17 đến 25 nm, thường có số lượng khoảng 10^{13}/ml. Các hạt cầu có dạng như là các túi nhỏ với thành dày độ 4 nm và đường kính bên trong từ 10 đến 15 nm. Các hạt hình sợi (hoặc hình ống) ít hơn, đường kính độ 20 nm có chiều dài thay đổi, thường có nồng độ khoảng 10^{11}/ml hoặc 1µ/ml. Huyết thanh của người mang có nồng độ virut huyết thấp thường chứa khoảng 10^{12}/ml hạt cầu HBs và các sợi HBs rất ít hoặc không có. Hai cấu trúc virut phụ gồm các hạt cầu và hạt hình sợi không chứa HBV DNA và vì thế không gây nhiễm.

1.3. HEPADNA VIRIDATE CỦA GIA CẦM

Hình thái của DHBV tương tự với hepadnavirut ở loài có vú. Huyết thanh của vịt nhiễm DHBV cũng chứa các hạt HBs thừa, nhưng hình dáng khác nhau trong đó các hạt cầu có đường kính thay đổi từ 40–60 nm và không phát hiện được các hạt hình sợi.

1.4. CÁC HẠT HBs TRONG GAN

Vỏ virut toàn vẹn và các hạt HBs được tổng hợp và lắp ráp tại màng của lưới nội bào tương và nẩy chồi vào khoang của lưới này. Từ lưới nội bào tương, các hạt được chuyên chở và bài tiết bằng các túi nhỏ. Tuy nhiên, khi protein lớn nhất (LHBs) trong 3 protein HBs được sản xuất dư thừa, các hạt hình sợi được tạo thành bị giữ lại bên trong lưới nội bào tương, làm tích tụ protein HBs cho đến khi lưới nội bào tương giãn ra. Trong trường hợp này, tế bào gan chứa LHBs có vẻ mờ như là kính đục, khi nhìn qua kính hiển vi thường.

1.5. CÁC HẠT LÕI TRONG GAN

Trong các tế bào sản sinh HBV, các hạt lõi được tổng hợp và lắp ráp độc lập với các protein HBs trong dịch bào tương. Sau đó, các hạt lõi gắn vào các mảng của protein HBs trong màng lưới nội bào tương. Protein HBs, bao bọc toàn thể các hạt lõi, làm nẩy chồi virion vào khoang lưới nội bào tương. Các hạt lõi HBV trống không có vỏ ngoài thường được thấy trong nhân là nơi chúng được dự trữ.

Ở những người có nồng độ virut huyết cao không có biểu hiện bệnh lý, gần như tất cả tế bào gan đều chứa một số lượng lớn các hạt lõi nhân hoặc các hạt lõi bào tương, có thể được tách ra, tinh khiết và nhìn dưới kính hiển vi điện tử như các hạt cầu. Có hai loại hạt lõi: hạt lõi trống không có chứa DNA nhưng hạt lõi đầy lại có. Một vài dòng tế bào sản xuất HBV như Hep G2.2.15, sản xuất không chỉ virion, các hạt HBs, mà sản xuất cả các hạt lõi trần. Tuy nhiên, không

có hạt lõi trần nào được tìm thấy ở huyết thanh của người mang HBV dung nạp miễn dịch mà không có anti-HBc.

2. THÀNH PHẦN PROTEIN CỦA CÁC HẠT HBV

2.1. CÁC PROTEIN BỀ MẶT

Ngoài các hạt virut hoàn chỉnh, còn gọi là hạt Dane, nhiều hạt virut phụ khác, còn gọi là kháng nguyên bề mặt lưu hành trong huyết thanh người nhiễm virut. Những hạt phụ thường rất nhiều so với các hạt virion (nhiều hơn với hàm số mũ 6) và được gọi là kháng nguyên bề mặt do Blumberg phát hiện và là một dấu ấn quan trọng của tình trạng nhiễm HBV.

Các hạt phụ chỉ chứa lipit có nguồn gốc từ nội bào tương của ký chủ và các protein bề mặt của virut nhưng không có nucleocapsit. Các hạt này không chứa hoặc chứa rất ít protein bề mặt lớn và là protein có thể mang điểm gắn thụ thể. Bởi thế, các hạt virut phụ không gây nhiễm, cũng không có khả năng ngăn trở nhiễm virut. Khi nhuộm âm bản, đây là các hạt hình cầu hoặc hình sợi có đường kính độ 22 nm, không có cấu trúc bên trong.

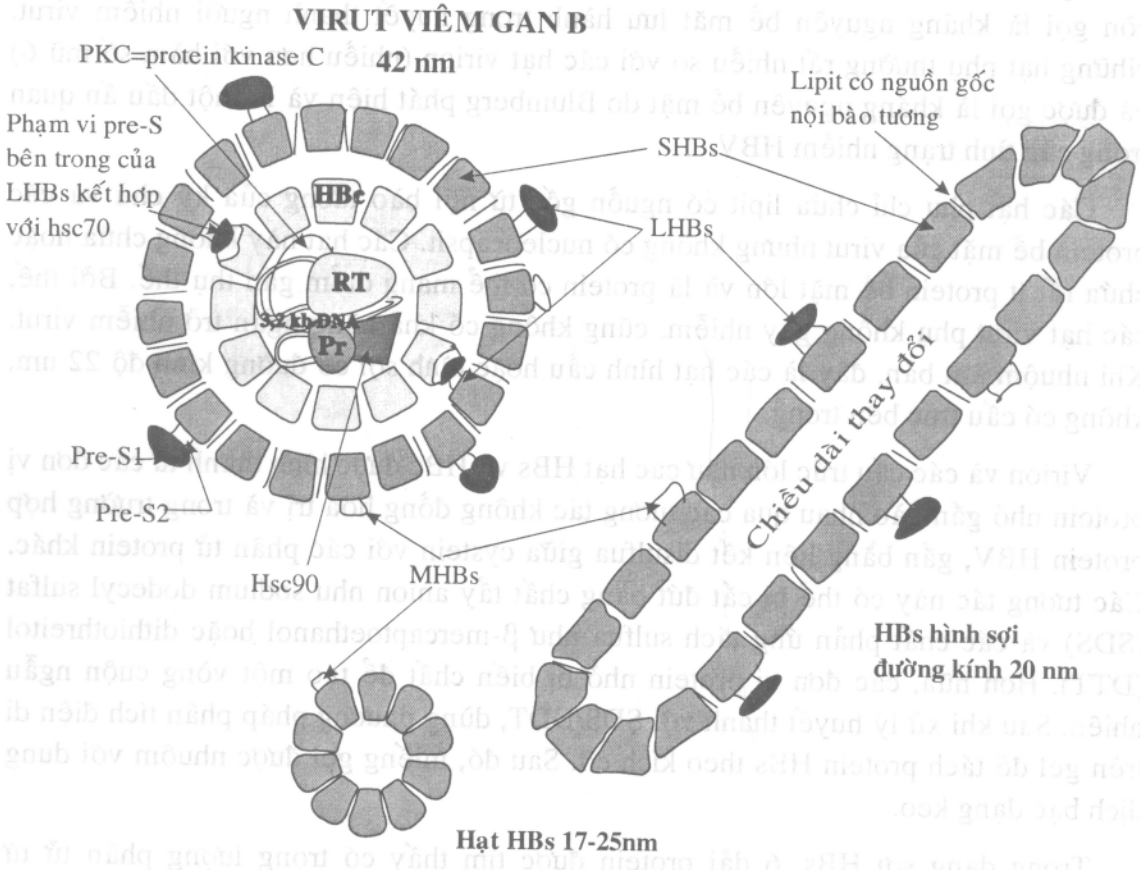
Virion và các cấu trúc lớn như các hạt HBs và HBc được hình thành từ các đơn vị protein nhỏ gắn vào nhau qua các tương tác không đồng hóa trị và trong trường hợp protein HBV, gắn bằng liên kết disulfua giữa cystein với các phân tử protein khác. Các tương tác này có thể bị cắt đứt bằng chất tẩy anion như sodium dodecyl sulfat (SDS) và các chất phản ứng tách sulfua như β-mercaptoethanol hoặc dithiothreitol (DTT). Hơn nữa, các đơn vị protein nhỏ bị biến chất để tạo một vòng cuộn ngẫu nhiên. Sau khi xử lý huyết thanh với SDS/DDT, dùng phương pháp phân tích điện di trên gel để tách protein HBs theo kích cỡ. Sau đó, miếng gel được nhuộm với dung dịch bạc dạng keo.

Trong dạng sợi HBs, 6 dải protein được tìm thấy có trọng lượng phân tử từ 24.000 đến 42.000 dalton. Tất cả các protein này cũng được nhuộm đặc biệt bằng phương pháp thẩm tách miễn dịch với một kháng thể chống thành phần protein P24 nhỏ nhất, cho thấy ít nhất có một biểu vị (epitope) của protein nhỏ nhất hiện diện trong các protein lớn hơn. Bốn protein chứa một oligosacarit gắn kết với một hoặc hai gốc asparagin (glycan gắn kết N). Các glycoprotein này di chuyển trong điện di như các phân tử hơi lớn hơn các thể không glycosyl hóa. Tẩy glycan bằng enzym cho thấy các sợi HBs chỉ chứa 3 polypeptit HBs khác nhau (hình 3-2):

1. Protein lớn nhất (LHBs) biến đổi P39 thành GP42 bằng glycosyl hóa một phần *in vivo.*
2. Một protein cỡ trung bình (MHBs) bị glycosyl hóa đơn hoặc kép ở GP33 hoặc GP36.

3. Một protein nhỏ (SHBs) bị glycosyl hóa như GP27 hoặc không glycosyl hóa như P24.

SHBs là thành phần nhiều nhất trong tất cả 3 hạt protein vỏ của HBV và MHBs ít nhất. LHBs thường thấy hơn MHBs trong virion và trong các sợi, nhưng ít gặp trong hạt hình cầu HBs. Thành phần LHBs có thể xác định hình thái của hạt HBs, trong khi thành phần SHBs và MHBs không làm thay đổi hình thái đáng kể.



***Hình 3-2**. Mô hình virut VG B hoàn chỉnh và các hạt HBsAg.*

Protein SHBs của vỏ ngoài virut tương tự với vùng S của MHBs và LHBs. MHBs chứa một vùng tiền S2 nhỏ ở phía ngoài. LHBs chứa một vùng tiền S gồm các chuỗi mã của tiền S2 ở trong và tiền S1 ở ngoài. Vỏ ngoài virut bao bên trong một capsit đối xứng gồm 240 tiểu đơn vị protein HBc. Các tiểu đơn vị HBc bao bộ gen HBV DNA dài 3,2 kb mà men primase (pr) của DNA polymerase (pol) được gắn kết đồng hóa trị. *Protein kinase C* và *protein sốc nhiệt hsc90* cũng được bao. Các dạng sợi cũng bao gồm các protein tương tự như vỏ ngoài virion. Các hạt cầu chứa ít LHBs. Vỏ ngoài virion và các hạt HBs chứa các lượng nhỏ lipit giữa các tiểu đơn vị protein có nguồn gốc từ lưới nội bào tương của tế bào chủ. Các vùng tiền S bên trong của LHBs kết hợp với protein sốc nhiệt *hsc70*.

2.2. CÁC PROTEIN LÕI

Bên trong vỏ ngoài là nucleocapsit có đường kính độ 27 nm, gồm khoảng 240 bản sao của protein lõi virut và có thể có một bản sao bộ gen duy nhất dài độ 3,2 kb. Virion tinh khiết có một protein P22 không glycosyl hóa, có thể bị phosphoryl hóa và tạo nên hạt lõi. Các hạt lõi trần ở gan cho thấy protein P22 tương tự trong điện di trên gel SDS. Các hạt lõi virut chứa DNA polymerase virut gắn kết đồng hóa trị vào mạch DNA trừ.

3. THÀNH PHẦN PROTEIN CỦA HBV CÓ NGUỒN GỐC KÝ CHỦ

Hiện nay chúng ta còn ít hiểu biết về các yếu tố tế bào chủ cần thiết cho sự lắp ráp HBV bao gồm việc bao bọc nucleocapsit phần bào tương bằng các protein vỏ ngoài virut xuyên màng và sau cùng nẩy chồi vào túi chứa dịch trong khoang (intraluminal cisternae). Ngoài các protein của HBV, một vài protein ký chủ đã được nhận dạng như các thành phần cấu trúc của virut. Trong đó có protein sốc nhiệt bao gồm nhiều loại chuyên biệt được tổng hợp khi đáp ứng với sốt, giảm oxy máu, hoặc các kích xúc khác. Ngoài ra còn có các protein đi kèm và protein kinase.

3.1. PROTEIN KINASE

Protein kinase nằm bên trong các hạt lõi, được nhận dạng như protein kinase C tế bào, phosphoryl hóa gốc serin bên trong phần tận cùng carboxy của protein lõi.

3.2. PROTEIN SỐC NHIỆT 70

Protein vỏ ngoài lớn (LHBs) là trung tâm của sự hình thành virut, thực hiện việc gắn kết thụ thể tế bào gan ở bên ngoài và vỏ capsit ở bên trong. Để thực hiện vai trò mâu thuẫn về mặt định vị này, việc bố trí vùng tiền S của nó bên ngoài và cả bên trong vỏ ngoài lipit của virion. Sự định vị hỗn hợp đạt được bởi sự chuyển vị tiền S sau dịch mã của khoảng phân nửa các phân tử protein L qua màng võng nội bào tương sau. Prange và cs đã xác định một chuỗi mã đặc hiệu tiền S gây ức chế chuyển vị đồng dịch mã. Chuỗi mã neo trong phần bào tương này gắn kết đặc hiệu với protein sốc nhiệt (hsc70, heat shock protein 70), bởi thế cho thấy đây là thành phần đi kèm góp phần vào sự hình thành HBV. DHBV gần đây đã được chứng minh có chứa một lượng nhỏ một protein sốc nhiệt trong dịch bào tương hsc70, có lẽ nằm ở mặt trong của vỏ ngoài.

3.3. PROTEIN ĐI KÈM CALNEXIN

Protein vỏ ngoài trung bình (MHBs) cần sự trợ giúp của một protein đi kèm calnexin giúp cho sự gấp lại và lưu thông dễ dàng. Calnexin gắn kết một cách chọn lọc vào N-glycan đặc hiệu cho MHBs hơn là cho N-glycan chung cho tất cả 3 protein vỏ ngoài. Khi ức chế tương tác calnexin-MHBs sẽ phong tỏa sự bài tiết vỏ ngoài virut, cho thấy vai trò chủ yếu của calnexin cũng như hsc70, là protein đi kèm trong sự lắp ráp HBV.

3.4. PROTEIN HSP90 VÀ PROTEIN ĐI KÈM P23

Protein hsp90 và một protein đi kèm p23 của nó cần cho hoạt động của DHBV polymerase. Phức hợp đi kèm hòa nhập vào nucleocapsit virut theo một phản ứng phụ thuộc polymerase. Căn cứ vào các sự kiện này, Hu và cs đề nghị một mô hình lắp ráp hepadnavirut và mẫn cảm khởi động sự tổng hợp DNA virut trung gian bởi phức hợp đi kèm nhiều thành phần bao gồm Hsp90, p23 và có thể còn các yếu tố khác duy trì men phiên mã ngược trong một hình thái có khả năng đóng gói RNA và khởi động sự tổng hợp DNA virut (protein đi kèm là các protein tế bào giúp các polypeptit khác tạo nếp chính xác và trong một vài trường hợp, các protein này lắp ráp thành các cấu trúc oligomer).

Liệu HBV người có chứa các protein sốc nhiệt tế bào tương tự như DHBV hay không hiện chưa được nghiên cứu. Ngoài ra, vài protein huyết thanh người có thể được tìm thấy trong các chế phẩm tinh khiết của các hạt HBs hay virions. Sự gắn kết albumin huyết thanh biến đổi vào HBV và HBsAg người đã được ghi nhận. Hơn nữa, các kháng thể đối với HBsAg (anti-HBs) có thể được sản xuất đồng thời với HBsAg ngay cả ở người mang virut huyết cao. Vì vậy, virion và các hạt HBs phân lập từ huyết thanh người mang virut thường chứa globulin miễn dịch. Ngoài ra, thành phần lipit có nguồn gốc từ nội bào tương của tế bào chủ cũng có mặt ở vỏ ngoài HBV (HBsAg).

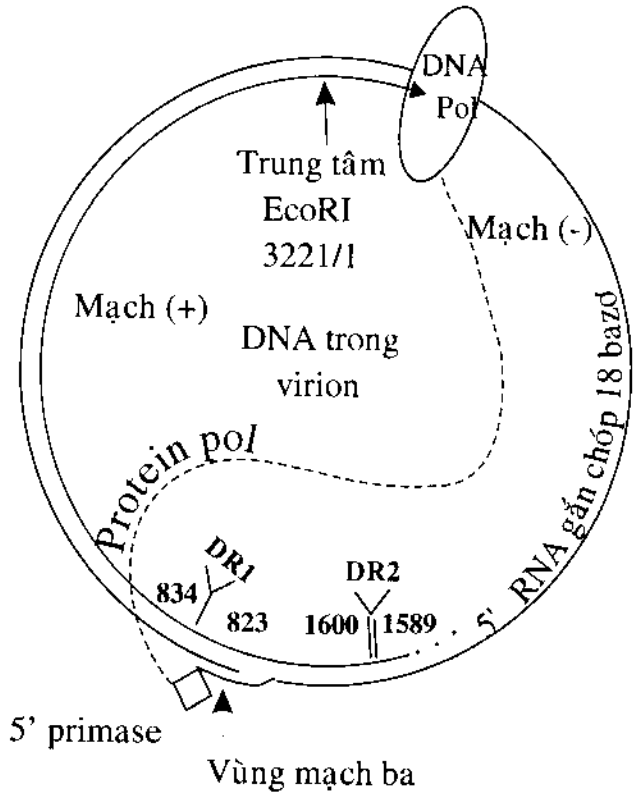
4. BỘ GEN HBV

4.1. DNA PLYMERASE NỘI SINH CỦA HBV

Bộ gen HBV có DNA polymerase nội sinh trong các viên kết siêu ly tâm từ huyết thanh người chứa HBV. Phản ứng phụ thuộc vào tất cả 4 desoxynucleotit triphosphat và các cation hai hóa trị, nhưng không cần các đoạn mồi hoặc khuôn mẫu nào. Phản ứng có thể bị ức chế bằng actinomycin D, vì chen vào giữa các DNA khuôn. Enzym có thể kết tủa với kháng thể kháng HBc nếu màng bao HBs bị hủy khi xử lý với chất tẩy không ion. DNA khuôn không được tiếp cận DNase trừ khi protein lõi bị phân giải bởi SDS hoặc bị tiêu hóa bởi proteinase. Sự tồn tại và các đặc điểm của DNA polymerase nội sinh cho thấy virut chứa một bộ gen DNA.

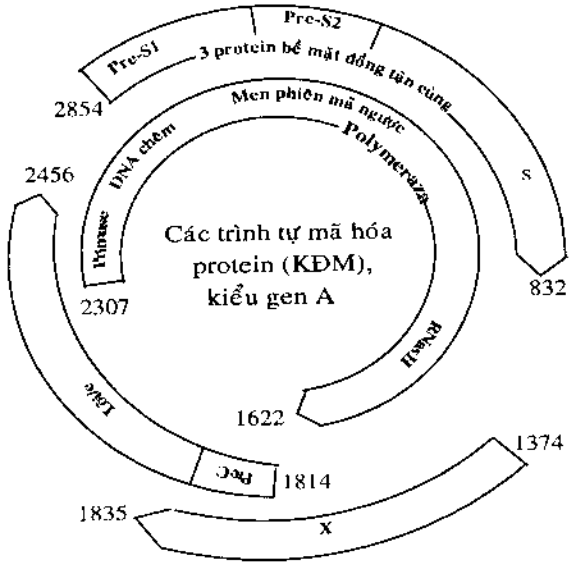
4.2. CẤU TRÚC CỦA DNA VIRION

Dưới kính hiển vi điện tử, HBV DNA hình vòng, mạch kép không hoàn chỉnh và dài khoảng 3181-3221 bazơ. Phản ứng DNA polymerase nội sinh có thể do một trong hai mạch DNA chưa hoàn chỉnh. Trong thực nghiệm, phần trống còn lại được lấp đầy bởi DNA polymerase virut nếu dNTP được thêm vào. *In vivo*, các hạt HBV rõ ràng được tiết ra từ tế bào nhiễm virut trước khi mạch kép được hoàn thành. Như thế, mạch cộng chưa hoàn chỉnh có một đầu tận 5' xác định nhưng một đầu tận 3' thay đổi (hình 3-3, 3-4, 3-5).



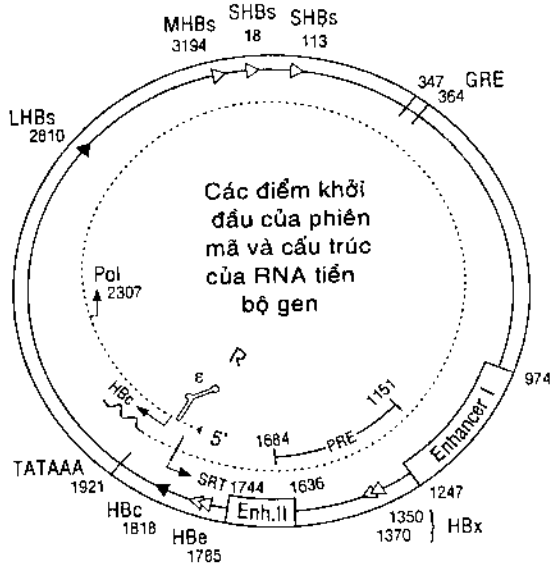
Hình 3-3. *Cấu trúc vật lý của HBV.*

Các bộ gen HBV hoàn chỉnh có hình vòng. Hình bên là một mẫu bộ gen HBV kiểu A. Việc đánh số bắt đầu ở một điểm phân cắt của EcoRI. Bên trong virion, mạch DNA mã hoá protein virut (mạch trừ) có chiều dài nguyên vẹn nhưng không đóng đồng hóa trị. Có một phần dư nhỏ từ 9 đến 10 bazơ tại đầu tận. DNA mạch trừ mang tại đầu tận 5' phần gắn kết đồng hóa trị của polymerase virut được gọi là protein tận cùng hoặc primase, vì cần thiết khởi động cho sự tổng hợp mạch trừ. Mạch cộng giữ mạch trừ trong cấu hình vòng vì nó tạo cầu nối cho những đoạn không liên tục của mạch trừ. Đầu tận 3' của mạch cộng không ở một vị trí cố định và còn nối với HBV DNA polymerase. Đa số các bộ gen HBV chứa một lỗ hổng mạch đơn có chiều dài từ 300 đến 2.000 bazơ.



Hình 3-4. *Các KĐM của HBV.*

Các KĐM minh họa ở đây được xác định bằng codon khởi đầu tổng hợp protein đầu tiên và codon kết thúc đầu tiên. Một số codon khởi đầu nằm trong khung đọc (in-frame) cũng được minh họa. KĐM dài nhất có 4 vùng kế tiếp nhau mã hóa polymerase của HBV. KĐM không bảo tồn hoặc KĐM có chức năng chưa rõ không mô tả ở đây.



Hình 3-5. *Sự phiên mã của cccHBV DNA thành HBV RNA pregenom.*

Sự phiên mã của cccHBV DNA được điều khiển bởi các gen tăng cường I và II, các phần tử đáp ứng glucocorticoit (GRE= glucocorticoid response elements) và các gen khởi đầu trên dòng của điểm khởi đầu mRNA. Các điểm khởi đầu tổng hợp mRNA cho các protein HBV khác nhau trong tế bào gan được minh họa bằng các hình tam giác. Các điểm khởi đầu được sử dụng hiệu quả trong các tế bào khác (không phải tế bào gan), được minh họa bằng các tam giác trống. Tín hiệu kết thúc thường gặp đối với tất cả mRNA là hộp TATAAA tại bazơ 1921. HBV RNA pregenom được minh họa bằng các đường chấm, có một R dư tận cùng. Tại R đầu tận 5' có chuỗi mã tín hiệu tạo vỏ ε. Một chuỗi mã ngắn bên trong R đầu tận 3' là tín hiệu phiên mã ngược (SRT=signal for reverse transcription) nơi mà phức hợp đoạn mồi được chuyển đến. Pregenom bị polyadenyl hóa (dạng sóng), mã hóa protein HBc và pol. Trên pregenom có điểm khởi đầu protein HBc và polymarase (⌟) và phần tử điều hòa sau phiên mã (PRE= post-transcriptional regulatory element).

Mạch âm đầy đủ có các đầu tận 5' và 3' xác định với một phần dư tận cùng gồm 9 bazơ, trong vùng mà ở đó bộ gen có mạch ba. Polymerase virut nối đồng hóa trị vào tyrosin 63 qua một cầu phosphođieste vào đầu 5' của mạch âm.

Đầu tận 5' của mạch DNA(+) được tạo bởi một oligoribonucleotit chiều dài 18 bazơ, được gắn chóp theo cùng một cách như RNA truyền tin (mRNA). Bộ gen chứa 2 chuỗi mã 10 hoặc 11 bazơ được lặp lại một cách trực tiếp, được gọi là các chuỗi mã lập lại trực tiếp, DR1 và DR2. Cấu trúc bộ gen này là điển hình cho tất cả *Hepadnaviridae*, nhưng trong các hepadnavirut gia cầm, sự gối lên nhau và khoảng cách giữa các đoạn lặp lại (DR) ngắn hơn.

Cấu trúc của bộ gen hepadnavirut không theo các tiêu chuẩn xếp loại thông thường của virut trong nhiều khía cạnh: Cấu trúc bộ gen có cả DNA và RNA và bộ gen chứa DNA mạch đơn, mạch kép và ngay cả mạch ba không hoàn chỉnh. Các đặc trưng bất thường này là do hậu quả trực tiếp của cơ chế sao chép của chúng.

4.3. NHÂN DÒNG HBV DNA

Trước khi ra đời phương pháp nhân dòng DNA trong những năm 1970, chỉ có một lượng nhỏ DNA virion được đưa vào sử dụng. Các mẫu này được dùng để phân cắt với một enzym hạn chế (thường là EcoRI) và DNA được gắn vào DNA plasmit. DNA tái tổ hợp được đưa vào *Escherichia coli* và các dòng vi khuẩn mang các phân tử HBV DNA xen đoạn được nhận dạng và nhân lên. Nhờ đó, HBV DNA đã được tạo ra với một số lượng không hạn chế.

Trong quá trình sao chép của DNA tái tổ hợp bên trong vi khuẩn, tất cả các đặc điểm bất thường của HBV DNA được lấy ra bằng các enzym vi khuẩn để sửa chữa

DNA. Nhờ đó, các vòng DNA đóng đồng hóa trị (cccDNA) của plasmit tái tổ hợp thu được từ vi khuẩn. Từ các plasmit này, HBV DNA hoặc các phân đoạn đã xác định có thể được phát hiện bằng cách phân cắt với enzym đặc thù thích hợp. Các phân đoạn được dùng để xác định toàn bộ chuỗi mã DNA và gần như tất cả nghiên cứu về bộ gen HBV được thực hiện sau đó bằng cách dùng DNA được nhân dòng. Ngày nay, các phân đoạn của HBV DNA hoặc ngay cả toàn bộ bộ gen HBV có khả năng sao chép cũng có thể được nhân lên bằng phản ứng chuỗi polymerase (PCR).

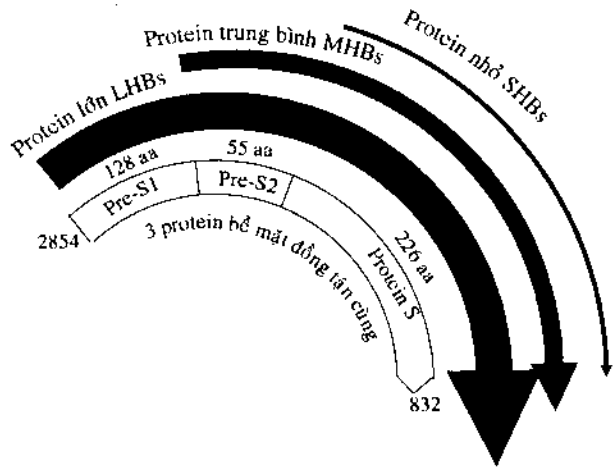
4.4. ĐỊNH NGHĨA CÁC KHUNG ĐỌC MỞ

Từ chuỗi mã nucleotit của một phiên bản mạch kép của bộ gen HBV, người ta có thể nhận được 6 chuỗi mã khác nhau của bộ ba mã hóa aa của nucleotit (cođon). Nếu một chuỗi mã của các cođon không mã hóa protein, nó sẽ bị cắt đứt một cách ngẫu nhiên bởi một trong ba cođon kết thúc, trong khi các chuỗi mã mã hóa protein thường không có cođon kết thúc trong một khoảng ít nhất 50 cođon. Các quãng cođon này được gọi là khung đọc mở (KĐM). Sinh tổng hợp protein cần thêm một cođon khởi đầu (AUG) ở mRNA. Áp dụng các quy tắc này, tất cả bộ gen của hepadnavirut loài có vú chứa 4 KĐM, được mã hóa bởi cùng một mạch DNA. Sự phân cực của các mạch axit nucleic virut được xác định theo một kiểu mà mRNA có cực tính dương. Thế nên, mạch DNA mã hóa protein của bộ gen HBV, được phiên mã thành mRNA, có cực tính âm. Các KĐM phụ có thể được xác định cả trên mạch âm và mạch dương, nhưng chúng không được bảo tồn và có lẽ ít quan trọng, hoặc sinh ra bởi các biến dị chuỗi mã.

4.5. CẤU TRÚC BỘ GEN CỦA HBV

Hầu hết KĐM chức năng của tổ chức tế bào cũng như các KĐM từ các virut lớn hơn, được xếp theo kiểu đường thẳng trên bộ gen và mã hóa một protein. Hơn nữa, chúng nằm rải rác cạnh các vùng rộng không mã hóa được gọi là intron (vùng nội, vùng không mã hóa), bị loại bỏ sau khi phiên mã bởi hiện tượng ghép nối. Các vùng điều hòa và mã hóa protein thường khá phân tán. Tuy nhiên, bộ gen hepadnavirut có chiều dài tối thiểu. Thật vậy, bộ gen không dài hơn KĐM P dài nhất của nó, đó là KĐM mã hóa DNA polymerase virut và các chức năng phụ. KĐM S nằm hoàn toàn trong phạm vi KĐM P. KĐM C và X gối lên KĐM P một phần. Hơn nữa, HBV mã hóa nhiều hơn một protein từ một KĐM bằng cách dùng các cođon AUG bên trong khung đọc (in-frame) có chức năng như các điểm khởi đầu phụ cho sự sinh tổng hợp protein. Bởi thế, các protein lồng vào nhau với các đầu tận amino khác nhau và một đầu tận cacboxy chung được tổng hợp. KĐM S mã hóa 3 protein HBs có chung một đầu tận cùng. KĐM C mã hóa cho cả 2 protein, HBe và HBc (hình 3-6). KĐM X cũng có thể mã hóa hơn một protein. Hơn nữa, nhiều thành phần di truyền điều hòa

phiên mã DNA virut thành RNA, quá trình hình thành RNA và dịch mã thành protein xảy ra bên trong các vùng mã hóa.



Hình 3-6. *Ba vùng của gen S (S, tiền S1 và tiền S2) và các protein được gen này mã hóa.*

Nếu quá trình đọc mã bắt đầu từ vùng tiền S1 và tiếp tục đến hết vùng S sẽ tổng hợp protein LHBs. Cũng thế, sự tổng hợp protein M và protein S lần lượt bắt đầu từ vùng tiền S2 và S. Cả ba protein cấu tạo nên HBsAg.

Bộ gen HBV hoàn chỉnh có chiều dài khoảng 3.182-3.221 bazơ. Trong đa số công trình, việc đánh số các bazơ bắt đầu tại điểm phân cắt đối với enzym hạn chế EcoRI hoặc tại các điểm tương tự nếu một kiểu bộ gen đặc biệt không có điểm EcoRI (EcoRI= E, loài Escherichia; co, giống coli; R, chủng RY 13; I, enzyme được tách đầu tiên). Các sự đánh số khác (Thí dụ: bắt đầu tại codon khởi đầu AUG cho sự tổng hợp protein HBc hoặc bazơ đầu tiên của pregenom RNA) cũng được dùng.

5. PROTEIN VỎ HBs

5.1. SHBs

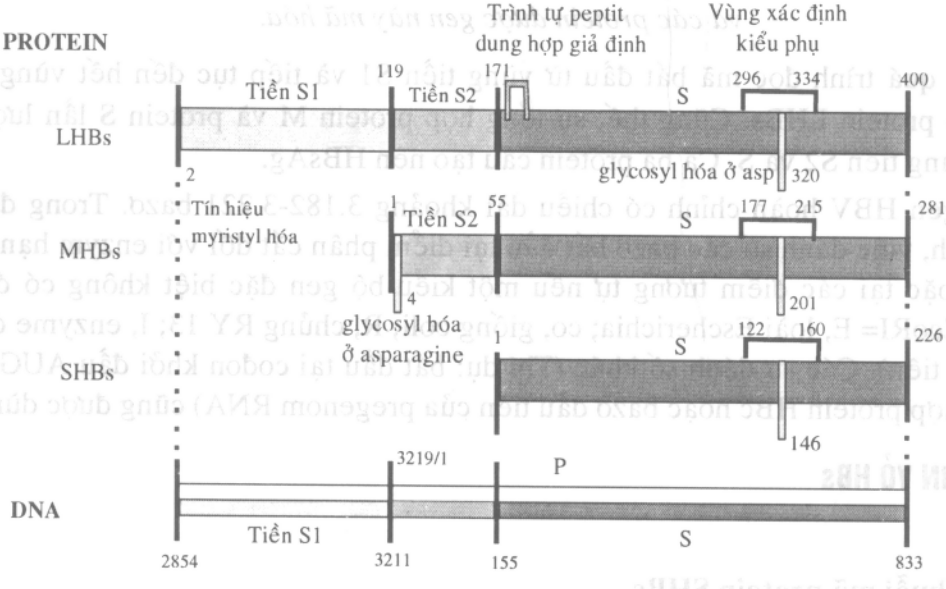
5.1.1. Chuỗi mã protein SHBs

Chuỗi mã aa của SHBs tại các đầu tận amino và carboxy đã được xác định bằng phương pháp sinh hóa. Các chuỗi mã bên trong KĐM có thể chỉ được phân tích một phần bằng phương pháp này. Tuy nhiên, cùng với chuỗi mã protein được dự đoán bằng chuỗi mã nucleotit, chuỗi mã của SHBs rõ ràng bắt đầu tại AUG bảo tồn thứ ba của KĐM S và tận cùng tại codon kết thúc của KĐM S. Chức năng của đầu tận 5' của KĐM S chưa được biết và được gọi là vùng tiền S, đơn giản để chỉ vị trí của nó trên dòng với gen S. Điều cần ghi nhận là protein chứa chuỗi mã tiền S không phải là tiền chất của SHBs (hình 3-7).

Protein nhỏ (SHBs) chỉ chứa vùng S, trước đây được xem như là kháng nguyên Au, rất kỵ nước, có thể bị glycosyl hóa ở asp 146, hai dạng có và không glycosyl đều hiện diện ở người mang HBV mạn, chứa một biểu vị có tính kháng nguyên cao, phân tích biểu vị có thể xác định kiểu phụ HBV ở người mang. Quyết định *d* có lysin ở gốc 122 trong khi *y* có arginin. Tương tự, quyết định *w* có một lysin ở gốc 160 trong khi *r* có arginin.

Protein trung bình (MHBs) chứa thêm 55 aa được biết là vùng tiền S2. Vùng này rất ưa nước và có vẻ ở ngoài tế bào. Vùng tiền S2 cũng chứa một điểm glycosyl hóa phụ ở asp4, luôn luôn bị glycosyl hóa, trong khi điểm glycosyl hóa ở vùng S chỉ thỉnh thoảng xảy ra, khiến cho protein này có dạng glycosyl hóa hoàn toàn hoặc từng phần. Protein này có thể liên quan đến việc gắn kết HBV và đi vào gan.

Protein lớn (LHBs), lớn nhất, chứa cả 3 vùng S, tiền S1 và tiền S2. Chuỗi mã của vùng tiền S1 ở người nhiễm HBV rất biến đổi, có lẽ đây là protein gắn vào gan. Tiền S1 không có điểm glycosyl hóa phụ, nhưng có chứa một tính hiệu myristyl hóa ở đầu tận N, neo đầu tận N vào màng.



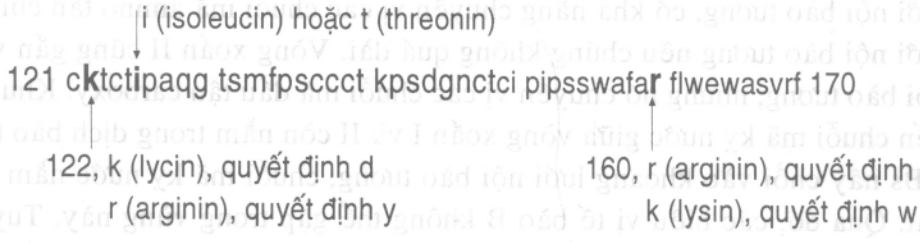
***Hình 3-7.** Các protein bề mặt*

SHBs giàu aa kỵ nước. SHBs có nhiều tryptophan nhưng ít tyrosin và vì thế SHBs có một phổ hấp thụ tia cực tím giống với tryptophan, không giống phần lớn các protein khác. Hơn nữa, SHBs chứa một số lượng rất cao 14 cystein, liên kết chéo với nhau. Tại asparagin 146, có một tín hiệu phụ của glycan gắn kết với đầu tận N, có trong khoảng phân nửa các phân tử. Glycan này có 2 râu phức tạp có axit sialic tận cùng. Trong điện di trên gel SDS, SHBs không thuần nhất về vi thể, khá điển hình ở người mang virut. Nguồn gốc của tính không thuần nhất vi thể chưa được rõ.

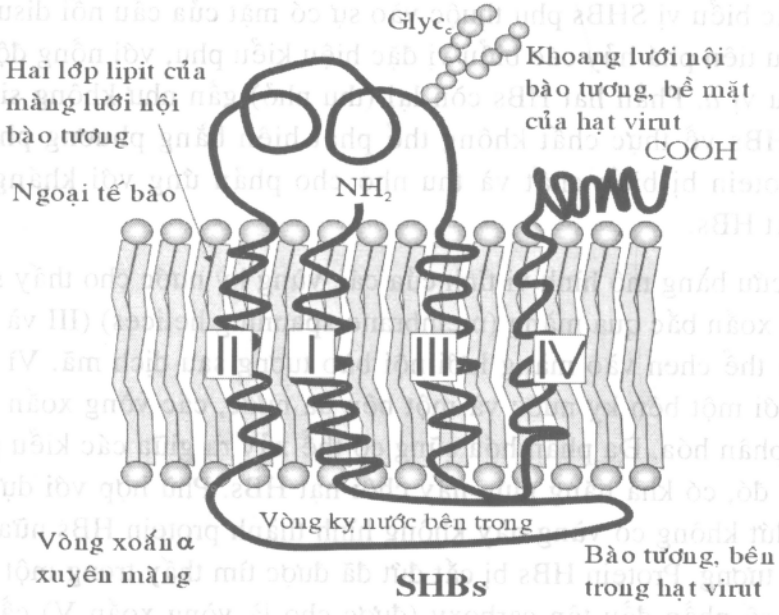
5.1.2. Các kiểu SHBs phụ

SHBs có các kiểu phụ ổn định đã được xác định bằng các kháng thể. Tính phản ứng kháng nguyên ở tất cả các chủng phân lập HBs đã biết được xem là quyết định *a*. Các quyết định kiểu phụ được biết rõ nhất là *d* hoặc *y* và *w* hoặc *r*. Tại vị trí 122, quyết định *d* có một lyxin, *y* có một arginin. Cũng thế, tại vị trí 160, quyết định *w* có một lyxin, *r* có một arginin.

Hơn nữa, w lại phân chia thành w1 đến w4. Gần đây, một alen kiểu phụ khác đã được xác định có isoleuxin hoặc threoxin ở vị trí 126 của SHBs. Gần đây, xác định kiểu phụ đã được thực hiện bằng cách xác định chuỗi mã DNA của gen SHBs. Ít nhất 7 kiểu gen xếp từ A đến G, khác biệt hơn 8% trong chuỗi mã protein. Vì tất cả kiểu phụ SHBs có thể bảo vệ chéo sau tiêm chủng, việc xác định kiểu phụ chỉ có ích lợi dịch tễ. Tuy cũng có một vài kháng thể trung hòa có tính đặc hiệu kiểu phụ, như đa số các virut khác.



Hình 3-8. *Một đoạn chuỗi mã SHBs (của kiểu phụ adr) cho thấy các quyết định kiểu phụ d không thể đi chung với y tại aa 122 và r không thể đi chung với w tại aa 160.*



Hình 3-9*. Cấu trúc của SHBs.*

Hai lớp lipit của màng lưới nội bào tương được biểu thị bằng ký hiệu phân tử lipit. Ở trên cùng là khoang lưới nội bào tương hoặc bề mặt virut sau khi đa phân hóa và protein HBs nẩy chồi. Phía dưới là dịch bào tương hoặc phần bên trong virut. Màng lưới nội bào tương bị xuyên qua 4 nhưng có lẽ 5 lần bởi các vòng xoắn α kỵ nước của vùng S. Cấu trúc SHBs gồm một glycosit hai râu phức hợp ($glyc_c$) có ở GP27 nhưng không có ở P24. Các biểu vị HBs sinh ra do tạo nếp phức hợp của vòng ưa nước bên ngoài giữa α II và III và được ổn định bởi các nối cystin. Đầu tận amino được dấu trong phân tử.

5.1.3. Cấu trúc của SHBs

Hạt cầu HBs có từ 50% đến 60% chuỗi polypeptit được gấp thành các vòng xoắn α (α-helices). Chương trình vi tính mô hình hóa cấu trúc thứ cấp của protein dự đoán các vòng xoắn α này được tạo bởi 4 hoặc 5 quãng SHBs kỵ nước (hình 3-8). Các nghiên cứu sinh tổng hợp cho thấy vòng xoắn α I được gắn đồng dịch mã vào màng lưới nội bào tương, có khả năng chuyển vị các chuỗi mã amino tận cùng vào khoang lưới nội bào tương nếu chúng không quá dài. Vòng xoắn II cũng gắn vào màng lưới nội bào tương, nhưng nó chuyển vị các chuỗi mã đầu tận carboxy. Khu vực liên quan đến chuỗi mã kỵ nước giữa vòng xoắn I và II còn nằm trong dịch bào tương. Sau khi HBs nẩy chồi vào khoang lưới nội bào tương, chuỗi mã kỵ nước nằm bên trong các hạt. Qua đó, các biểu vị tế bào B không thể gặp trong vùng này. Tuy nhiên, chuỗi mã từ aa 99 đến 168 được biểu hiện ở bề mặt của hạt và tạo nên vùng kháng nguyên HBs.

Đa số các biểu vị SHBs phụ thuộc vào sự có mặt của cầu nối disulfit. Xử lý với DTT nhẹ đầu tiên phá hủy các biểu vị đặc hiệu kiểu phụ, với nồng độ cao hơn, phá hủy các biểu vị *a*. Phần hạt HBs còn lại (thu nhỏ) gần như không sinh miễn dịch. Thế nên, SHBs về thực chất không thể phát hiện bằng phương pháp miễn dịch thấm khi protein bị biến chất và thu nhỏ cho phản ứng với kháng huyết thanh chống lại hạt HBs.

Nghiên cứu bằng mô hình vi tính của các vùng kỵ nước cho thấy sự tạo thành 2 hoặc 3 vòng xoắn bắc qua màng (membrane-spanning helices) (III và IV), các vòng xoắn này có thể chen vào màng lưới nội bào tương sau dịch mã. Vì tính phân cực của chúng với một bên kỵ nước và một bên ưa nước, các vòng xoắn được dự đoán dùng để đa phân hóa. Đa phân hóa cũng có thể xảy ra giữa các kiểu phụ HBs khác nhau và qua đó, có khả năng giúp nẩy chồi hạt HBs. Phù hợp với dự đoán, protein HBs bị cắt đứt không có vùng này không hình thành protein HBs nữa, nhưng còn ở lưới nội bào tương. Protein HBs bị cắt đứt đã được tìm thấy trong một số tế bào ung thư gan. Đa số phần đầu tận carboxy (được cho là vòng xoắn V) cần cho sự hình thành hạt HBs.

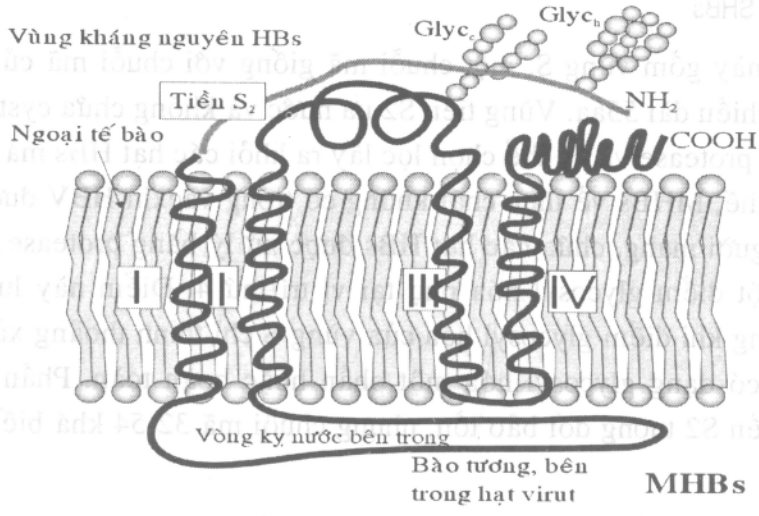
5.2. CẤU TRÚC CỦA SHBs

Thành phần này gồm vùng S, một chuỗi mã giống với chuỗi mã của SHBs và vùng tiền S2 có chiều dài 55aa. Vùng tiền S2 ưa nước và không chứa cystein. MHBs rất nhạy cảm với protease và có thể chọn lọc lấy ra khỏi các hạt HBs mà không hủy hoại vùng S. Vì thế, MHBs về thực chất không có trong vacxin HBV được bào chế từ huyết tương người mang, chứa các hạt HBs được xử lý bằng protease. Vùng tiền S2 cũng chứa một điểm glycosyl hóa phụ tại vị trí thứ 4. Điểm này luôn luôn bị glycosyl hóa, trong khi điểm glycosyl hóa của vùng S chỉ thỉnh thoảng xảy ra khiến cho protein này có dạng glycosyl hóa một phần hoặc hoàn toàn. Phần amino tận cùng của vùng tiền S2 tương đối bảo tồn, nhưng chuỗi mã 32-54 khá biến đổi (hình 3-10).

Vùng tiền S2 định vị ở bề mặt và bao phủ một phần vùng S của MHBs. Ở chuột, vùng tiền S2 sinh miễn dịch có phần nhiều hơn kháng nguyên SHBs. Hơn nữa, các biểu vị không phụ thuộc hình dáng và có thể được tạo ra dễ dàng bởi các peptit tổng hợp, khác với SHBsAg. Các peptit có chuỗi mã của phân nửa đầu tận amino tiền S2 được thấy gây miễn dịch bảo vệ. Các hạt HBs chứa tiền S2 lấy từ tế bào buồng trứng của chuột túi má (hamster) Trung Quốc (CHO) chuyển nhiễm HBV đã được một số nước dùng làm vacxin.

Phần trung tâm của vùng tiền S2 (aa 7-20), cũng tạo thành biểu vị chính, gắn với một thể albumin huyết thanh biến đổi. *In vivo*, độ 1/10.000 phân tử albumin huyết thanh có khả năng gắn vào tiền S2. Người mang HBV với hơn 10 μg HBsAg/ml thường có các biểu vị không gắn albumin do không đủ, trong khi với nồng độ HBsAg thấp hơn, tất cả điểm gắn đều bị chiếm do số lượng ít. Bản chất của sự biến đổi albumin chưa được biết rõ, nhưng có thể bắt chước bằng gắn kết chéo của albumin với glutaraldehyde. Albumin huyết thanh không phải của loài linh trưởng thì không gắn được.

Một vài tác giả đã đề nghị protein này liên quan trong việc gắn HBV và đi vào tế bào gan. Tuy nhiên, trong một nghiên cứu phân tích di truyền của HBV ở BN VG kịch phát, codon khởi đầu tiền S2 mang một đột biến kép ngăn chặn biểu hiện của protein tương ứng, mà vẫn gây VG. Như thế, tiền S2 có vẻ không cần cho tính gây nhiễm HBV hoặc tạo thành hình thái hạt virut. Điều này có khả năng loại MHBs khỏi nhóm protein gắn kết HBV, tuy MHBs có thể góp phần vào việc gắn kết virut như một cơ chế thứ nhì.



***Hình 3-10.** Cấu trúc của MHBs.*

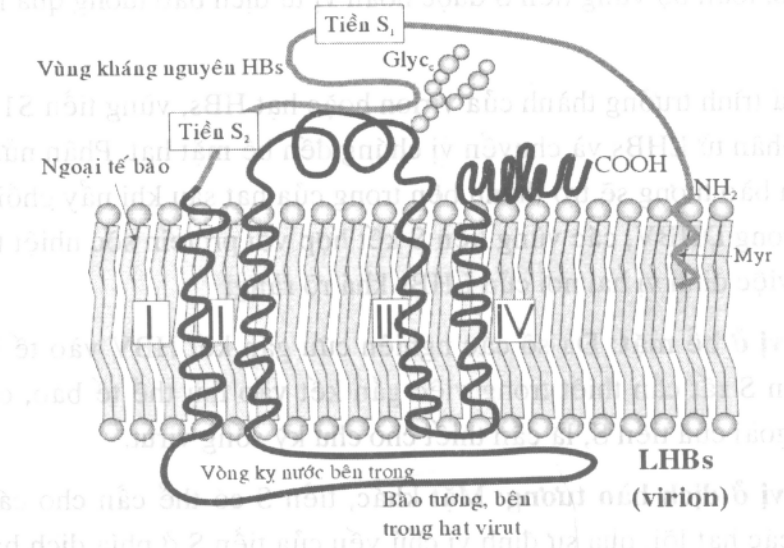
Các vòng xoắn α xuyên màng của vùng S bị thay đổi nhẹ trong đó đầu tận amino dễ tiếp cận hơn và vòng ưa nước thường ít bị glycosyl hóa. Vùng tiền S2 mang một glycosit kiểu lai ($glyc_h$).

5.3. CẤU TRÚC CỦA LHBs

Protein HBs lớn nhất chứa 2 vùng: tiền S (gồm tiền S1 và tiền S2) và S. Ở virion hoàn chỉnh hoặc các hạt HBs, các vùng tiền S có thể tiếp cận với kháng thể, thụ thể và protease. Vùng S và tiền S2 được che dấu bởi chuỗi mã tiền S1 của LHBs. Trong quá trình sinh tổng hợp, toàn bộ vùng tiền S của LHBs lúc đầu nằm ở dịch bào tương. Bởi thế, asparagin 4 của tiền S2 không glycosyl hóa ở LHBs, do biến đổi này chỉ xảy ra bằng cách đồng dịch mã trong lòng của lưới nội bào tương. Đầu tận amino của tiền S mang chuỗi mã methionin-glyxin, cùng với các aa lân cận khác chưa được xác định, có chức năng một tín hiệu cho sự thay thế methionin bằng axit myristic axit béo C_{14}. Hiện tượng myristyl hóa không cần thiết trong sự hình thành virion, nhưng thiết yếu cho tính gây nhiễm của HBV hoặc DHBV (hình 3-11, 3-12) bằng cách bám vào màng tế bào.

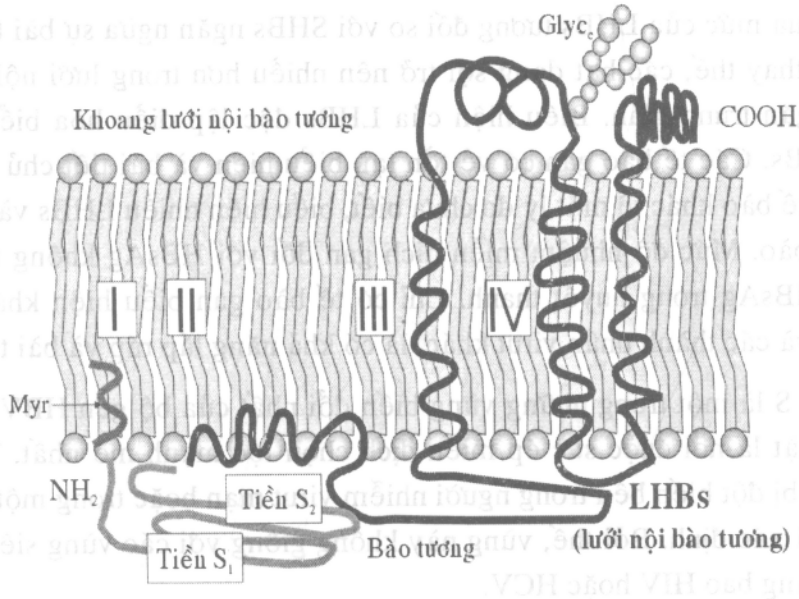
LHBs có hai kiểu tạo nếp khác nhau: một số LHBs định vị trên bề mặt tế bào và các virion trưởng thành, trong khi LHBs còn lại tìm thấy trên bề mặt của lưới nội bào tương. Các kiểu tạo nếp dự đoán dựa trên các nghiên cứu protease và kháng thể. Trong virut VG B vịt, LHBsAg cũng đã được chứng minh có một định vị kép. Các vùng tiền S1 và tiền S2 có vẻ còn trong bào tương khi LHBsAg ở trong lưới nội bào tương. Cũng thế, vùng tiền S2 chưa bị glycosyl hóa trong khi vùng tiền S1 bị myristyl hóa. Khi nào, nơi nào và tại sao các vùng tiền S được chuyển vị xuyên qua màng hiện chưa được biết rõ. Tuy nhiên, một mô hình đã được đề nghị ở virut VG B vịt.

Mô hình này dự đoán các vùng tiền S được chuyển vị qua một lỗ riêng có nước ở trong vỏ ngoài virut. Lỗ này có khả năng tạo nên do sự thiếu hợp của các vùng vắt xuyên màng trong vùng S.



***Hình 3-11.** Cấu trúc của LHBs trong virion.*

Cấu trúc gần tương tự với MHBs, nhưng vùng tiền S2 không bị glycosyl hoá. Vùng tiền S1 phủ một phần vùng tiền S2 và được gắn kết tại glyxin 2 với axit myristic (myr). Vị trí của Myr hiện chưa xác định được.



***Hình 3-12.** Cấu trúc LHBs ban đầu sau khi tổng hợp trong lưới nội bào tương.*

Ở giai đoạn đầu tạo nếp LHBs, toàn bộ vùng tiền S nằm trong dịch bào tương. Cấu trúc được đề nghị theo giản đồ minh họa ở hình 3-11, nhưng sự tạo nếp thật sự của vùng tiền S bào tương chưa được biết rõ. Khi sợi HBs trưởng thành, độ 50% phân tử LHBs, toàn bộ vùng tiền S được hoán vị từ dịch bào tương qua màng hạt đến bề mặt.

Trong quá trình trưởng thành của virion hoặc hạt HBs, vùng tiền S1 tái định hình độ 50% các phân tử LHBs và chuyển vị chúng đến bề mặt hạt. Phân nửa vùng tiền S còn lại ở dịch bào tương sẽ trở thành bên trong của hạt sau khi nẩy chồi vào lưới nội bào tương. Trong DHBV, các vùng tiền S kết hợp với protein sốc nhiệt tế bào hsc70. Ý nghĩa của việc định vị hai nơi của LHBs khá rõ ràng:

- **Định vị ở bề mặt**: Đa số các nghiên cứu gắn kết HBV vào tế bào đích cho thấy vùng tiền S rất cần thiết trong việc gắn kết vào thụ thể tế bào, cho thấy việc định vị bên ngoài của tiền S, là cần thiết cho chu kỳ sống virut.

- **Định vị ở dịch bào tương**: Mặt khác, tiền S có thể cần cho các protein bề mặt bao bọc các hạt lõi, qua sự định vị chủ yếu của tiền S ở phía dịch bào tương của protein bề mặt. Đặt chuỗi mã tiền S1 vào một peptit tín hiệu bài tiết sẽ tạo nên các hạt chứa LHBs bài tiết nhưng các hạt lõi không được bao bọc. Phân tích các đột biến mất đoạn cho thấy chỉ có chuỗi mã 108 gần tiền S là cần thiết. Các chuỗi mã tiền S ngắn hơn được hoán vị như trong MHBs và vì thế không thể dùng để tương tác với các hạt lõi.

Sự tăng quá mức của LHBs tương đối so với SHBs ngăn ngừa sự bài tiết của các hạt HBs. Để thay thế, các hạt dạng sợi trở nên nhiều hơn trong lưới nội bào tương hoặc trong ngăn trung gian. Biểu hiện của LHBs độc lập điều hòa biểu hiện của MHBs và SHBs. Các tế bào gan có vẻ tồn tại, biểu hiện và bài tiết chủ yếu SHBs, trong khi các tế bào khác vì một lý do chưa biết, biểu hiện nhiều LHBs và tích trữ nó bên trong tế bào. Mức độ nhuộm miễn dịch gan đối với HBsAg không tương quan với mức độ HBsAg trong huyết thanh. Chỉ có tế bào gan biểu hiện khá cân bằng LHBs, SHBs và các thành phần virut khác, là có khả năng lắp ráp và bài tiết virion.

Vùng tiền S là một trong những vùng biến đổi nhất của bộ gen HBV, có thể do cấu trúc bề mặt là nơi được sức ép miễn dịch chọn lọc mạnh mẽ nhất. Tuy nhiên, tiền S1 không bị đột biến bên trong người nhiễm virut mạn hoặc trong một chuỗi gây nhiễm virut đã xác định. Bởi thế, vùng này không giống với các vùng siêu biến của các protein màng bao HIV hoặc HCV.

6. CÁC PROTEIN LÕI HBc

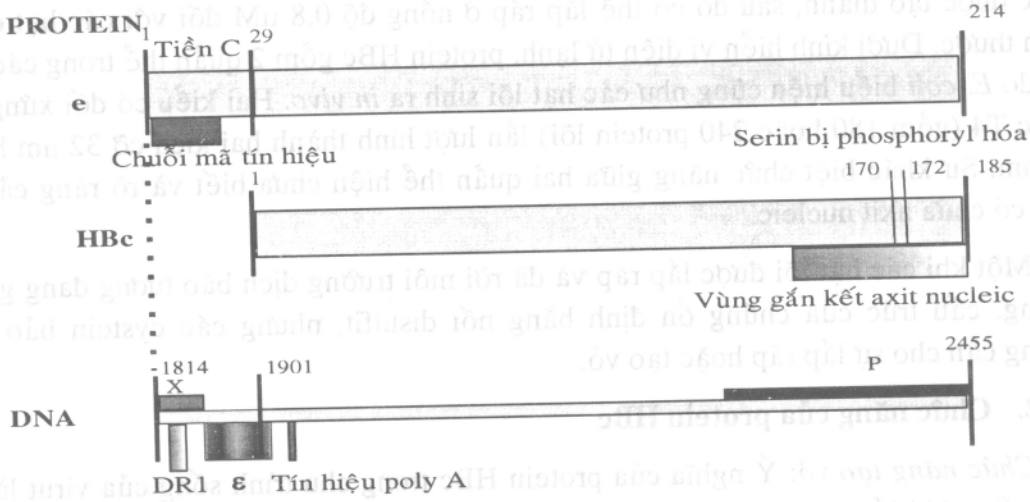
6.1. SẢN XUẤT KĐM C

Sản phẩm chủ yếu của KĐM C là protein HBc gồm 183 hoặc 185 aa (xem phụ lục), tùy thuộc vào kiểu gen của virut. Trong đa số các thể phân lập từ những người mang virut huyết cao, KĐM C có 212 hoặc 214 codon, nhưng sự dịch mã của protein HBc chỉ bắt đầu tại codon AUG 29 dưới dòng của AUG đầu tiên. Vùng trên dòng được gọi pre-C vì lý do lịch sử. Pre-C là tên dùng sai, vì sản phẩm KĐM C toàn phần không phải là tiền chất của protein HBc mà là dạng bài tiết của protein lõi, được gọi là protein HBe (hình 3-13).

6.2. PROTEIN HBC

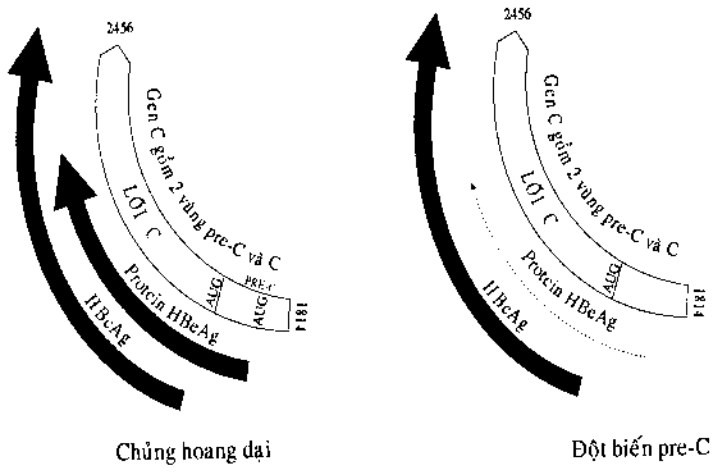
6.2.1. Cấu trúc HBc

Capsit của HBV được tạo thành bởi 240 bản sao của một protein lớn được gọi là protein HBc. Protein HBc chứa nhiều aa ưa nước và mang điện tích. Protein HBc không chứa lipit hoặc glycan, nhưng nếu biểu hiện trong tế bào nhân thực (eukaryotic), nó sẽ bị phosphoryl hóa. Là một protein được tổng hợp trong dịch bào tương tạo thành một dimer ổn định khi còn ở nồng độ thấp. Với nồng độ cao hơn, các dimer này tự lắp ráp để tạo thành nucleocapsit. Trong một bước thiết yếu của chu trình sống virut, protein HBc đóng gói pregenom HBV mRNA và polymerase virut sau khi tạo thành phức hợp RNA-polymerase và lắp ráp thành các hạt lõi. Một protein kinase tế bào cũng được đóng gói. Tuy nhiên, nếu protein lõi được biểu hiện mà không có các thành phần này, nucleocapsit vẫn được tạo thành, nhưng chúng chứa một hỗn hợp mRNA tế bào khá tùy tiện. Sau đó các hạt này được bao bằng các mảnh của màng lưới nội bào tương, chứa 3 protein HBs.



Hình 3-13. Các protein HBcAg và HBeAg.

Protein HBc được biểu hiện trong vi khuẩn như *E. coli* đóng gói RNA theo một kiểu không đặc hiệu. Khả năng lắp ráp thành các hạt nằm ở 147 aa đầu tiên, trong khi 4 cụm arginin 36 hoặc 38 aa cuối cùng liên quan trong việc đóng gói của các axit nucleic. Phosphoryl hóa của serin 170 hoặc 172 giữa cụm arginin 3 và 4 có thể ngăn cản sự gắn kết axit nucleic.



Chủng hoang dại Đột biến pre-C

Hình 3-14. *Gen C.*

Gen C gồm vùng pre-C và C. Ở virut kiểu nguyên sinh, quá trình đọc mã nếu bắt đầu từ vùng pre-C và tiếp tục sang vùng C sẽ tổng hợp HBeAg, nếu bắt đầu từ vùng C sẽ tổng hợp HBcAg. Khi có đột biến tại vùng pre-C sẽ hình thành một codon kết thúc làm ức chế quá trình tổng hợp HBeAg nhưng sự tổng hợp HBcAg vẫn không bị ảnh hưởng.

Protein HBc cần một nồng độ tới hạn để lắp ráp. Đầu tiên, dimer của protein HBc được tạo thành, sau đó có thể lắp ráp ở nồng độ 0,8 μM đối với các hạt cùng kích thước. Dưới kính hiển vi điện tử lạnh, protein HBc gồm 2 quần thể trong các hạt lõi do *E. coli* biểu hiện cũng như các hạt lõi sinh ra *in vivo*. Hai kiểu có đối xứng T3 hoặc T4 (gồm 180 hoặc 240 protein lõi) lần lượt hình thành hai kích cỡ 32 nm hoặc 36 nm. Sự khác biệt chức năng giữa hai quần thể hiện chưa biết và rõ ràng cả hai đều có chứa axit nucleic.

Một khi các hạt lõi được lắp ráp và đã rời môi trường dịch bào tương đang giảm xuống, cấu trúc của chúng ổn định bằng nối disulfit, nhưng các cystein bảo tồn không cần cho sự lắp ráp hoặc tạo vỏ.

6.2.2. Chức năng của protein HBc

Chức năng tạo vỏ: Ý nghĩa của protein HBc trong chu trình sống của virut là rõ ràng. Sau khi lắp ráp thành các hạt lõi và tạo vỏ (encapsidation) cho bộ gen virut, các hạt lõi lại được bao bọc bằng protein HBs và tạo thành virut.

Giúp bộ gen trưởng thành: Một vài vùng bên trong phần đầu tận carboxy của các tiểu đơn vị HBc (protein HBc) có thể cần thiết cho sự trưởng thành của bộ gen.

Giúp bộ gen xâm nhập vào nhân tế bào ký chủ: Ngoài việc bao bọc, hạt lõi có thể giữ một vai trò quan trọng trong việc phóng thích các bộ gen virut trưởng thành vào trong nhân của tế bào nhiễm virut, dẫn đến việc tích trữ và khuếch đại HBV DNA trong nhân của các tế bào gan nhiễm virut tồn tại.

Chức năng của protein lõi trong nhân tế bào: Chính đuôi tận cùng carboxy của protein lõi có chức năng như một tín hiệu định vị nhân, cho phép nhập protein lõi vào trong nhân. Tầm quan trọng của sự nhập vào nhân này chưa rõ, tuy các hạt lõi có thể được thấy số lượng lớn trong tế bào chất của một số tế bào gan người nhiễm virut. Có hai khả năng có thể xảy ra:

- Chức năng nhập vào nhân cần thiết cho việc mang DNA bộ gen virut vào nhân trong các tế bào không phân chia (như các tế bào gan bình thường).
- Protein lõi có thể có một chức năng phụ trong nhân, vì có thể gắn kết DNA cũng như RNA. Quan sát thấy nhân của gan loài gặm nhấm và vịt nhiễm với các hepadnavirut tương ứng không có lõi nhân gợi ý là các hạt lõi trong nhân có thể có một tác dụng phụ không cần thiết trong nhiễm HBV.

6.3. PROTEIN HBe

6.3.1. Cấu trúc protein HBe

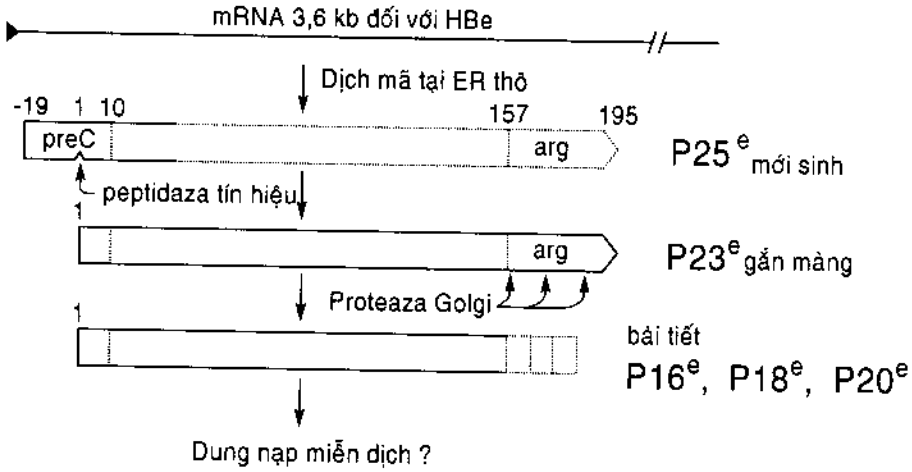
Tất cả hepadnavirut đều có thể có khả năng biểu hiện một dạng bài tiết của protein HBc, được gọi là protein HBeAg. Nguồn gốc của từ e còn nhiều bàn cãi, có người cho nó có nguồn gốc từ chữ enigma (điều bí ẩn), có lẽ cũng đúng như chính bản thân của protein này.

Các hepadnavirut tạo HBeAg bằng phần đầu tận 5' của KĐM C, được gọi là chuỗi mã pre-C. Chuỗi mã pre-C mã hoá một vòng xoắn α kỵ nước, là một tín hiệu bài tiết và giúp chuyển vị protein HBe vào trong khoang lưới nội bào tương. Trong quá trình này, 19 trong 29 aa pre-C được tách ra bởi peptidase tín hiệu (hình 3-14, 3-15). Còn lại 10 aa của chuỗi mã pre-C ngăn ngừa lắp ráp HBe thành các hạt lõi. Vì thế, protein HBe khác với các dạng của protein HBc ở 10 aa của đoạn dẫn đầu, tuy chuỗi mã ban đầu của hai phân tử này rất giống nhau. Một phần protein HBe được chuyển vào màng sinh chất, phần khác được phân cắt thêm bên trong vùng giàu arginin bởi protease Golgi và sau đó được tiết ra lưu hành trong huyết thanh người có HBV sao chép hoạt động trong gan.

Phần protein HBe khác không tiếp cận khoang lưới nội bào tương và không bị phân cắt. Protein $P25^e$ biểu hiện một tín hiệu chuyên chở nhân. Bởi thế, trên thực tiễn, protein HBe có các chiều dài khác nhau được tìm thấy trong tất cả các ngăn tế

bào và được bài tiết. Hơn nữa, protein tiền chất HBe không phân cắt tích tụ dưới dạng phosphoprotein.

Đột biến precore của HBV thường gia tăng trong quá trình nhiễm virut tự nhiên. Hepadnavirut vịt và sóc đen gây nhiễm nhiều ký chủ tương ứng ngay cả khi KĐM precore bị đột biến nhằm ngăn chặn biểu hiện protein. Các cá thể nhiễm virut mạn tính là nguồn truyền nhiễm HBV chính yếu, các virut khiếm khuyết precore sẽ chết nhanh chóng trong tự nhiên vì không có nhiễm virut thứ phát.



Hình 3-15. *Sinh tổng hợp của protein HBe.*

Khi mRNA, có chiều dài dài hơn bộ gen, khởi đầu trên dòng của codon khởi đầu HBe, sự dịch mã của vùng pre-C ngăn chặn sự tạo nếp cần thiết của ε. Bởi thế, HBe mRNA không thường xuyên có chức năng như một pregenom. HBe mRNA được dịch mã thành tiền chất HBe $P25^e$, có thể được phân cắt đồng dịch mã thành $P23^e$ gắn màng. Còn lại 10 aa của chuỗi mã preC ngăn chặn sự tạo nếp của $P23^e$ thành các hạt lõi. Sự bài tiết sẽ lấy đi một phần hoặc toàn bộ vùng đầu tận carboxy giàu arginin bởi một protease Golgi. Bởi thế, protein HBe bài tiết có thể có kích cỡ thay đổi từ 16 đến 20 kDa.

6.3.2. Chức năng của protein HBe

Protein HBe không cần thiết cho chu kỳ sống của virut. Các biến dị không có chuỗi mã pre-C chức năng và protein HBe thường tăng lên cùng với quá trình nhiễm HBV cấp hoặc mạn tính, nhất là khi điều trị bằng interferon. Tuy nhiên, tất cả hepadnavirut từ vịt đến người đều có protein HBe. Dùng phương cách biểu hiện khác như ở các virut ung thư bạch cầu chuột cũng đã phát triển khả năng sản xuất một thể bài tiết nucleoprotein, protein gag glycosyl hóa.

Protein HBe giúp dễ dàng gây nhiễm virut mạn tính bằng cách ức chế sự loại trừ miễn dịch của tế bào gan: Các số liệu từ người và sóc đen nhiễm virut cho thấy protein pre-C tạo thuận lợi cho tình trạng gây nhiễm virut mạn tính. Protein HBe bài tiết với mức độ cao được tìm thấy ở những người mang virut có tình trạng virut huyết cao ít triệu chứng. Sự loại trừ HBeAg thường dẫn đến một sự bùng phát của sinh bệnh miễn dịch và giảm tình trạng virut huyết. Các quan sát này gợi ý rằng protein HBe có khả năng ức chế sự loại trừ miễn dịch của tế bào gan sản sinh HBV. Người mẹ có kháng nguyên e dương có nhiều khả năng có các đứa con nhiễm virut mạn tính hơn người mẹ có kháng nguyên e âm. Tương tự, trong một thực nghiệm ở sóc đen, tất cả 5 con sóc đen sơ sinh bị gây nhiễm với một đột biến hepadnavirut macmot có precore âm có khả năng thải trừ virut, ngược lại với 20 cá thể gây nhiễm với virut kiểu nguyên sinh, chỉ có 6 trong số đó thải trừ virut. Nhiều tác giả cho rằng HBeAg có thể đi vào lá nhau và gây ra sự dung nạp của tế bào T đối với HBcAg. HBeAg tạo ra sự cảm ứng của các tế bào Th2 chống lại các biểu vị HBc/e và vì thế, ức chế đáp ứng Th1 gây độc tế bào chống lại HBc/e.

Ức chế sao chép HBV: Mặt khác, protein HBeAg gần đây được chứng minh có tác động điều hòa giảm bớt sao chép HBV, có lẽ vì hình thành các đa phân không đồng nhất với protein lõi và qua đó ngăn cản sự tạo thành nucleocapsit. Do các hạt gây nhiễm chưa hoàn chỉnh làm giảm sao chép virut RNA được cho là dễ dàng gây nhiễm virut tồn tại, có khả năng là protein HBeAg thực hiện một chức năng tương tự đối với HBV. Các đột biến HBV làm giảm hoặc không tạo ra protein HBeAg sinh ra với tần số cao trong quá trình nhiễm virut mạn tính và sự hiện diện của các đột biến làm cho tình trạng bệnh nặng hơn.

7. CÁC SẢN PHẨM CỦA KĐM P

Sự sản xuất KĐM S và C đã được nhận dạng và xác định đặc điểm đầy đủ, trong khi bằng chứng về sự sản xuất KĐM P có được phần lớn là do suy diễn. Một hoặc nhiều sản phẩm của KĐM P được biểu hiện trong quá trình nhiễm virut *in vivo*, nhưng các kiểu phiên mã, dịch mã và quá trình sau dịch mã chưa được hiểu biết chính xác.

7.1. VÙNG CỦA KĐMP

Protein polymerase là một thành phần protein khác của nucleocapsit. Sau đây, sự phân tích đột biến của KĐM P trong khoảng codon từ 834 đến 845, tính tương đồng chuỗi mã với men phiên mã ngược đã được nghiên cứu kỹ và các nghiên cứu trên cơ chế sao chép bộ gen của HBV cho thấy đa số các phần của KĐM P cần thiết cho virut. Các nghiên cứu này cho thấy KĐM P có 4 vùng (hình 3-16).

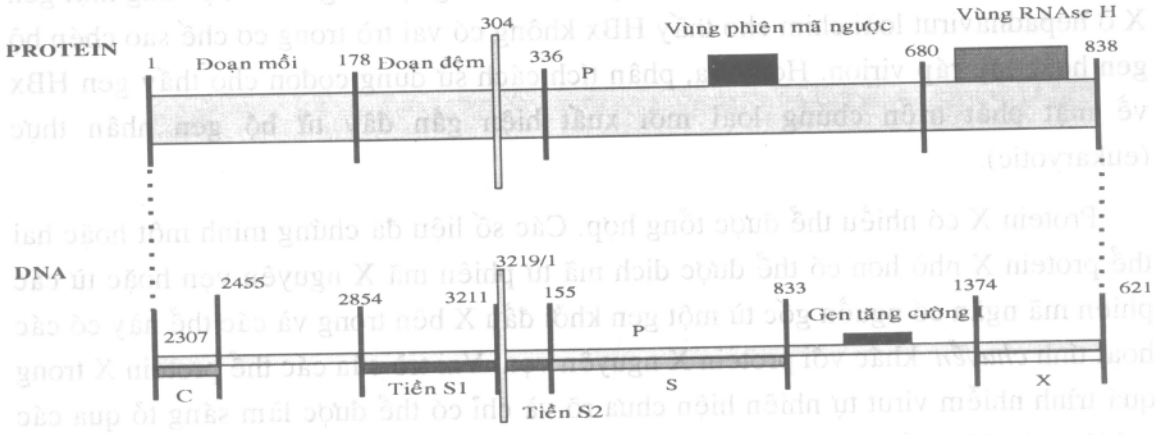
1. Vùng đầu tận amino mã hóa phần protein liên quan đến đầu tận 5' của mạch âm của DNA virion. Phần này có một aa là tyrosin tương đối hằng định, được gọi là primase, là đoạn mồi cần thiết cho sự tổng hợp mạch âm.
2. Vùng kế tiếp được gọi là đoạn đệm (spacer hoặc tether), chức năng chưa được hiểu biết đầy đủ, có thể giúp men không bị thay đổi khi xảy ra đột biến. Vùng này nằm gối lên các vùng preS1 và preS2 của KĐM bề mặt. Bởi thế, đoạn đệm có lẽ giúp biểu hiện các protein bề mặt trung bình và lớn.
3. Vùng kế tiếp mã hóa polymerase phụ thuộc RNA hoặc DNA, như men phiên mã ngược. Vùng này có một chuỗi mã bao gồm các aa tương đối hằng định YMDD (tyrosine-methionine-aspartate-aspartate), có lẽ là vị trí xúc tác của men phiên mã ngược.
4. Vùng đầu tận cacboxy sau cùng là RNase H (Ribonuclease H), phân cắt RNA nếu nó có trong các vật lai RNA và DNA, làm thoái biến khuôn trong lúc tổng hợp mạch DNA(-).

KĐM P của hepadnavirut khác biệt với KĐM P của retroviridae do không có vùng protease và integrase, nhưng có hoạt tính primase không thấy trong orthoretrovirut và các pararetrovirut khác.

7.2. CÁC SẢN PHẨM CỦA KĐM P Ở VIRION

Các nghiên cứu về polymerase virut khó thực hiện do số lượng polymerase thấp trong các hạt virut. Bởi thế, đa số các kết quả về polymerase có được bằng cách gây đột biến trong KĐM P. Sự trích ra một DNA polymerase nội sinh hoạt động từ các hạt lõi virion rất khó khăn, vì việc phá vỡ lõi cần phải xử lý thô và vì thế hủy hoại sự tương tác của protein lõi và polymerase, có vẻ cần cho sự trưởng thành bộ gen bình thường.

Bartenschlager và cs nhận thấy HBV chứa các men phiên mã ngược và DNA polymerase mã hóa bởi gen P. Sự tạo vỏ polymerase phụ thuộc vào sự tạo vỏ đồng thời của pregenom HBV RNA và sự đóng gói của RNA virut, đến lượt nó, phụ thuộc vào sự hiện diện của protein P. Mất sự tạo vỏ protein P do các đột biến gây bất hoạt tín hiệu tạo vỏ epsilon có thể được bù bằng sự bổ sung hoạt tính chuyển (*trans*) với các phân tử RNA tái tổ hợp chuyên chở chuỗi mã ε. Bởi thế, tương tác của protein P hepadnavirut và bộ gen RNA tại tín hiệu đóng gói có vẻ là then chốt cho việc khởi đầu tạo thành các nucleocapsit có khả năng sao chép.



Hình 3-16. *HBV polymerase.*

KĐM lớn nhất của bộ gen HBV mã hóa HBV polymerase. Protein này độ 80 kd và có hoạt tính polymerase phụ thuộc DNA và RNA. HBV polymerase giữ một vai trò then chốt trong sự sao chép bộ gen HBV cũng như tạo vỏ RNA tiền bộ gen. HBV polymerase được đóng gói cùng với RNA tiền bộ gen bên trong HBV nucleocapsit. Protein có 4 vùng: đoạn mồi (primase); đoạn đệm; HBV polymerase, chiếm độ 40% protein và mã hóa hoạt tính polymerase phụ thuộc DNA và RNA (tuy nhiên, HBV polymerase cũng cần hiện diện của ion kim loại và hiện diện của cấu trúc thân-vòng để hoạt tính polymerase/phiên mã ngược xảy ra); vùng thứ tư là RNAse H.

Ngoài chức năng trong sự trưởng thành bộ gen khá rõ ràng, polymerase virut còn có một hoặc nhiều tín hiệu định vị nhân. Polymerase có thể được chuyển vị vào nhân, khi biểu hiện mà không có các protein virut khác. Sự chuyên chở nhân hiệu quả có vẻ tùy thuộc vào sự cắt đứt protein. Vì polymerase virut có thể trung gian chuyên chở bộ gen hepadnavirut vào nhân, các quan sát này có vẻ phù hợp với chu kỳ sống virut. Tuy nhiên, việc cắt đứt polymerase cần cho sự chuyên chở nhân có thể tương quan *in vivo* trong sự phân giải protein sau khi hạt lõi tháo rời ra, hoặc sự biến đổi bắt chước các thay đổi cấu trúc của polymerase trong quá trình RNA gắn kết và tổng hợp DNA hiện chưa được rõ. Ở DHBV, polymerase kết hợp với một dimer của protein sốc nhiệt hsp90 và một trong các đồng yếu tố p23 của nó. Hsp90 cần cho sự gắn kết vào ε.

8. PROTEIN HBx

8.1. CẤU TRÚC PROTEIN HBx

Sản phẩm protein cuối cùng của HBV là protein X, được gọi như thế vì sự bí ẩn xung quanh vai trò của nó trong chu kỳ sống của HBV. KĐM X gồm 154 aa được bảo tồn ở dạng tương tự như trong hepadnavirut của sóc đen và loài sóc đất.

Hepadnavirut vịt không mang một gen nào tương tự với gen X. Sự vắng mặt gen X ở hepadnavirut loài chim cho thấy HBx không có vai trò trong cơ chế sao chép bộ gen hoặc lắp ráp virion. Hơn nữa, phân tích cách sử dụng codon cho thấy gen HBx về mặt phát triển chủng loại mới xuất hiện gần đây từ bộ gen nhân thực (eukaryotic).

Protein X có nhiều thể được tổng hợp. Các số liệu đã chứng minh một hoặc hai thể protein X nhỏ hơn có thể được dịch mã từ phiên mã X nguyên vẹn hoặc từ các phiên mã ngắn có nguồn gốc từ một gen khởi đầu X bên trong và các thể này có các hoạt tính *chuyển* khác với protein X nguyên vẹn. Vai trò của các thể protein X trong quá trình nhiễm virut tự nhiên hiện chưa rõ và chỉ có thể được làm sáng tỏ qua các nghiên cứu đột biến X trong sóc đen.

8.2. CHỨC NĂNG CỦA HBx

Các nghiên cứu đột biến cho thấy protein HBx cần cho sự sản xuất virut sau khi chuyển nhiễm vào môi trường nuôi cấy *in vitro*. Tuy nhiên, chuyển nhiễm WHV DNA mà không có KĐM X vào gan của sóc đen sẽ không gây nhiễm virut, điều này cho thấy HBx cũng cần cho sự sao chép *in vivo*.

Phát hiện các kháng thể đối với protein HBx trong một số lớn mẫu gan nhiễm HBV hoặc huyết thanh cho thấy một số vấn đề vì các kháng thể được dùng để phát hiện thường phản ứng không đặc hiệu với các protein khác. Không có dấu hiệu rõ ràng chứng minh protein HBx là một thành phần cấu trúc của virion hoặc các hạt lõi. Chuỗi mã aa cho thấy HBx không có một chức năng vận chuyển nội tế bào đặc hiệu. Bởi thế, các báo cáo về sự xuất hiện của protein HBx trong huyết thanh của người mang virut, khó giải thích.

Các nghiên cứu gần đây cho thấy protein HBx có nhiều trong bào tương và một ít trong nhân. HBx *in vitro* không ổn định ở tế bào động vật với một thời gian bán tồn ngắn là 20 phút do bị phosphoryl hóa. Các báo cáo về hoạt tính sinh hóa của protein HBx còn cần được kiểm tra lại. Protein HBx hoạt hóa phiên mã nhiều gen không đặc hiệu khi nó được đưa vào các tế bào bằng cách đồng chuyển nhiễm với các hệ thông báo (reporter systems). HBx nhân có vẻ tương tác với các yếu tố phiên mã khác nhưng nhiều ý kiến cho rằng HBx nhân kích hoạt các yếu tố chuyển nạp tín hiệu bào tương như PKC, raf hoặc NF-kB. Các kết quả nghiên cứu đột biến cho thấy các protein HBx nhỏ hơn có hoạt tính kích hoạt phiên mã.

Một trong những tác dụng phụ quan trọng nhất của protein HBx có thể là hoạt tính sinh u trong môi trường cấy tế bào gan chuột tiền ung thư và chuột chuyển gen, nhưng không phải xảy ra ở tất cả các hệ. Đặc biệt, có một tương tác với protein p53

được cho là ức chế u. HBx đã được báo cáo làm mất điều hòa điểm kiểm soát chu kỳ tế bào và phá hủy sự chết tế bào theo chương trình phụ thuộc p53. Một sự phối hợp với nhiều protein khác nhau như proteasom và yếu tố sửa chữa DNA, được phát hiện khá chắc chắn bằng hệ 2 lai (two-hybrid system).

Gần đây, HBx được chứng minh góp phần làm cho ung thư di căn. HBx có thể chính nó làm tăng tính di động tế bào hoặc tác dụng hợp đồng với các yếu tố tăng trưởng và gây ra một kiểu hình di cư trong các tế bào đã biến dạng. HBx làm thay đổi hình dạng tế bào bằng cách tạo thành các giả túc và tái bố trí khung tế bào, cùng với sự phân cực của các phân tử gắn kết vào màng tế bào, gồm cả thụ thể hyaluronan CD44.

9. CÁC KIỂU GEN HBV

Đến nay người ta xếp virut VG B người vào 6 kiểu gen khác nhau theo phân bố địa lý. Một kiểu gen thứ 7 gọi là kiểu G được phát hiện gần đây và sự phân bố của kiểu gen này hiện chưa xác định (bảng 3-1).

Bảng 3-1. Các kiểu gen HBV người.

Nhóm	Địa lý
A	Bắc Âu, miền nam Sahara châu Phi
B	Đông Á (Trung Quốc)
C	Viễn Đông (Nhật)
D	Địa Trung Hải, Trung Đông, Nám Á
E	Miền tây nam Sahara châu Phi, miền nam Angola
F	Tân Thế giới (Brasil), miền bắc và nam Mỹ
G	Chưa được xác định

Và hiện có 121 chủng tồn tại như các phụ loài (quasispecies).

Có 4 kiểu huyết thanh dựa vào các kiểu phụ của kháng nguyên bề mặt VG B (HBsAg) Các kiểu phụ được xác định bằng các cặp quyết định kháng nguyên loại trừ lẫn nhau như d/y và w/r với một quyết định a có chung trong cả 4 kiểu. Các kiểu phụ này là adw, ayw, adr và ayr.

Trong 6 kiểu gen, có 4 nhóm bộ gen HBV còn gọi là kiểu gen (genotype) được xếp theo thứ tự alphabet từ A-D. Xác định chuỗi mã gen S của HBV là cơ sở phân tử trong việc đánh giá các biến dị huyết thanh của HBsAg ở trong 4 kiểu phụ chính. Hai kiểu gen mới của HBV được gọi tên là E và F. Kiểu gen F phân ly với các bộ gen HBV khác khoảng 14% aa. Cho đến nay, đây là bộ gen HBV phân ly nhất. Dịch tễ học phân tử HBV toàn cầu dựa vào sự biến dị của gen S. Các chủng E và F có thể có nguồn gốc từ các cộng đồng thổ dân châu Phi ở Tân Thế giới. Gần đây, Takahashi và cs đã phát hiện một con hắc tinh tinh nhiễm một loại HBV khá gần với HBV-E thường gặp ở châu Phi. Phải chăng con hắc tinh tinh này đã nhiễm từ một

người mang HBV-E. Hay ngược lại, sự lan truyền HBV-E từ hắc tinh tinh đến con người ở châu Phi từ lâu!

Đến nay, ảnh hưởng của các kiểu gen HBV trên hậu quả lâm sàng của ký chủ và các đặc trưng sinh học phân tử của HBV đã được nghiên cứu ở một số nhỏ BN và các kết quả thu được còn khá nghèo nàn. Orito và cs đã tiến hành đánh giá sự khác biệt virut học phân tử và lâm sàng trên 50 BN người Nhật nhiễm VG B mạn kiểu gen B và C trong một nghiên cứu trường hợp-đối chứng xếp cặp theo tuổi, giới, kết quả như sau (bảng 3-2):

Bảng 3-2. Các đặc trưng virut học và lâm sàng của người nhiễm HBV giữa kiểu gen B và C.

Đặc trưng	Kiểu gen B, tỷ lệ %	Kiểu gen C, tỷ lệ %	Khác biệt
HBeAg	16	42	P < 0,01
Anti-HBc	84	56	P < 0,01
HBV DNA (LGE/ml) [a]	5,37±1,76	5,96±1,96	Không ý nghĩa thống kê

[a] Log genome equivalents/ml

Tính trội của các đột biến G thành A tại nt 1896 trong vùng tiền lõi (A1896) trên kiểu virut nguyên sinh được so sánh giữa các BN kiểu gen B và C (lần lượt là 60% và 62%), tương quan với anti-HBe. Đột biến kép tại gen khởi đầu lõi cơ bản (BCP, basic core promoter) (A thành T tại nt 1762 và G thành A tại nt 1764), lại thường gặp ở các BN kiểu gen C hơn B (58% so với 16%, p < 0,01) và không tương quan với HBeAg hoặc anti-HBe. Qua phân tích hồi qui logistic đa biến số, đột biến kép trong gen khởi đầu lõi cơ bản (T1762/A1764) kết hợp với kiểu gen C một cách ý nghĩa (OR=9,3; KTC 95%: 3,4-25,1), tuổi ≥ 35 (OR=5,5, KTC 95%: 1,5-20,5), và bệnh gan tiến triển (OR=4,1, KTC 95%: 1,6-10,2), nhưng không liên quan đến giới, HBeAg, HBV DNA, hoặc đột biến tiền lõi (A1896). Các kết quả này cho thấy vai trò của đột biến kép trong gen khởi đầu lõi cơ bản kết hợp với kiểu gen C và thời khoảng nhiễm virut dài hơn trong tình trạng chuyển kịch phát của VG B.

10. CẤU TRÚC PHÂN TỬ CỦA BỘ GEN HBV

10.1. BỘ GEN HBV HOÀN CHỈNH KIỂU PHỤ ADR

Số bazơ 719 a 867 c 711 g 918 t

Trình tự nucleotit

```
   1 ctcgaggact ggggaccctg caccgaacat ggagagcaca acatcaggat tcctaggacc
  61 cctgctcgtg ttacaggcgg ggtttttctt gttgacaaga atcctcacaa taccacagag
 121 tctagactcg tggtggactt ctctcaattt tctaggggga gcacccacgt gtcctggcca
 181 aaattcgcag tccccaacct ccaatcactc accaacctct tgtcctccaa tttgtcctgg
 241 ttatcgctgg atgtgtctgc ggcgttttat catattcctc ttcatcctgc tgctatgcct
```

```
 301 catcttcttg ttggttcttc tggactacca aggtatgttg cccgtttgtc ctctacttcc
 361 aggaacatca actaccagca cgggaccatg caagacctgc acgattcctg ctcaaggaac
 421 ctctatgttt ccctcttgtt gctgtacaaa accttcggac ggaaactgca cttgtattcc
 481 catcccatca tcctgggctt tcgcaagatt cctatgggag tgggcctcag tccgtttctc
 541 ctggctcagt ttactagtgc catttgttca gtggttcgca gggctttccc ccactgtttg
 601 gctttcagtt atatggatga tgtggtattg ggggccaagt ctgtacaaca tcttgagtcc
 661 ctttttacct ctattaccaa ttttcttttg tctttgggta tacatttgaa ccctaataaa
 721 accaaacgtt ggggctactc ccttaacttc atgggatatg taattggaag ttggggtact
 781 ttaccacagg aacatattgt attaaaactc aagcaatgtt ttcgaaaact gcctgtaaat
 841 agacctattg attggaaagt atgtcaaaga attgtgggtc ttttgggctt tgctgccctt
 901 tttacacaat gtggctatcc tgccttgatg cctttgtatg catgtataca atctaagcag
 961 gctttcactt tctcgccaac ttataaggcc tttctgtgtc aacaatacct gcacctttac
1021 cccgttgccc ggcaacggtc aggtctctgc caagtgtttg ctgacgcaac ccccactgga
1081 tggggcttgg ccataggcca tcggcgcatg cgtggaacct ttgtggttcc tctgccgatc
1141 catactgcgg aactcctagc agcttgtttt gctcgcgacc ggtctggagc aaaacttatc
1201 gggactgaca actcggttgt cctctctcgg aaatacacct ccttcccatg gctgctcggg
1261 tgtgctgcca actggatcct gcgcgggacg tcctttgtct acgtcccgtc ggcgctgaat
1321 cccgcggacg acccgtctcg gggccgtttg ggcctctacc gtcccttgct ttctctgccg
1381 ttccagccga ccacggggcg cacctctctt tacgcggtct ccccgtctgt gccttctcat
1441 ctgccggacc gtgtgcactt cgcttcacct ctgcacgtcg catggagacc accgtgaacg
1501 gccaccaggt cttgcccaag ctcttacata agaggactct tggactctca gcaatgtcaa
1561 caaccgacct tgaggcatac ttcaaagact gtttgtttaa agactgggag gagttggggg
1621 aggagattag gttaaaggtc tttgtactag gaggctgtag gcataaattg gtctgttcac
1681 cagcaccatg caacttttte acctctgcct aatcatctca tgttcatgtc ctactgttca
1741 agcctccaag ctgtgccttg ggtggctttg gggcatggac attgacccgt ataaagaatt
1801 tggagcttct gtggagttac tctcttttt gccttctgac ttctttcctt ctattcgaga
1861 tctcctcgac accgcctctg ctctgtatcg ggaggcctta gagtctccgg aacattgttc
1921 acctcaccat acagcactca ggcaagctat tctgtgttgg ggtgagttga tgaatttggc
1981 cacctgggtg ggaagtaatt tggaagaccc agcatccagg gaattagtag tcagctatgt
2041 caatgttaat atgggcctaa aaatcagaca actattgtgg tttcatattt cctgtcttac
2101 ttttggaaga gaaactgttc ttgagtattt ggtgtctttt ggagtgtgga ttcgcactcc
2161 tcccgcttac agaccaccaa atgcccctat cttatcaaca cttccggaaa ctactgttgt
2221 tagacgacga ggcaggtccc ctagaagaag aactccctcg cctcgcagac gaaggtctca
2281 atcgccgcgt cgcagaagat ctcaatctcg ggaatctcaa tgttagtatc ccttggactc
2341 ataaggtggg aaactttact gggctttatt cttctactgt acctgtcctt aatcctgagt
2401 cccaaactcc ctcctttcct aacattcatt tacaggagga cattattaat agatgtcaac
2461 aatatgtggg ccctcttaca gttaatgaaa aaaggagatt aaaattaatt atgcctgcta
2521 ggttctatcc taaccttacc aaatatttgc ccttggataa aggcattaaa ccttattatc
2581 ctgaacatgc agttaatcat tacttcaaaa ctaggcatta tttacatact ctgtggaagg
2641 ctggcattct atataaaaga gaaactacac gcagcgcttc attttgtggg tcaccatatt
2701 cttgggaaca agagctacgg catgggaggt tggtcttcca aacctcgaca aggcatgggg
2761 acgaatcttt ctgttcccaa tcctctggga ttctttcccg atcaccagtt ggaccctgcg
2821 ttcggagcca actcaaacaa tccagattgg gacttcaacc ccaacaagga tcactggcca
2881 gaggcaatca aggtaggagc gggagacttc gggccagggt tcaccccacc acacggcggt
2941 cttttggggt ggagccctca ggctcagggc atattgacaa cagtgccagc agcgcctcct
3001 cctgtttcca ccaatcggca gtcaggaaga cagcctactc ccatctctcc acctctaaga
3061 gacagtcatc ctcaggccat gcagtggaac tccacaacat tccaccaagc tctgctagat
3121 cccagagtga ggggcctata ttttcctgct ggtggctcca gttccggaac agtaaaccct
3181 gttccgacta ctgtctcacc catatcgtca atctt
```

10.2. KHÁNG NGUYÊN BỀ MẶT

Số bazơ 133 a 187 c 141 g 220 t

Trình tự nucleotit

```
   1 atggagagca caacatcagg attcctagga cccctgctcg tgttacaggc ggggtttttc
  61 ttgttgacaa gaatcctcac aataccacag agtctagact cgtggtggac ttctctcaat
 121 tttctagggg gagcacccac gtgtcctggc caaaattcgc agtccccaac ctccaatcac
 181 tcaccaacct cttgtcctcc aatttgtcct ggttatcgct ggatgtgtct gcggcgtttt
 241 atcatattcc tcttcatcct gctgctatgc ctcatcttct tgttggttct tctggactac
 301 caaggtatgt tgcccgtttg tcctctactt ccaggaacat caactaccag cacgggacca
 361 tgcaagacct gcacgattcc tgctcaagga acctctatgt ttccctcttg ttgctgtaca
 421 aaaccttcgg acggaaactg cacttgtatt cccatcccat catcctgggc tttcgcaaga
 481 ttcctatggg agtgggcctc agtccgtttc tcctggctca gtttactagt gccatttgtt
 541 cagtggttcg cagggctttc ccccactgtt tggctttcag ttatatggat gatgtggtat
 601 tgggggccaa gtctgtacaa catcttgagt ccctttttac ctctattacc aattttcttt
 661 tgtctttggg tatacatttg a
```

Trình tự kháng nguyên bề mặt nhỏ

```
   1 mesttsgflg pllvlqagff lltriltipq sldswwtsln flggaptcpg qnsqsptsnh
  61 sptscppicp gyrwmclrrf iiflfilllc lifllvlldy qgmlpvcpll pgtsttstgp
 121 cktctipaqg tsmfpsccct kpsdgnctci pipsswafar flwewasvrf swlsllvpfv
 181 qwfaglsptv wlsviwmmwy wgpslynils pflpllpiff clwvyi
```

Trình tự kháng nguyên bề mặt lớn

```
   1 mggwsskprk gmgtnlsvpn plgffpdhql dpafkansen pdwdlnphkg nwpdahkvgv
  61 gafgpgftpp hggllgwspq aqgiltsvpa apppastnrq sgrqptplsp plrdthpqai
 121 qwnattfhqt lqdprvraly fpaggsssgt vspaqntvsa ississktgd pvpnmenias
 181 gllgpllvlq agffsltkil tipqsldsww tslnflggtp vclgqnsqsq isshsptccp
 241 picpgyrwmc lrrfiiflci lllclifllv lldyqgmlpv cplipgsstt stgpcktctt
 301 paqgtsmfps ccctkptdgn ctcipipssw afakflwewa svrfswlsll vpfvqwfvgl
 361 sptvwlsviw mmwywgpsly nilspfmpll piffclwvyi
```

Trình tự protein bề mặt trung bình

```
   1 mqwnsttfhq tlqdprvral ylpaggsssg tvspaqntvs aissilsktg dpvpnmenia
  61 sgllgpllvl qagffsltki ltipqsldsw wtslsflggt pvclgqnsqs qisshsptcc
 121 ppicpgyrwm clrrfiiflc illlclifll vlldyqgmlp vcplipgsst tstgpcktct
 181 tpaqgtsmfp sccctkptdg nctcipipss wafakylwew asvrfswlsl lvpfvqwfvg
 241 lsptvwlsvi wmmwfwgpsl ynilspfmpl lpiflclwvy m
```

10.3. KHÁNG NGUYÊN X

Số bazơ 83 a 141 c 122 g 119 t

Trình tự nucleotit

```
   1 atggctgctc gggtgtgctg ccaactggat cctgcgcggg acgtcctttg tctacgtccc
```

```
 61 gtcggcgctg aatcccgcgg acgacccgtc tcggggccgt ttgggcctct accgtccctt
121 gctttctctg ccgttccagc cgaccacggg gcgcacctct ctttacgcgg tctccccgtc
181 tgtgccttct catctgccgg accgtgtgca cttcgcttca cctctgcacg tcgcatggag
241 accaccgtga acggccacca ggtcttgccc aagctcttac ataagaggac tcttggactc
301 tcagcaatgt caacaaccga ccttgaggca tacttcaaag actgtttgtt taaagactgg
361 gaggagttgg gggaggagat taggttaaag gtctttgtac taggaggctg taggcataaa
421 ttggtctgtt caccagcacc atgcaacttt ttcacctctg cctaa
```

Trình tự protein X

```
  1 maarvccqld pardvlclrp vgaesrgrpv sgpfgplpsl afsavpadhg ahlslrglpv
 61 cafssagpca lrftsarrme ttvnghqvlp kllhkrtlgl samsttdlea yfkdclfkdw
121 eelgeeirlk vfvlggcrhk lvcspapcnf ftsa
```

10.4. KHÁNG NGUYÊN LÕI

Số bazơ 131 a 133 c 124 g 164 t

Trình tự nucleotit

```
  1 atggacattg acccgtataa agaatttgga gcttctgtgg agttactctc ttttttgcct
 61 tctgacttct ttccttctat tcgagatctc ctcgacaccg cctctgctct gtatcgggag
121 gccttagagt ctccggaaca ttgttcacct caccatacag cactcaggca agctattctg
181 tgttggggtg agttgatgaa tttggccacc tgggtgggaa gtaatttgga agacccagca
241 tccagggaat tagtagtcag ctatgtcaat gttaatatgg gcctaaaaat cagacaacta
301 ttgtggtttc atatttcctg tcttactttt ggaagagaaa ctgttcttga gtatttggtg
361 tcttttggag tgtggattcg cactcctccc gcttacagac caccaaatgc ccctatctta
421 tcaacacttc cggaaactac tgttgttaga cgacgaggca ggtccctag aagaagaact
481 ccctcgcctc gcagacgaag gtctcaatcg ccgcgtcgca gaagatctca atctcgggaa
541 tctcaatgtt ag
```

Trình tự protein lõi

```
  1 mdidpykefg asvellsflp sdffpsirdl ldtasalyre alespehcsp hhtalrqail
 61 cwgelmnlat wvgsnledpa srelvvsyvn vnmglkirql lwfhiscltf gretvleylv
121 sfgvwirtpp ayrppnapil stlpettvvr rrgrsprrrt psprrrrsqs prrrrsqsre
181 sqc
```

10.5. HBV POLYMERASE

Số bazơ 562 a 712 c 550 g 708 t

Trình tự nucleotit

```
  1 atgcccctat cttatcaaca cttccggaaa ctactgttgt tagacgacga ggcaggtccc
 61 ctagaagaag aactccctcg cctcgcagac gaaggtctca atcgccgcgt cgcagaagat
121 ctcaatctcg ggaatctcaa tgttagtatc ccttggactc ataaggtggg aaactttact
181 gggctttatt cttctactgt acctgtcctt aatcctgagt cccaaactcc ctcctttcct
241 aacattcatt tacaggagga cattattaat agatgtcaac aatatgtggg ccctcttaca
301 gttaatgaaa aaaggagatt aaaattaatt atgcctgcta ggttctatcc taaccttacc
361 aaatatttgc ccttggataa aggcattaaa ccttattatc ctgaacatgc agttaatcat
421 tacttcaaaa ctaggcatta tttacatact ctgtggaagg ctggcattct atataaaaga
481 gaaactacac gcagcgcttc attttgtggg tcaccatatt cttgggaaca agagctacgg
541 catgggaggt tggtcttcca aacctcgaca aggcatgggg acgaatcttt ctgttcccaa
601 tcctctggga ttctttcccg atcaccagtt ggaccctgcg ttcggagcca actcaaacaa
661 tccagattgg gacttcaacc ccaacaagga tcactggcca gaggcaatca aggtaggagc
```

```
 721 gggagacttc gggccagggt tcaccccacc acacggcggt cttttggggt ggagccctca
 781 ggctcagggc atattgacaa cagtgccagc agcgcctcct cctgtttcca ccaatcggca
 841 gtcaggaaga cagcctactc ccatctctcc acctctaaga gacagtcatc ctcaggccat
 901 gcagtggaac tccacaacat tccaccaagc tctgctagat cccagagtga ggggcctata
 961 ttttcctgct ggtggctcca gttccggaac agtaaaccct gttccgacta ctgtctcacc
1021 catatcgtca atcttctcga ggactgggga ccctgcaccg aacatggaga gcacaacatc
1081 aggattccta ggacccctgc tcgtgttaca ggcggggttt ttcttgttga caagaatcct
1141 cacaatacca cagagtctag actcgtggtg gacttctctc aattttctag ggggagcacc
1201 cacgtgtcct ggccaaaatt cgcagtcccc aacctccaat cactcaccaa cctcttgtcc
1261 tccaatttgt cctggttatc gctggatgtg tctgcggcgt tttatcatat tcctcttcat
1321 cctgctgcta tgcctcatct tcttgttggt tcttctggac taccaaggta tgttgcccgt
1381 ttgtcctcta cttccaggaa catcaactac cagcacggga ccatgcaaga cctgcacgat
1441 tcctgctcaa ggaacctcta tgtttccctc ttgttgctgt acaaaacctt cggacggaaa
1501 ctgcacttgt attcccatcc catcatcctg ggctttcgca agattcctat gggagtgggc
1561 ctcagtccgt ttctcctggc tcagtttact agtgccattt gttcagtggt tcgcagggct
1621 ttcccccact gtttggcttt cagttatatg gatgatgtgg tattgggggc caagtctgta
1681 caacatcttg agtccctttt tacctctatt accaattttc ttttgtcttt gggtatacat
1741 ttgaacccta ataaaaccaa acgttggggc tactcccttа acttcatggg atatgtaatt
1801 ggaagttggg gtactttacc acaggaacat attgtattaa aactcaagca atgttttcga
1861 aaactgcctg taaatagacc tattgattgg aaagtatgtc aaagaattgt gggtcttttg
1921 ggctttgctg ccccttttac acaatgtggc tatcctgcct tgatgccttt gtatgcatgt
1981 atacaatcta agcaggcttt cactttctcg ccaacttata aggccttttct gtgtcaacaa
2041 tacctgcacc tttaccccgt tgcccggcaa cggtcaggtc tctgccaagt gtttgctgac
2101 gcaaccccca ctggatgggg cttggccata ggccatcggc gcatgcgtgg aacctttgtg
2161 gttcctctgc cgatccatac tgcggaactc ctagcagctt gttttgctcg cgaccggtct
2221 ggagcaaaac ttatcgggac tgacaactcg gttgtcctct ctcggaaata cacctccttc
2281 ccatggctgc tcgggtgtgc tgccaactgg atcctgcgcg ggacgtcctt tgtctacgtc
2341 ccgtcggcgc tgaatccccgc ggacgacccg tctcggggcc gtttgggcct ctaccgtccc
2401 ttgctttctc tgccgttcca gccgaccacg gggcgcacct ctctttacgc ggtctccccg
2461 tctgtgcctt ctcatctgcc ggaccgtgtg cacttcgctt cacctctgca cgtcgcatgg
2521 agaccaccgt ga
```

Trình tự HBV polymerase

```
   1 mplsyqhfrk lllddeagp leeelprlad eglnrrvaed lnlgnlnvsi pwthkvgnft
  61 glysstvpvl npesqtpsfp nihlqediin rcqqyvgplt vnekrrlkli mparfypnlt
 121 kylpldkgik pyypehavnh yfktrhylht lwkagilykr ettrsasfcg spysweqelr
 181 hgrlvfqtst rhgdesfcsq ssgilsrspv gpcvrsqlkq srlglqpqqg slargnqgrs
 241 grlrarvhpt trrsfgveps gsghidnsas sasscfhqsa vrktayshls tskrqsssgh
 301 avelhnipps sarsqsegpi fscwwlqfrn skpcsdyclt hivnlledwg pctehgehni
 361 riprtparvt ggvflvdknp hnttesrlvv dfsqfsrgst hvswpkfavp nlqsltnlls
 421 snlswlsldv saafyhiplh paamphllvg ssglpryvar lsstsrniny qhgtmqdlhd
 481 scsrnlyvsl lllyktfgrk lhlyshpiil gfrkipmgvg lspfllaqft saicsvvrra
 541 fphclafsym ddvvlgaksv qhleslftsi tnfllslgih lnpnktkrwg yslnfmgyvi
 601 gswgtlpqeh ivlklkqcfr klpvnrpidw kvcqrivgll gfaapftqcg ypalmplyac
 661 iqskqaftfs ptykaflcqq ylhlypvarq rsglcqvfad atptgwglai ghrrmrgtfv
 721 vplpihtael laacfardrs gakligtdns vvlsrkytsf pwllgcaanw ilrgtsfvyv
 781 psalnpaddp srgrlglyrp llslpfqptt grtslyavsp svpshlpdrv hfasplhvaw
 841 rpp
```

11. TÓM TẮT

HBV và các dạng tương đồng trong loài vật thuộc về một họ virut có tên là Hepadnaviridae, do tính hướng tế bào gan. Hepadnaviridae súc vật không được quan tâm trong thú y, nhưng chúng lại là các động vật nghiên cứu quan trọng cho HBV người. Dưới kính hiển vi điện tử, HBV DNA hình vòng, mạch kép không hoàn chỉnh và dài khoảng 3181-3221 bazơ.

HBV có 3 kiểu hạt hiện diện trong máu của người nhiễm virut. Huyết thanh của người mang virut nồng độ cao chứa một lượng khá lớn các hạt không gây nhiễm là các hạt hình cầu và hình sợi. Các hạt hình cầu có đường kính từ 17-25 nm, thường có số lượng khoảng 10^{13}/ml. Các hạt hình sợi (hoặc hình ống) ít hơn, đường kính độ 20 nm có chiều dài thay đổi, thường có nồng độ khoảng 10^{11}/ml hoặc 1µ/ml. Huyết thanh của người mang có nồng độ virut huyết thấp thường chứa khoảng 10^{12}/ml hạt cầu HBs và các sợi HBs rất ít hoặc không có. Hai loại hạt: hình cầu và hình sợi không chứa HBV DNA và vì thế không gây nhiễm. Hạt thứ ba là virut hoàn chỉnh (virion) có hình cầu, đường kính 42 nm. Vỏ protein bên ngoài (hoặc màng bao) được tạo thành bởi các protein HBsAg. Protein bên trong là hạt lõi hay còn gọi là capsit có đường kính 34 nm. Vỏ trong có protein HBcAg và protein này bao gói DNA virut. Bộ gen của HBV có 3 KĐM: KĐM S mã hóa 3 protein HBs có chung một đầu tận cùng; KĐM C mã hóa cho cả 2 protein, HBe và HBc; KĐM X cũng có thể mã hóa hơn một protein. KĐM P là KĐM lớn nhất của bộ gen HBV mã hóa HBV polymerase. Ngoài các protein của HBV, một vài protein ký chủ đã được nhận dạng như các thành phần cấu trúc của virut. Trong đó có protein sốc nhiệt, các protein đi kèm và protein kinase.

Đến nay người ta xếp virut VG B người vào 7 kiểu gen khác nhau được xếp từ A đến G. Kiểu gen phụ thuộc theo phân bố địa lý. Một kiểu gen thứ 7 gọi là kiểu G được phát hiện gần đây và sự phân bố của kiểu gen này hiện chưa xác định.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. **Kann-M; Gerlich-W.** Hepadnaviridae. Structure and molecular virology. In Zuckerman AJ, Thomas HC, editors. Viral Hepatitis. 2nd ed. London. Churchill Livingstone; 1998: 77-105.
2. **Vyas-NG; Yen TSB.** Hepatitis B virus: Biology, Pathogenesis, Epidemiology, Clinical Description, and Diagnosis. In S. Specter editor. Viral hepatitis: Diagnosis, Therapy, and Prevention.Totowa, NJ. Humana Press Inc. 1999:7-33.
3. **Koff-RS.** Hepatitis B virus and Hepatitis D virus. In Gorbach SL, Bartlett JG, Blacklow NR, editors. Infectious Disease. 2nd ed. Philadelphia: W.B. Saunders Company; 1998: 2107-11.
4. **Krawczynski K.** Hepatitis B virus. In Gorbach SL, Bartlett JG, Blacklow NR, editors. Infectious Disease. 2nd ed. Philadelphia: W.B. Saunders Company; 1998:922-26.
5. **Nguyễn Đình Bảng, Đàm Viết Cương, Hoàng Ngọc Hiển và Phạm Lê Hùng.** Vi sinh vật y học. NXB GD-CN, Hà Nội 1992.
6. **Bùi Hữu Hoàng.** Cấu trúc siêu vi viêm gan B. Trong Viêm gan virut B: từ cấu trúc đến điều trị. Bộ môn Nội, TĐHYDTP.HCM. 2000: 9-24.
7. **Ellis-RJ.** The molecular chaperone concept. Biochem-Cell-Biol. 1990 Dec; 68(12): 1352-63.
8. **Wasenauer-G; Kock-J; Schlicht-HJ.** A cysteine and a hydrophobic sequence in the noncleaved portion of the pre-C leader peptide determine the biophysical properties of the secretory core protein (HBe protein) of human hepatitis B virus. J-Virol. 1992 Sep; 66(9): 5338-46.
9. **Bartenschlager-R; Schaller-H.** Hepadnaviral assembly is initiated by polymerase binding to the encapsidation signal in the viral RNA genome. EMBO-J. 1992 Sep; 11(9): 3413-20.
10. **Luscombe CA, Locarnini SA.** Avihepadnaviridae. In Zuckerman AJ, Thomas HC, editors. Viral Hepatitis. 2nd ed. London. Churchill Livingstone; 1998: 115-26.
11. **Robert' HBV page.** The Hepatitis B genome. http://www.globalserve.net/~harlequin/HBV/genome.htm.
12. **Robert' HBV page.** The Hepatitis B genome. http://www.globalserve.net/~harlequin/HBV/hbsag.htm
13. **Pezzil EL; Serrador JM; Montoya MC; Zamora D; Mó MY; Carreterol M; Furthmay H; Madrid FS; Cabreral H.** The hepatitis B virus X prtein (HBx) induces a migratory phenotype in a CD44-dependent manner: possible role of HBx in invasion and metastasis. Hepatology 2001; 33:1270-1281.
14. **Takahashi K; Brotman B; Usuda S; Mishiro S; Prince AM.** HBV, Implications for an origin of HBV. Virology 2000 Feb 1; 267(1): 58-64.
15. **Orito E; Mizokami M; Sakugawa H; Michitaka K; Ishikawa K; Ichida T; Okanoue T; Yotsuyanagi H; Jino S.** A case-control study for clinical and molecular biological differences between hepatitis B viruses of genotypes B and C. Hepatology 2001; 33:218-223.
16. **NCBI.** http://www.ncbi.nlm.nih.gov/cgi-bin/Entrez/wiewer.cgi
17. **Prange R, Wer M, Loffler MH.** Chaperones involved in hepatitis B virus morphogenesis. Biol Chem 1999 Mar; 380(3) :305-14.

Chương 4

SỰ SAO CHÉP VIRUT VIÊM GAN B

Trang

1. GẮN KẾT VIRUT VÀO TẾ BÀO CHỦ 90
1.1. Sự khiếm khuyết của các hệ thống gây nhiễm 90
1.2. Sự gắn kết qua trung gian tiền S1 91
1.3. Sự gắn kết qua trung gian tiền S2-pHSA 91
1.4. SHBs và sự gắn kết 92
1.5. Điều hoà sự gắn kết 92
2. SỰ XÂM NHẬP CỦA VIRUT VÀO TẾ BÀO (SỰ NHẬP BÀO) 93
3. PHÓNG THÍCH BỘ GEN 93
4. SỰ SẢN SINH DNA NGOẠI THỂ 94
5. PHIÊN MÃ CỦA HBV DNA THÀNH HBV RNA 94
5.1. Các khía cạnh tổng quát của phiên mã 94
5.2. Phương pháp nghiên cứu các thành phần kiểm soát của phiên mã 96
5.3. Các gen tăng cường 96
5.4. Các Protein kích hoạt phiên mã virut 97
5.5. Các yếu tố phiên mã của HBV 97
5.6. Quá trình phiên mã 98
5.6.1. Giai đoạn khởi đầu phiên mã 98
5.6.2. Gia đoạn kéo dài 100
5.6.3. Giai đoạn chấm dứt 100
5.7. Sự nhân dòng HBV RNA 101
6. SỰ DỊCH MÃ 102
6.1. Các khía cạnh chung của sự dịch mã 102
6.2. Protein HBe 102
6.3. Protein HBc 103
6.4. Polymerase 103
6.5. LHBs 103
6.6. MHBs và SHBs 104
6.7. HBx 104
7. SỰ LẮP RÁP HBV 105
7.1. Sự tạo vỏ của RNA tiền bộ gen 105
7.2. Chiến lược tổng quát của sự trưởng thành bộ gen 106
7.3. Sự khởi đầu phiên mã ngược 106
7.4. Sự kéo dài của mạch trừ DNA 107
7.5. RNase H và mẫn cảm sơ bộ của mạch DNA (+) 108
7.6. Sự lưu thông của bộ gen 108
7.7. Sự vào loại của HBV DNA trưởng thành vào nhân 108
7.8. Sự tạo vỏ ngoài của các hạt lõi 109
8. TÓM TẮT 110
TÀI LIỆU THAM KHẢO 111

1. GẮN KẾT VIRUT VÀO TẾ BÀO CHỦ

Chu kỳ sống của HBV và các virut tương cận loài vật có thể được chia làm nhiều bước:

1. Gắn virut vào tế bào ký chủ
2. Xâm nhập của virut vào tế bào (sự nhập bào)
3. Phóng thích bộ gen virut
4. Biểu hiện các sản phẩm gen virut
5. Sao chép bộ gen virut
6. Lắp ráp hạt virion (virut toàn vẹn)
7. Phóng thích virut

Như với tất cả các virut khác, chu kỳ sống của HBV và các virut tương tự của chúng trong các loài vật có thể được chia làm nhiều bước. Nhưng khác với đa số các virut, HBV có một con đường khác, cho phép tiếp nhận DNA virut mới tổng hợp từ dịch bào tương vào trong nhân. Sau đây mô tả các bước này (hình 4-1).

Sự gắn kết virut là một trong các bước then chốt xác định khả năng gắn kết với tế bào chủ và tính hướng cơ quan của virut. Hơn nữa, việc phong tỏa sự gắn kết là một thành phần chủ yếu của miễn dịch bảo vệ và cơ sở của nhiều vacxin chống virut. Vì vậy, các nhà nghiên cứu cần phải nhận dạng điểm gắn virut và các thụ thể tế bào tương ứng.

Vì các hạt HBV virut phụ chứa một lượng lớn protein bề mặt trung bình và nhỏ (MHBs, SHBs) và gần như không có protein bề mặt lớn (LHBs), trong khi virion chứa cả 3 dạng protein bề mặt, làm người ta nghĩ rằng protein bề mặt lớn mang quyết định gắn kết HBV vào thụ thể tế bào. Nhiều bằng chứng cho thấy vùng mã hóa protein bề mặt lớn (được biết như là vùng Pre S1) là một vùng gắn kết thụ thể. Người ta có thể dùng các kháng thể đối với pre S1 để phong tỏa sự gắn kết của virion HBV vào màng tế bào gan và vào dòng tế bào ung thư gan người đã biệt hoá (HepG2).

1.1. SỰ KHIẾM KHUYẾT CỦA CÁC HỆ THỐNG GÂY NHIỄM

Một trở ngại lớn của nhiều công trình về sự gắn kết của protein HBs vào protein bề mặt tế bào là các dòng tế bào đích không dễ nhiễm HBV ngay cả khi chúng vẫn sao chép HBV sau khi chuyển nhiễm. Một thí dụ nổi bật là dòng tế bào u gan người HepG2, có thể không bị gây nhiễm, nhưng sao chép và bài tiết HBV hoàn toàn hiệu quả sau khi đưa HBV DNA vào tế bào. Ngay cả môi trường nuôi cấy tế bào gan hắc

tinh tinh cũng không dễ nhiễm HBV. Tính đề kháng tương đối này của các tế bào gan trong môi trường *in vitro* khá tương phản với tính gây nhiễm cao của HBV *in vivo.*

Một hệ thống gây nhiễm hiệu quả là các tế bào gan của các con vịt con mới nở gây nhiễm với DHBV. Đây là một loại tế bào rất dễ nhiễm. Môi trường cấy tế bào gan sóc macmot và tế bào nhu mô người cũng dễ nhiễm WHV và HBV. Tuy nhiên, các tế bào gan này cũng nhanh chóng mất tính dễ nhiễm trong môi trường nuôi cấy lâu ngày. Lý do môi trường tế bào gan nuôi cấy lâu ngày không dễ nhiễm HBV chưa được biết rõ.

1.2. SỰ GẮN KẾT QUA TRUNG GIAN TIỀN S1

Có sự gắn kết đặc hiệu cơ quan hoặc đặc hiệu loài của các hạt HBs có nguồn gốc huyết tương với các tế bào HepG2 (Neurath và cs), nhưng không xảy ra với các tế bào gan súc vật hoặc các tế bào u biểu mô người không có nguồn gốc gan. Sự gắn kết có thể bị phong tỏa bởi các kháng thể đối với chuỗi mã tiền S1 từ 21 đến 47 và bị cạnh tranh bởi chính các chuỗi mã peptit. Các kháng thể đối với peptit tiền S1 (21-47) có khả năng trung hòa *in vitro* vật nhiễm truyền HBV, làm mất tính gây nhiễm. Các kháng thể đơn dòng đối với vùng này có thể phong tỏa sự gắn kết vào các tế bào HepG2 hoặc phong tỏa sự gây nhiễm đối với các môi trường cấy tế bào gan người nguyên thủy.

Trong hệ DHBV, gần đây các nhà nghiên cứu đã xác định được một glycoprotein bề mặt tế bào 180-kDa gắn kết đặc hiệu vào virut vịt và sự gắn kết này bị phong tỏa bằng các kháng thể trung hòa đối với vùng preS1. Dùng phương pháp nhân dòng phân tử phát hiện đây là một cacboxypeptidase.

Li và cs gần đây tìm thấy một thụ thể thứ hai của DHBV có 120 kDa, cũng gắn vào tiền S. Thụ thể của HBV người chưa được xác định. Trong khi chuỗi mã tiền S1 (21-47), hình như cần thiết cho quá trình nhiễm virut, sự gắn kết của nó vào bề mặt tế bào rõ ràng là không đủ gây nhiễm.

1.3. SỰ GẮN KẾT QUA TRUNG GIAN TIỀN S2-PHSA

Sự gắn kết cũng có thể qua trung gian albumin huyết thanh người đã biến đổi. Các mẫu gan người chứa các thụ thể dành cho albumin huyết thanh người đa trùng hợp (pHSA: polymerized human serum albumin) và xử lý trước các màng huyết tương gan với pHSA làm tăng cường mạnh mẽ sự gắn kết của HBV. Sự vắng mặt thụ thể pHSA trên các tế bào HepG2 có thể là một lý do giải thích tại sao các tế bào này đề kháng với nhiễm virut. pHSA bị gắn kết có lẽ được hấp thụ và tiêu hóa bên trong tế bào gan. Vì thế, HBV có thể dùng protein huyết thanh đã biến đổi như một phương tiện chuyên chở để vào trong tế bào gan. Theo các nghiên cứu gần đây,

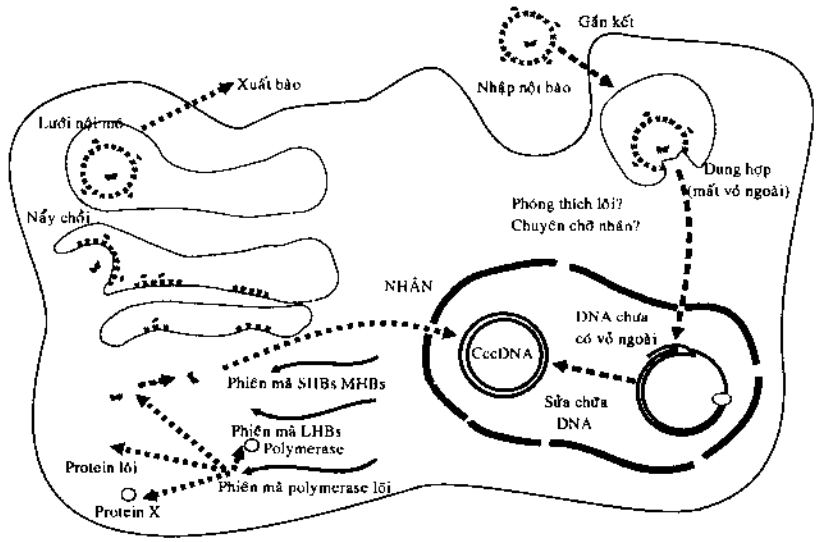
MHBs có thể không cần thiết trong quá trình gây nhiễm *in vivo*, nhưng điều này không loại trừ ý nghĩa của vùng tiền S2 vì vùng này cũng hiện diện trong LHBs.

1.4. SHBs VÀ SỰ GẮN KẾT

Các nghiên cứu về tế bào HepG2 và các màng bào tương tế bào gan cho thấy SHBs không dính líu trực tiếp vào sự gắn kết, nhưng Hertogs và cs. đã quan sát sự gắn kết của các hạt SHBs vào endonexin II gắn kết tế bào gan. Hơn nữa, sự gắn SHBs vào một dạng apolipoprotein H biến đổi đã được báo cáo đối với HBV. Ý nghĩa của sự gắn kết này còn chưa rõ. Sự hiện diện của các kháng thể trung hòa SHBs và của các đột biến thoát khỏi các kháng thể này cho thấy các cấu trúc SHBs dự phần vào trong sự gắn kết, sự nhập bào, hoặc cả hai. Các kháng thể như thế có thể loại trừ miễn dịch HBV hoặc ngăn trở về mặt cấu trúc không gian của vùng tiền S.

1.5. ĐIỀU HOÀ SỰ GẮN KẾT

Một lý do chưa hoàn toàn hiểu rõ về sự gắn kết có thể là do sự gắn kết có ái lực thấp. Tùy thuộc vào quá trình phát triển của hepadnavirut, virut huyết và kháng nguyên huyết thường có nồng độ cao, một thụ thể thừa thãi và có ái lực cao về lý thuyết không thể có trong quá trình nhiễm virut tồn tại. Mặt khác, tình trạng virut huyết và kháng nguyên huyết không bao giờ có thể xác định và các tế bào đích sẽ hoàn toàn bị quá tải bởi các virut và kháng nguyên HBs trào ngược. Gắn kết vào các thụ thể cảm ứng có số lượng thấp sẽ là một cơ chế khả thi khác, nhưng chưa có bằng chứng. Sự gắn kết cũng có thể được thực hiện do protein huyết thanh bị thoái hóa một phần dành cho sự tái sinh trong gan (như albumin huyết thanh).



Hình 4-1. *Lược đồ vòng đời HBV.*

Trong lược đồ này, có nhiều chi tiết còn là giả định (để giản lược, sự tổng hợp HBe và HBx không mô tả ở đây). Sau khi gắn kết, virut nhập nội bào, nucleocapsit được phóng thích vào dịch bào tương và gắn vào lỗ nhân (nuclear pore). Bộ gen được chuyển vị vào nhân, chuyển thành cccDNA. Sau đó, cccDNA sao chép thành ba lớp mRNA chính. Phiên mã lõi và pol dịch mã trong dịch bào tương giúp lắp ráp các hạt lõi chứa pregenom. Các sản phẩm phiên mã của LHBs, MHBs và SHBs dịch mã tại lưới nội bào tương thô và các protein HBs được gắn vào màng này. Các hạt HBs nẩy chồi vào khoang của ngăn trung gian và ít nhất một phần của vùng màng lưới nội bào tương giàu LHBs bao phủ các hạt lõi. Các hạt HBV và HBs được bài tiết sau đó theo cách thức thông thường.

2. SỰ XÂM NHẬP CỦA VIRUT VÀO TẾ BÀO (SỰ NHẬP BÀO)

Hai cơ chế chính được biết qua đó các virut loài vật có thể nhập vào một tế bào:

- Cơ chế đầu tiên chỉ có ở một vài virut mà vỏ ngoài có protein dung hợp. Protein dung hợp này chèn một chuỗi mã kỵ nước vào hai lớp lipit của tế bào đích và gây dung hợp màng virut với màng tế bào, qua đó phóng thích nucleocapsit virut vào bào tương. Cơ chế của sự dung hợp này chưa rõ, nhưng số liệu gần đây cho thấy cơ chế này có thể xảy ra trong ngăn thể nhân (endosome). Cuối cùng bộ gen cũng tiếp cận nhân, không có vỏ ngoài, bị khử protein và sửa chữa thành ngoại thể với cấu trúc vòng xoắn cuộn đóng đồng hóa trị (cccDNA).

- Cơ chế thứ hai ở hầu hết các virut có và không có vỏ, cần một quá trình nhập nội bào (endocytosis) qua trung gian thụ thể, đi vào bằng phương tiện chuyên chở thể nhân. Sự axit hóa sinh lý và protease trong thể nhân kích hoạt các tiến trình cho phép chuyển nucleocapsit virut hoặc bộ gen virut vào dịch bào tương.

Cơ chế của HBV đi vào trong tế bào gan chưa được hoàn toàn hiểu rõ. Lu và cs thấy sự hấp thụ và sao chép HBV hiệu quả trung bình bởi HepG2, nếu virion gây nhiễm được tinh khiết và xử lý trước với V8 protease. Protease này lấy vùng tiền S ra khỏi vỏ ngoài virion và sinh ra các đầu tận amino mới trong MBHs và LHBs, mà trên thực tế trùng hợp với đầu tận amino của vùng S. Gần đầu tận amino này là một dãy 8 hoặc 9 aa kỵ nước, có các đặc trưng điển hình của peptit dung hợp ở virut có màng bao. Sự phân giải protein MHBs và LHBs được cho là sinh ra hoạt động dung hợp màng tại điểm này. Chuỗi mã tương tự có mặt trong SHBs nhưng tại đây điểm này hình như bị bắt giữ bên trong phân tử.

3. PHÓNG THÍCH BỘ GEN

Sau 24 giờ nhiễm DHBV, DNA xuất hiện trong nhân và được chuyển thành các phân tử vòng đóng đồng hóa trị (cccDNA). Các hạt lõi HBV có mặt của trong nhân của các tế bào gan nhiễm virut và trước đây người ta cho là toàn bộ hạt lõi được vận

chuyển vào nhân. Các nghiên cứu gần đây cho thấy đường kính tối đa của lỗ nhân là 25 nm quá nhỏ so với kích cỡ của các hạt lõi là 36 nm. Tuy nhiên, hạt lõi có thể vận chuyển bộ gen virut đến phức hợp lỗ nhân nếu nó bị phosphoryl hóa. Vì kích cỡ của hạt lõi, sự phóng thích bộ gen sau đó phải xảy ra khi bộ gen virut vào nhân, có thể qua trung gian của polymerase virut nối đồng hóa trị.

4. SỰ SẢN SINH DNA NGOẠI THỂ

Sự sao chép hepadnavirut cần chuyển DNA virion với lỗ khuyết của nó, với chuỗi mã RNA và cấu trúc mạch ba thành một vòng đóng đồng hóa trị mạch kép. Polymerase virut có thể giúp đóng lỗ khuyết mạch đơn, nhưng quan sát của Kock và Schlicht cho thấy polymerase tế bào cũng thực hiện tiến trình này. Các enzym tế bào khác loại bỏ DNA dư và đoạn mồi RNA, đóng các khía và siêu xoắn HBV DNA đóng đồng hóa trị (cccDNA). Sau khi kết hợp với histone, thể ccc của HBV DNA nhân được chuyển thành thể nhiễm sắc nhỏ ngoại thể (episome) dùng làm DNA khuôn cho sự phiên mã mRNA virut. Vì thời gian bán tồn của cccDNA hạn chế, nên cần được phục hồi với DNA mới tổng hợp. DNA này có nguồn gốc từ các hạt lõi của dịch bào tương, gây nên tình trạng nhiễm virut tồn tại tế bào.

Khác với retroviridae, sự hòa nhập HBV DNA vào DNA tế bào chủ không cần thiết cho HBV sao chép mà còn có hại, vì sự kéo thẳng của HBV DNA vòng sẽ cắt đoạn ít nhất một gen. Phụ thuộc vào kích cỡ siêu bộ gen của RNA pregenom chức năng, một RNA pregenom như thế có thể chỉ được phiên mã từ DNA thẳng dài hơn bộ gen. Các vật liệu cấu trúc HBV DNA nhân tạo như thế thường được dùng để tiếp tục gây nhiễm các dòng tế bào *in vitro*, nhưng các phân tử HBV DNA hòa nhập có khả năng sao chép không thấy ở gan nhiễm HBV hoặc trong UTTBG xảy ra tự nhiên. HBV DNA hòa nhập thường chứa các dung hợp giữa gen HBV và gen tế bào chủ. Protein mới tạo thành có thể có các đặc tính mới và có thể được tìm thấy trong một số UTTBG như các yếu tố có khả năng sinh ung thư.

5. PHIÊN MÃ CỦA HBV DNA THÀNH HBV RNA

5.1. CÁC KHÍA CẠNH TỔNG QUÁT CỦA PHIÊN MÃ

Phiên mã DNA mạch kép thành RNA là một quá trình điều hòa mạnh, kiểm soát sự biểu hiện của tất cả gen của ký chủ hoặc virut, theo một trật tự về cấu trúc và thời gian. Vì thế, tất cả bộ gen, gồm cả các bộ gen của các phần tử DNA có khả năng sao chép nhỏ nhất, chứa không chỉ gen cấu trúc mã hóa các chuỗi mã protein mà cũng chứa các phần tử điều hòa. Các chuỗi mã DNA này gắn kết một số protein tế bào hoặc protein virut tác động như các yếu tố phiên mã âm hoặc dương. Các yếu tố dương gắn vào RNA polymerase II (thông tin) tế bào tại một vị trí ít nhiều đã được xác định của chuỗi mã DNA nơi khởi đầu tổng hợp RNA. RNA polymerase

phiên mã một mạch của DNA mạch kép thành RNA cho tới khi xuất hiện tín hiệu kết thúc trong chuỗi mã DNA đối với enzym này .

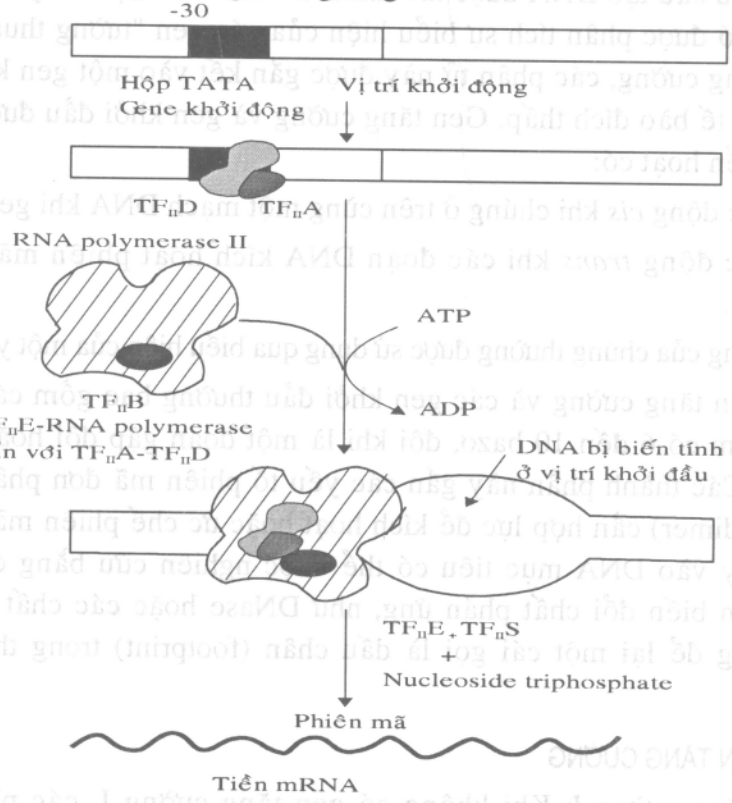
Hai thành phần chuỗi mã DNA góp phần vào việc gắn kết các yếu tố phiên mã:

- Các gen khởi đầu (promoter): Nhiều gen khởi đầu chứa một thành phần gọi là hộp TATA, gắn kết yếu tố phiên mã II D ($TF_{II}D$). Yếu tố này gắn RNA polymerase II (thông tin) theo một kiểu mà sự phiên mã bắt đầu độ 30 bazơ dưới dòng (RNA polymerase I phiên mã RNA của ribosom và III phiên mã RNA vận chuyển).

Các gen tăng cường (enhancer) là các đoạn DNA tăng cường khởi đầu phiên mã tại một gen khởi đầu nào đó, nhưng chúng không cần ở gần gen khởi đầu và sự định hướng chuỗi mã của chúng có thể bị đảo ngược mà không tổn thương hoạt động của chúng. Nhiều gen tăng cường của HBV, có thể tác động lên sự biểu hiện của nhiều gen khác.

Tốc độ tổng hợp RNA bắt đầu tại một gen khởi đầu được kiểm soát bởi:

- Số lượng, kiểu và hoạt động của các yếu tố phiên mã dương trong tế bào ký chủ và
- Tính dễ tiếp cận của các gen tăng cường và gen khởi đầu.



***Hình 4-2**. Giai đoạn khởi đầu của quá trình phiên mã.*

Có 3 loại yếu tố phiên mã: các yếu tố phiên mã thiết yếu, các yếu tố phiên mã đặc hiệu cơ quan và một nhóm thứ ba là các yếu tố phiên mã cảm ứng qua các tín hiệu trong và ngoài tế bào. Đa số chuỗi mã điều hòa cũng chứa các phần tử âm tính chống lại tác động của các gen khởi đầu và các gen tăng cường bằng cách gắn kết vào các yếu tố phiên mã âm. Các đơn vị chuỗi mã như thế được gọi là các gen câm.

Lúc đầu, gen khởi đầu chứa một thành phần là hộp TATA. Hộp này gắn kết yếu tố phiên mã $TF_{II}D$. $TF_{II}A$ gắn thêm vào đây. Lúc đó, RNA polymerase II liên kết với $TF_{II}B$ sẽ gắn vào phức hợp $TF_{II}D$-$TF_{II}A$. Một phân tử ATP được thủy giải, năng lượng được phóng thích dùng để tách 2 mạch DNA. Sau cùng, $TF_{II}E$ khởi đầu phiên mã. Mạch mRNA sau đó được kéo dài nhờ TF_{IIS}.

5.2. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU CÁC THÀNH PHẦN KIỂM SOÁT PHIÊN MÃ

Khi nghiên cứu chức năng, các yếu tố DNA điều hòa phiên mã thường tách biệt với các phần khác của bộ gen và gắn kết vào gen cấu trúc của một protein không hiện diện tự nhiên trong tế bào được dùng thực nghiệm. Đây là các gen "tường thuật" (reporter), các gen này mã hóa các protein có thể phát hiện dễ dàng qua hoạt tính enzym của chúng. Các gen "tường thuật" điển hình là các gen chloramphenicol acetyltransferase (CAT), luciferase vi khuẩn, hoặc protein huỳnh quang xanh lá cây. Các vật liệu cấu tạo DNA được tạo thành *in vitro* và được chuyển nhiễm vào tế bào đích, sau đó được phân tích sự biểu hiện của các gen "tường thuật". Để nghiên cứu các gen tăng cường, các phân tử này được gắn kết vào một gen khởi đầu cơ bản, có hoạt tính ở tế bào đích thấp. Gen tăng cường và gen khởi đầu được gọi là các thành phần chuyển hoạt có:

- Tác động *cis* khi chúng ở trên cùng một mạch DNA khi gen được biểu hiện.
- Tác động *trans* khi các đoạn DNA kích hoạt phiên mã ở trên một mạch DNA khác.

Tác động của chúng thường được sử dụng qua biểu hiện của một yếu tố phiên mã.

Các gen tăng cường và các gen khởi đầu thường bao gồm các thành phần được lắp ráp gồm có 6 đến 10 bazơ, đôi khi là một đoạn gập đôi hoặc một đoạn lặp lại trực tiếp. Các thành phần này gắn các yếu tố phiên mã đơn phân (monomer) hoặc nhị phân (dimer) cần hợp lực để kích hoạt hoặc ức chế phiên mã. Việc gắn kết các protein này vào DNA mục tiêu có thể được nghiên cứu bằng cách giảm tiếp cận DNA nhằm biến đổi chất phản ứng, như DNase hoặc các chất hóa học bị methyl hóa. Chúng để lại một cái gọi là dấu chân (footprint) trong thang chuỗi mã của DNA.

5.3. CÁC GEN TĂNG CƯỜNG

Gen tăng cường I: Khi không có gen tăng cường I, các phiên mã của HBV RNA sẽ rất ít. Thành phần chuỗi mã DNA này tăng cường sự khởi đầu phiên mã

qua một yếu tố từ 10 đến 50 trong tế bào gan. Tác động của chúng thấp hơn trong tế bào không phải gan và các yếu tố đặc hiệu gan gắn vào gen tăng cường I đã được xác định.

Gen tăng cường II: Tác động của gen tăng cường II đặc hiệu với gan hơn.

Các yếu tố tăng cường ngoài tế bào: Các yếu tố ngoài tế bào cũng có thể ảnh hưởng đến phiên mã. Dùng dexametason kích hoạt thụ thể glucocorticoit, sau đó gắn vào các thành phần đáp ứng glucocorticoit của bộ gen HBV và tăng cường phiên mã thêm qua một yếu tố từ 2 đến 5. Tác động này có thể hiện diện *in vivo* và BN trị liệu với glucocorticoit biểu hiện mức độ rất cao của HBV, HBeAg và HBsAg.

5.4. CÁC PROTEIN KÍCH HOẠT PHIÊN MÃ VIRUT

Tất cả các virut DNA mạch kép và retrovirut chứa các tín hiệu chuỗi mã dương trong khởi đầu phiên mã, nhưng ít nhất trong các virut loài có vú, các thành phần tác động cis này rõ ràng không đủ cho bộ gen virut biểu hiện và sao chép hiệu quả cao. Với đa số virut, sản phẩm gen đầu tiên được biểu hiện là các yếu tố phiên mã kích hoạt gen khởi đầu của các gen virut khác trong một kiểu theo thứ tự thời gian. Các sản phẩm như thế, được gọi là các gen sớm tức thì. Thứ tự thời gian của biểu hiện gen HBV chưa được phân tích đầy đủ, nhưng có vẻ là protein HBx là protein đầu tiên xuất hiện và người ta cũng chứng minh rằng HBx kích hoạt nhiều gen tăng cường. Tuy nhiên, hầu hết các nghiên cứu trên HBx bị trở ngại do các hệ tế bào không thể sao chép HBV, hoặc không cần HBx để biểu hiện HBV từ các tế bào tiếp tục gây nhiễm (transfected).

5.5. CÁC YẾU TỐ PHIÊN MÃ CỦA HBV

HBx có thể so sánh với các protein sớm tức thì của DNA virut sinh ung thư như E6/E7 của papillomavirut, hoặc EIA/B của adenovirut. Các yếu tố kích hoạt phiên mã virut cũng hoàn toàn không đặc hiệu và cũng tác động trên các gen kiểm soát tăng trưởng tế bào. Hơn nữa, các yếu tố này có khả năng bất hoạt protein ức chế u tế bào p53 hoặc u tế bào võng mạc (Rb, retinoblastoma). HBx có thể bất hoạt p53. Điều đáng ghi nhận là gen HBx chứa một tín hiệu polyadenyl hóa yếu gây một dung hợp giữa protein HBs bị cắt cụt và polylysine. Biến dị HBx này có thể ít hoạt động trong chuyển hoạt (kích thích tế bào chủ sao chép các thành phần di truyền của virut), nhưng hoạt động mạnh trong chuyển dạng ung thư. Tác động của protein HBV trên Rb chưa được quan sát. Tuy nhiên, các chất kích hoạt phiên mã khác của HBV đã được phát hiện trong u biểu mô tế bào gan chứa HBV DNA. Đây là LHBs bị cắt cụt hoặc protein MHBs đã mất chuỗi mã cần cho sự nẩy chồi và bài tiết các hạt HBs. Tuy các thể cắt cụt có thể là hậu quả sự hòa nhập DNA tình cờ hiếm gặp, tác động chuyển hoạt của vùng tiền S2 có thể phù hợp trong quá trình

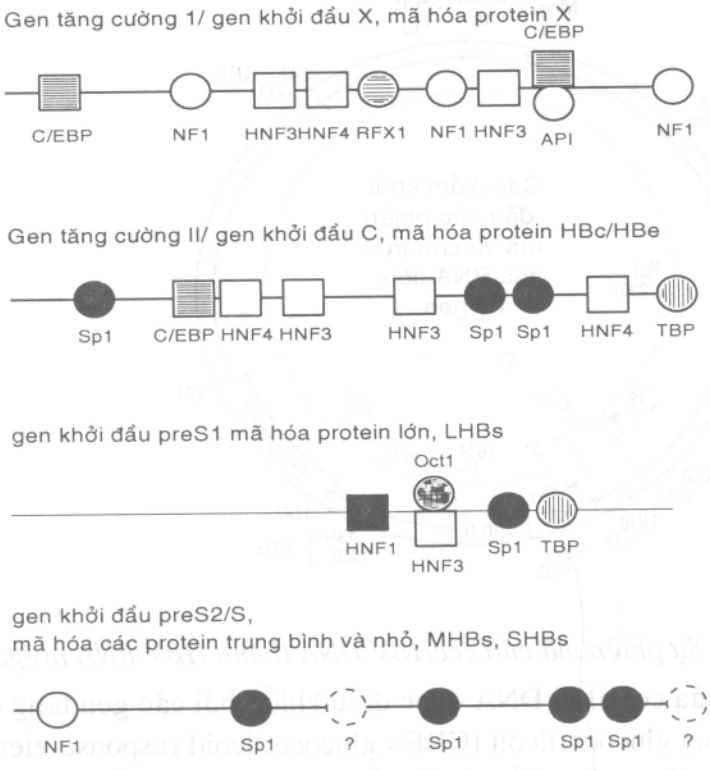
nhiễm HBV bình thường. Hoạt động chuyển hoạt tùy thuộc vào sự định vị của tiền S2 trong dịch bào tương, xảy ra với MHBs bị cắt cụt cũng như trong quá trình biểu hiện LHBs bình thường.

5.6. QUÁ TRÌNH PHIÊN MÃ

5.6.1. Giai đoạn khởi đầu phiên mã

Dùng các kỹ thuật trên, có ít nhất 4 gen khởi đầu và 2 gen tăng cường đã được xác định trong bộ gen HBV. Các gen khởi đầu chỉ huy sự khởi đầu tổng hợp RNA trên dòng của gen HBc/e, gen LHBs, gen M/SHBs và gen HBx. Chỉ có gen khởi đầu LHBs (thường gọi là S promoter I, SPI) có một hộp TATA điển hình và chỉ có mRNA mã hóa protein LHBs có một đầu tận 5' được xác định. Các gen khởi đầu không có TATA thường có nhiều điểm khởi đầu, đây là trường hợp các mRNA của HBc/e, M/SHBs và X. Theo một kết quả, các bộ mRNA tương ứng có thể mã hóa các bộ protein đồng tận cùng lồng vào nhau. Hai bộ dài hơn của HBc/e mRNA mã hóa protein HBe, bộ ngắn hơn khởi đầu từ 4 bazơ sau codon khởi đầu tổng hợp protein HBe. Trong trường hợp này ribosom chỉ có thể dùng codon khởi đầu kế tiếp cho sự tổng hợp protein xác định đầu tận amino của protein HBc. Một hiện tượng tương tự xảy ra trong mRNA mã hóa MHBs và SHBs. Chỉ có mRNA lớn nhất trong 3 mRNA được khởi đầu tại gen này (cũng được biết như gen khởi đầu SPII) chứa codon khởi đầu cho MHBs và 2 mRNA khác chỉ chứa codon khởi đầu gần của SHBs. Phải chăng mRNA chỉ mã hóa các protein HBx nhỏ hơn nhưng không mã hóa protein HBx nguyên vẹn, hiện vẫn chưa rõ.

Hoạt tính tương đối của 4 gen khởi đầu đã được xác định và tính đặc hiệu cao của đầu tận 5' không đồng nhất phụ thuộc vào kiểu tế bào, trong đó bộ gen HBV hoặc phân đoạn của nó được biểu hiện. Gen khởi đầu M/SHBs và gen khởi đầu HBx có thể hoạt động trong tất cả các dòng tế bào của loài có vú. Thí dụ gen khởi đầu M/SHBs chứa 4 điểm gắn cho yếu tố phiên mã cấu trúc phổ biến Sp1. Gen khởi đầu LHBs cần đến yếu tố nhân tế bào gan 1 (HNF1) và 3 (HNF3). Gen khởi đầu HBc/e (cũng như gen tăng cường II) cũng gắn các yếu tố phiên mã đặc hiệu gan như HNF3, C/EBP và HNF4 để được kích hoạt. Điều chưa rõ liệu gen khởi đầu cho HBe mRNA (như mRNA "tiền lõi") và HBs mRNA (như RNA "pregenom") có thể được phân chia rõ ràng hay không. Một nghiên cứu về một vài điểm gắn cho các yếu tố phiên mã trong gen khởi đầu và gen tăng cường của HBV được minh họa như hình 4-3.



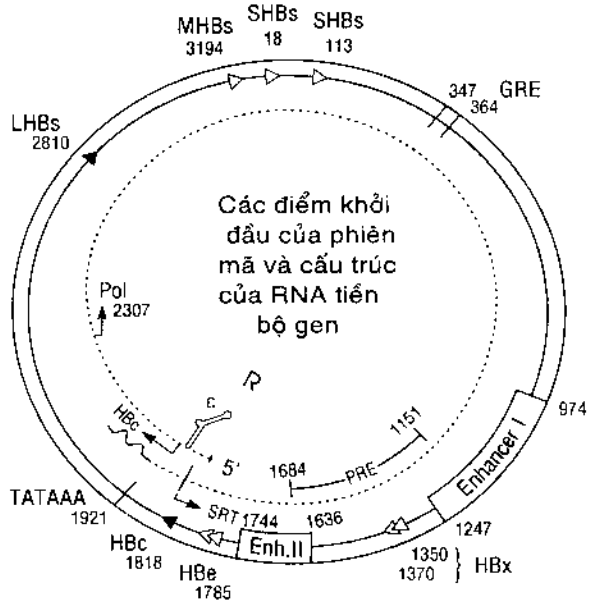
Hình 4-3. *Các điểm gắn kết đối với các yếu tố phiên mã trong các gen tăng cường và gen khởi đầu của HBV.*

C/EBP: CCAAT/gen tăng cường gắn protein; NF1: yếu tố nhân 1; HNF4: yếu tố nhân tế bào gan 4; AP1: protein hoạt hóa 1; Sp1: protein SV40 gen khởi đầu 1; TBP: hộp TATA gắn protein (theo McLachlan).

Các hình vuông biểu thị các yếu tố phiên mã đặc hiệu gan có nhiều trong gan.

Các hình vòng tròn là các yếu tố phiên mã các nơi khác.

Vì các protein được biểu hiện bởi các RNA tương ứng là rất cần thiết cho việc sao chép bộ gen và lắp ráp virion, tính đặc hiệu gan của các tín hiệu phiên mã trong bộ gen HBV có thể đủ giải thích tính hướng kích thích cơ quan của nó. Sự thay thế gen khởi đầu HBc/e đặc hiệu gan bằng một gen khởi đầu hoạt động phổ biến như gen khởi đầu sớm tức thì của cytomegalovirut cho phép sao chép bộ gen HBV và lắp ráp các hạt lõi hoàn chỉnh trong các dòng tế bào không phải gan. Một dimer HBV DNA được gắn kết gen tăng cường và gen khởi đầu của simian virut 40 (SV40). Tất cả được chuyển nhiễm vào nguyên bào sợi của chuột cũng cho phép sản sinh các hạt giống virut như HBsAg, HBeAg và HBV DNA, nhưng thiếu HBc và protein LHBs. Các virion này không ổn định như ở người mang mạn tính.



Hình 4-4. *Sự phiên mã của cccHBV DNA thành HBV RNA pregenom.*

Sự phiên mã của cccHBV DNA được điều khiển bởi các gen tăng cường I và II, các phần tử đáp ứng glucocorticoit (GRE= glucocorticoid response elements) và các gen khởi đầu trên dòng của điểm khởi đầu mRNA. Các điểm khởi đầu tổng hợp mRNA cho các protein HBV khác nhau trong tế bào gan được minh họa bằng các hình tam giác. Các điểm khởi đầu được sử dụng hiệu quả trong các tế bào không phải gan, được minh họa bằng các tam giác trống. Tín hiệu kết thúc thường gặp đối với tất cả mRNA là hộp TATAAA tại bazơ 1921. HBV RNA pregenom được minh họa bằng các đường chấm, có một R dư tận cùng. Tại R đầu tận 5' có chuỗi mã tín hiệu tạo vỏ ε. Một chuỗi mã ngắn bên trong R đầu tận 3' là tín hiệu phiên mã ngược (SRT=signal for reverse transcription) nơi mà phức hợp đoạn mồi được chuyển đến. Pregenom bị polyadenyl hóa (dạng sóng), mã hóa protein HBc và pol. Trên pregenom có điểm khởi đầu protein HBc và polymarase (J) và phần tử điều hòa sau phiên mã (PRE= post-transcriptional regulatory element).

5.6.2. Giai đoạn kéo dài

mRNA tiếp tục được tổng hợp từ mạch khuôn DNA qua trung gian của nhân tố $TF_{II}S$.

5.6.3. Giai đoạn chấm dứt phiên mã

Việc bắt đầu cũng như ngưng phiên mã là một quá trình đã được xác định hoàn toàn. Bộ gen của tất cả hepadnavirut loài có vú chứa một tín hiệu kết thúc TATAAA (aa 1921) gần nơi khởi đầu của gen HBc (aa 1818). Tín hiệu cần một thành phần chuỗi mã phụ trên dòng với gen khởi đầu HBc/e và chỉ trở thành hoạt động nếu điểm khởi đầu của RNA xa hơn 400 bazơ. Bởi thế, tín hiệu kết thúc bị vượt qua trong

lần đi qua đầu tiên của RNA polymerase II sau khi bắt đầu tại gen khởi đầu HBc/e. Một RNA của chiều dài siêu bộ gen được sinh ra, bắt đầu trên dòng hoặc trong chuỗi mã tiền C và chấm dứt trong gen lõi. RNA này có các đầu tận dư ("R"), cần trong sao chép bộ gen *hepadnaviridae*. Tất cả HBV RNA khác thì ngắn hơn chiều dài bộ gen. Vì thế, RNA 3,5 kb dịch mã HBc/e; 2,4 kb cho LHBs; 2,1 kb cho M/SHBs và 0,8 kb dịch mã HBx. Các RNA này đều có cùng đầu tận 3' và đa gen với trường hợp ngoại lệ là X-mRNA. Sự hiện diện của nhiều gen khởi đầu và một tín hiệu kết thúc thường gặp là con đường tốt nhất để biểu hiện nhiều sản phẩm dịch mã khác nhau từ một bộ gen khá đặc do gối lên nhau. Đây là kiểu biểu hiện khá độc đáo của hepadnavirut.

5.7. SỰ NHÂN DÒNG HBV RNA

Trước khi phiên mã kết thúc, các tiền mRNA bắt đầu trải qua một quá trình biến đổi ngay trong nhân để thành các mRNA hoạt động, đó là quá trình trưởng thành. Quá trình này gồm nhiều bước:

Gắn mũ chụp (capping): Ngay sau khi bắt đầu phiên mã, RNA bị biến đổi bằng cách thêm các bazơ methyl hóa vào đầu tận 5'nhờ liên kết 5'-5'triphosphate. Mũ chụp rất cần thiết cho quá trình dịch mã sau này.

Gắn đuôi polyA: Ngay sau khi được phiên mã, các mRNA sẽ cắt bỏ một số nucleotit nằm trước chuỗi mã nhận biết cho phản ứng cắt. Sau đó, một enzyme có trong nhân, polyA polymerase, sẽ gắn một số lượng adenin nhất định vào đầu 3' của mRNA.

Đến giai đoạn này, tiền mRNA đã được hình thành, nhưng để trở thành dạng hoạt động, phân tử này phải qua một bước biến đổi mới được gọi là quá trình ghép nối.

Quá trình tách nối: Hầu hết RNA nhân thực (eukaryotic) bị thay đổi bằng quá trình tách nối, lấy đi các vùng RNA không mã hóa bên trong (intron) và gắn kết các mảnh mã hóa bên ngoài còn lại (exon) tạo nên mRNA.

Tuy nhiên, tất cả các gen HBV được biết tiếp cận nhau và vì thế, tiền chất mRNA được ghi nhận trước đây không bị tách nối, tuy có nhiều tín hiệu tách nối hiện diện trong RNA. Huang và Liang, Huang và Yen tìm thấy một thành phần chuỗi mã RNA ức chế tách intron giữa 1.151 và 1.684. Không như thành phần đáp ứng giống HIV rev hoặc các thành phần điều hòa sau dịch mã, mức độ HBV RNA trong tế bào chất thấp hơn. Vì thế, thành phần điều hòa sau dịch mã có thể cần thiết cho cả ức chế sự tách nối và sự chuyên chở RNA. Khác với HIV, không có protein mã hóa HBV cần cho sự ức chế tách intron. Gần đây, một RNA tách intron đã được tìm thấy ở DHBV. RNA này bắt đầu tại đầu tận 5' của mRNA pregenom và dung hợp lõi có gen S. Các đột biến của các điểm nhận và cho sự tách intron cho thấy RNA này có vẻ cần thiết cho sự sản xuất virion. HBV RNA tách intron cũng được tìm thấy ở UTTBG người.

6. SỰ DỊCH MÃ

6.1. CÁC KHÍA CẠNH CHUNG CỦA SỰ DỊCH MÃ

Sự tổng hợp protein trong các tế bào nhân thực (eukaryote) chủ yếu được điều hòa bằng điểm và tần số khởi đầu tại mRNA. Mô hình quét của tiến trình này áp dụng cho hầu hết các mRNA. Các tiểu đơn vị ribosom nhỏ gắn vào đầu tận 5' có mũ chụp của mRNA và sau đó quét chuỗi mã cho đến một codon khởi đầu AUG và cũng là codon tổng hợp methionin. Sự sinh tổng hợp protein xảy ra từ điểm này sau khi gắn vào các yếu tố khởi đầu và các tiểu đơn vị lớn của ribosom. Sự hiệu quả của tổng hợp protein tại một codon khởi đầu chịu ảnh hưởng của các bazơ bên sườn. Một purin ở vị trí –3 và +4 thường gặp trong các codon khởi đầu, nhưng không ở các codon bên trong dành cho methionin. Mặt khác, một cấu trúc thân vòng trên RNA, ở dưới dòng độ 30 bazơ của codon khởi đầu có thể tăng cường khởi đầu tổng hợp protein. Sự tổng hợp sẽ ngưng lại khi gặp một trong ba codon kết thúc là UAA, UAG và UGA. Thế nên, vị trí của đầu tận 5' của mRNA trong bộ gen HBV xác định sản phẩm gen nào được biểu hiện. Các ngoại lệ đối với quy tắc này là: điểm vào bên trong ribosom (IRES), việc quét có khe hở cho các codon khởi đầu, dùng các codon khởi đầu không điển hình, sự đọc qua codon kết thúc, sự xê dịch khung và sự tái khởi đầu. Một số ngoại lệ này có thể áp dụng để dịch mã một vài protein HBV.

Một bước đầu quan trọng trong sinh tổng hợp protein là sự phân bố của phức hợp tổng hợp protein giữa dịch bào tương và lưới nội bào tương. Các chuỗi protein mới sinh chứa một dải chuỗi xoắn α kích thước từ 16 đến 20 aa gắn vào một hạt nhận biết tín hiệu gắn ribosom vào một cấu trúc lỗ tại lưới nội bào tương. Các peptit đang phát triển được chuyên chở qua lỗ này vào lòng của lưới nội bào tương. Cấu trúc đặc biệt và số lượng của các chuỗi mã tín hiệu kỵ nước như thế xác định sự phân bố bên trong tế bào, định khu học màng, hoặc sự bài tiết protein. Protein không có chuỗi mã tín hiệu được tổng hợp bằng các ribosom tự do và được phóng thích sau khi hoàn thành vào dịch bào tương. Các virut có màng bao có bộ gen phụ mRNA như HBV thường dùng:

- Các ribosom tự do để tổng hợp các protein nucleocapsit và
- Các ribosom gắn vào lưới nội bào tương tổng hợp protein có màng bao.

6.2. PROTEIN HBe

Các chuỗi mã tiền C mã hóa một chuỗi mã tín hiệu chuyển hóa protein HBe thành protein HBe được bài tiết. Như nhiều protein bài tiết, chuỗi mã tín hiệu ở đầu tận amino của HBe được phân cắt bởi peptidase tín hiệu tế bào tại khoang lưới nội bào tương. Quá trình phân giải khác của protein HBe có lẽ xảy ra trong bộ Golgi. Ngăn tế bào này chứa protease phân cắt bên trong vùng đầu tận carboxy giàu arginin của protein HBe. Peptit tín hiệu của protein HBe không mạnh, một phần quan trọng của protein HBe còn trong bào tương. Số lượng protein HBe tổng hợp tương đối so với các protein HBV khác, có lẽ được điều hòa bằng nồng độ mRNA

chứa codon khởi đầu của một gen HBe không gián đoạn. Nhiều BN chứa các biến dị HBV có rất ít HBe mRNA vì các đột biến trong gen tăng cường II hoặc gen khởi đầu HBc/e. Phổ biến hơn là các biến dị có một codon kết thúc ở chuỗi mã tiền C.

6.3. PROTEIN HBc

Codon khởi đầu của protein HBc có 2 guanosin tại vị trí -3 và +4, là một khởi đầu tương đối tốt nhưng không tối ưu vì nó nằm bên trong thân của tín hiệu tạo vỏ ε. Bởi thế, sự dịch mã lõi có lẽ bị ức chế khi polymerase virut gắn kết của vào ε. Tuy nhiên, sự dịch mã HBc mRNA hiệu quả cao là cần thiết, vì với nồng độ tới hạn của protein HBc và protein pol, mRNA này được tạo vỏ thành các hạt lõi và không còn tổng hợp protein nữa. Thế nên, lõi và polymerase có lẽ được dịch mã từ cùng loại RNA nhưng từ các phân tử RNA khác nhau.

6.4. POLYMERASE

Hầu hết các thành viên của Orthoretroviridae biểu hiện polymerase của chúng qua một sự xê dịch khung giữa ORF của gag (dạng tương đồng của protein HBc) và pol, nhờ đó sinh ra một protein dung hợp gag-pol. Nhưng qua phân tích đột biến, HBV không có khả năng này. Thật vậy, sự khởi đầu bên trong bất thường của sự tổng hợp protein pol tại HBc mRNA sẽ sinh ra một HBV polymerase nguyên vẹn không dung hợp. Một cơ chế quét có khe hở tỏ ra có khả năng, vì codon khởi đầu tối ưu của ORF C hình như giảm hiệu quả biểu hiện pol. Tuy nhiên, có nhiều codon khởi đầu trên dòng trong HBc mRNA mạnh hơn. Sự hiện diện của một IRES yếu ở gần mã khởi đầu pol sẽ có ý nghĩa khác. Tần số tương đối của sự khởi đầu tại HBc hoặc tại pol sẽ điều hòa tỉ lệ cần thiết của HBc đối với pol có lẽ là 240:1. Phân tích đột biến cho thấy protein pol khởi đầu tạo vỏ của HBc mRNA và chính nó vào các hạt lõi là chủ yếu (nhưng không tuyệt đối) trong tình trạng cân đối. Điều này gợi ý protein pol gắn vào chính khuôn mẫu của nó ngay sau khi hoàn thành và sẽ loại trừ sự hiện hữu của một mRNA riêng cho pol. Tuy nhiên, RNA pregenom cũng có thể được gắn vào pol trong tình trạng lệch.

6.5. LHBs

Sự khởi đầu của tổng hợp protein LHBs theo các qui tắc thông thường. Sự tổng hợp xảy ra đầu tiên tại dịch bào tương vì vùng tiền S không chứa peptit tín hiệu hoán vị lưới nội bào tương. Peptit tín hiệu I và II của vùng S gắn vào màng lưới nội bào tương nhưng toàn bộ vùng tiền S khá dài không thể hoán vị vào lòng lưới nội bào tương trong lúc tổng hợp protein. Sự kiện này phù hợp với sự vắng mặt của glucosit trong vùng tiền S2 của LHBs. Methionin có amino đầu tận được thay thế bằng axit mystiric. Tuy nhiên, phần kỵ nước trung tâm của vùng S nằm trong khoang của lưới nội bào tương và glycosyl hóa hiệu quả hơn vùng S của MHBs hoặc SHBs. mRNA của LHBs không dịch mã thành MHBs hoặc SHBs.

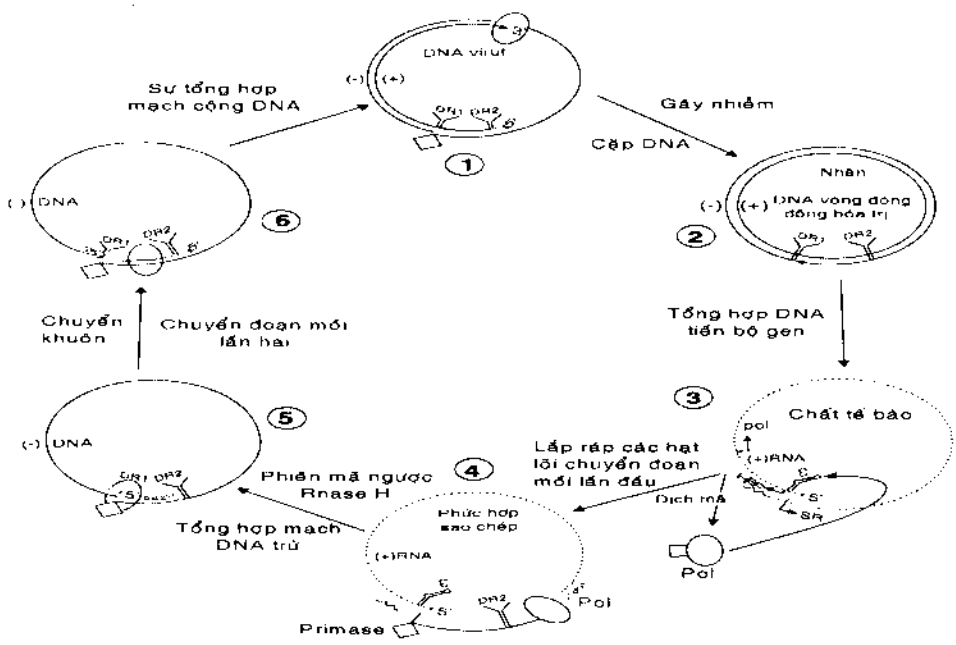
6.6. MHBs VÀ SHBs

Hai sản phẩm gen này thường biểu hiện chung vì có gen khởi đầu mRNA chung. Chưa rõ những yếu tố nào kiểm soát tỉ lệ tương đối giữa mRNA chứa một khởi đầu cho MHBs hay cho SHBs. Dù điều hòa phiên mã thế nào, tỉ lệ giữa MHBs và SHBs cũng được điều hòa ở mức độ dịch mã. Codon khởi đầu của MHBs không có các bazơ cạnh sườn tối ưu trong khi gen khởi đầu của SHBs tối ưu trong lúc khởi đầu tổng hợp protein. Thế nên, MHBs mRNA cũng thường biểu hiện một vài SHBs trừ khi codon khởi đầu của SHBs bị đột biến.

Tín hiệu I của vùng S có khả năng hoán vị vùng tiền S2 của MHBs vào lòng lưới nội bào tương, vì hầu hết MHBs được glycosyl hóa trong các hạt HBs bài tiết. Tuy nhiên, sự tạo nếp của các vùng S mới sinh hơi khác giữa MHBs và SHBs, vì vùng S hiếm khi glycosyl hóa trong MHBs. MHBs bị cắt cụt tại vòng xoắn III xuyên màng dẫn đến một khu vực mà tiền S2 không hoán vị vào khoang lưới nội bào tương.

6.7. HBx

Sự dịch mã của protein HBx cũng có thể xảy ra từ mRNA chứa hoặc không chứa mã khởi đầu đầu tiên của ORF X, nhưng kích cỡ của protein HBx tự nhiên hiện chưa được xác định. Các dự đoán chuỗi mã cho thấy đây là protein trong dịch bào tương. Sự biểu hiện thái quá của protein HBx khi dùng vectơ virut đậu bò cho thấy đây là phosphoprotein rất không ổn định nằm trong tế bào, với thời gian bán tồn là 20 phút.



Hình 4-5. *Sao chép của bộ gen HBV.*

DNA virion (1) được mang vào nhân tế bào (2) và được chuyển thành DNA đóng đồng hóa trị (cccDNA). Sau khi kết hợp với histone, cccDNA chuyển thành DNA ngoại thể (episom) được dùng làm khuôn phiên mã thành nhiều RNA khác nhau (3), một trong số đó được dùng làm khuôn cho protein polymerase (⌟) và protein HBc (⌟). Hai protein này lắp ráp chung với mRNA của chúng thành phức hợp sao chép (4). Tín hiệu tạo vỏ ε tại đầu tận 5' trông coi việc đóng gói RNA và mẫn cảm sơ bộ của DNA mạch trừ. Phần dư tại đầu tận 3' có chức năng như một tín hiệu đối với sự phiên mã ngược (SRT) sau khi mẫn cảm sơ bộ. Vùng primase của polymerase(♦) dùng như một đoạn mồi đối với men phiên mã ngược. Bởi thế, mạch DNA trừ lớn lên (ở dưới bên trái) được gắn kết vào đầu tận 5' của primase (5). Các chi tiết của mẫn cảm sơ bộ tại ε và sự đổi chổ gen khởi đầu đầu tiên đối với DR1 tại đầu 3' của pregenom được minh họa trong hình 4-5. Sự phiên mã ngược tiến hành cho đến đầu tận 5' của khuôn mẫu RNA được tiếp cận. Bởi thế, một phần dư ngắn được sinh ra ở mạch trừ. Hoạt tính RNase H kếp hợp với men phiên mã ngược làm thoái hóa khuôn mẫu RNA và phân cắt một đoạn RNA có mũ chụp dài 18 bazơ ở đầu tận 5' của nó. Đoạn này có sự đồng dạng 6 bazơ đối với DR1 và DR2 lặp lại trực tiếp. Sự tương tác yếu này cho phép chuyển đoạn và men phiên mã ngược/DNA polymerase từ DR1 vào DR2 (6). Ở đây, đoạn RNA có chức năng như một đoạn mồi đối với DNA mạch cộng. DNA polymerase có khả năng xuyên qua tính không liên tục trong khuôn mẫu mạch trừ vì đoạn dư ngắn tận cùng của nó (1). Sau đó, cấu trúc của DNA virion được tái sản xuất. Tác dụng nhân bội bắt nguồn từ một bộ gen HBV ngoại thể (episom) có thể được sao chép thành nhiều phân tử pregenom bởi RNA polymerase tế bào II.

7. SỰ LẮP RÁP HBV

7.1. SỰ TẠO VỎ CỦA RNA TIỀN BỘ GEN

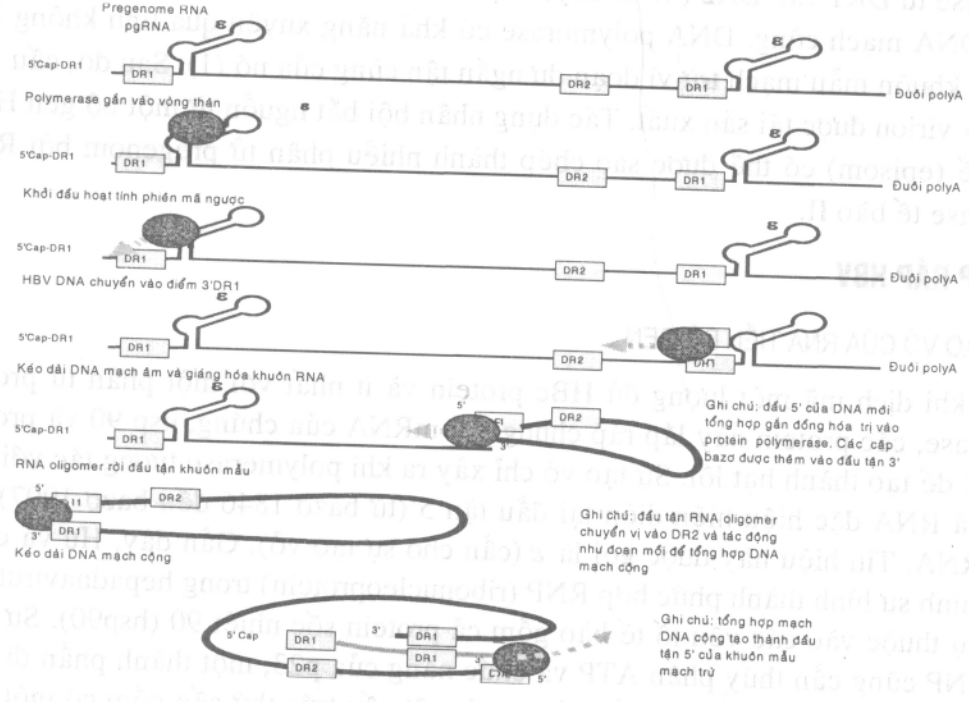
Sau khi dịch mã một lượng đủ HBc protein và ít nhất với một phân tử protein polymerase, các protein này lắp ráp chung với mRNA của chúng, hsp 90 và protein kinase C để tạo thành hạt lõi. Sự tạo vỏ chỉ xảy ra khi polymerase tương tác với một chuỗi mã RNA đặc hiệu hiện diện tại đầu tận 5'(từ bazơ 1846 đến bazơ 1907) của HBc mRNA. Tín hiệu này được gọi là ε (cần cho sự tạo vỏ). Gần đây, Hu và cs đã chứng minh sự hình thành phức hợp RNP (ribonucleoprotein) trong hepadnavirut loài chim phụ thuộc vào các yếu tố tế bào gồm cả protein sốc nhiệt 90 (hsp90). Sự hình thành RNP cũng cần thủy phân ATP và chức năng của p23, một thành phần đi kèm của hsp90 cũng được phát hiện gần đây. ε có một cấu trúc thứ cấp gồm có một thân (stem), một chỗ phồng (bulge), một vòng (loop) và một U không bắt cặp. Các phần tử này và chuỗi mã của vòng cần và đủ cho sự tạo vỏ. Chuỗi mã tín hiệu ε cũng hiện diện trong mRNA cho HBe, nhưng rõ ràng là không gấp thành cấu trúc sơ cấp cần thiết vì chuyển động của ribosom trong quá trình tổng hợp protein HBe.

Sự lắp ráp hepadnavirut tùy thuộc vào sự tạo thành phức hợp ribonucleoprotein (RNP) gồm polypeptit polymerase của virut và một đoạn RNA, ε, hiện diện trên pregenom RNA. Sự tương tác này lần lượt hoạt hóa phản ứng phiên mã ngược đã được mẫn cảm sơ bộ bằng gốc tyrosine trên polymerase.

Protein hsp 90 và một protein đi kèm p23 của hsp90, cần cho hoạt động của DHBV polymerase. Phức hợp đi kèm hòa nhập vào nucleocapsit virut theo một phản ứng phụ thuộc polymerase. Căn cứ vào các sự kiện này, Hu và cs đề nghị một mô hình lắp ráp hepadnavirut và mẫn cảm sơ bộ trong sự tổng hợp DNA virut do phức hợp đi kèm nhiều thành phần bao gồm Hsp90, p23 và có thể còn các yếu tố khác duy trì men phiên mã ngược trong một hình thái đặc hiệu có khả năng đóng gói RNA và mẫn cảm sơ bộ trong tổng hợp DNA virut.

7.2. CHIẾN LƯỢC TỔNG QUÁT CỦA SỰ TRƯỞNG THÀNH BỘ GEN

Sự khuyếch đại thực sự của bộ gen HBV xảy ra trong nhân của tế bào nhiễm virut qua RNA polymerase II tế bào, sao chép HBV DNA vòng thành nhiều bộ gen mRNA đầy đủ với các đầu tận dư. Tất cả các sản phẩm gen của HBV (có lẽ trừ protein HBx) được dùng để tạo vỏ mà RNA sao chép nó thành một DNA vòng và bài tiết nó như một virion có màng bao với các điểm gắn kết vào các tế bào đích mới (hình 4-6).

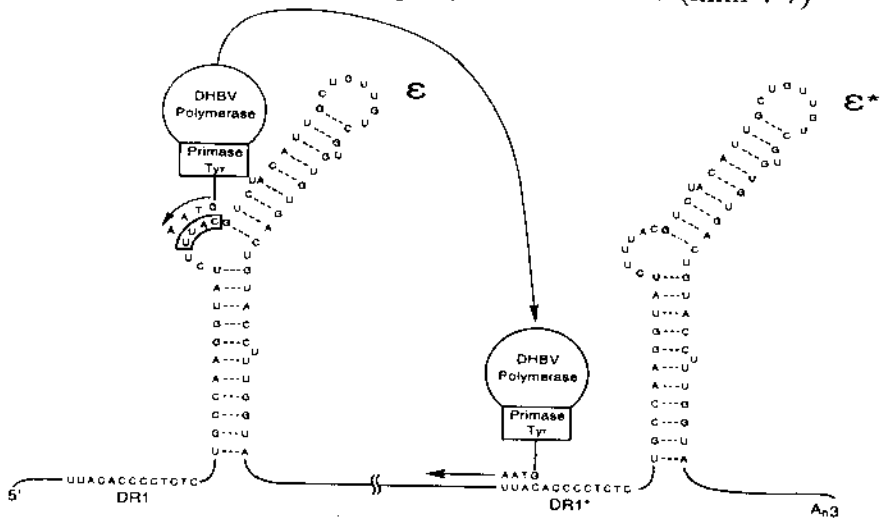


***Hình 4-6**. Quá trình phiên mã ngược.*

7.3. SỰ KHỞI ĐẦU PHIÊN MÃ ĐƯỢC

Trong các tế bào nhiễm HBV, sự trưởng thành của DNA (phiên mã ngược và sự tổng hợp thứ nhì) hình như chỉ xảy ra bên trong các hạt lõi. Tuy nhiên, biểu hiện của

một DHBV polymerase hoạt động trong một hệ không có tế bào cho thấy trong hệ này, bước đầu tiên của sự tổng hợp DNA có thể xảy ra mà không có protein lõi. Dùng hệ này, người ta có thể chứng minh sự tổng hợp DNA mạch trừ bắt đầu tại chỗ phồng (bulge) của tín hiệu ε, không tại DR1 gần đầu tận 3' như được phỏng đoán trước đây từ các thí nghiệm mở rộng đoạn mồi (hình 4-6). DHBV polymerase dùng nhóm hydroxyl của tyrosin 96 trong vùng amino tận cùng của riêng chúng làm đoạn mồi cho sự tổng hợp nucleotit đầu tiên của mạch DNA trừ. DHBV polymerase mang một hình thể mới sau khi gắn kết vào ε và chỉ hoạt động nếu ε được chuẩn bị đầy đủ trước hoặc trong quá trình dịch mã. Sau khi tổng hợp 4 nucleotit đầu tiên bên trong chỗ phồng, polymerase cùng với các nucleotit nối đồng hóa trị phân ly từ khuôn mẫu của chúng và lại quấn với một chuỗi mã bổ sung trong DR1 gần đầu tận 3', mà trước đây được gọi là tín hiệu phiên mã ngược. Các thí nghiệm về sự biểu hiện của HBV polymerase ở nấm xác định mô hình khởi đầu này trong HBV người. Tuy nhiên, vì có nhiều chuỗi mã phụ đối với 3 hoặc 4 bazơ khởi đầu của mạch DNA(-) bên trong bộ gen hepadnavirut, một tiến trình bổ sung phải được bao gồm việc chuyển dời đúng của phức hợp nucleotit polymerase. Các phát hiện gần đây cho thấy, cấu trúc sơ và thứ cấp của các chuỗi mã bao quanh DR1, cũng như khoảng cách giữa điểm khởi đầu và DR1, có thể giữ vai trò quan trọng cho DHBV, nhưng Rieger và Nassal cho là chỉ có 5'ε và 3'SRT đủ tổng hợp mạch trừ của HBV (hình 4-7)



***Hình 4-7.** Mẫn cảm sơ bộ của DHBV DNA mạch trừ tại đầu tận 5'ε và sự chuyển chỗ sau đó của tetranucleotit vào DR1 tại đầu 3' của pregenom là tín hiệu cho phiên mã ngược sau này.*

7.4. SỰ KÉO DÀI CỦA MẠCH TRỪ DNA

Quá trình trưởng thành của bộ gen bao gồm các bước kéo dài bằng phiên mã ngược, theo sau sự tổng hợp mạch DNA(+). Các bước này hình như xảy ra chủ yếu bên trong nucleocapsit được chứng minh qua phân tích các chất trung gian sao chép

sau khi kết tủa miễn dịch các hạt lõi DHBV. Như đã nói ở trên, sự tổng hợp DNA mạch trừ tiếp tục sau khi mẫn cảm sơ bộ và chuyển vị vào DR1 đầu tận 3' của DNA pregenom. Từ xác định vị trí đầu tận 3' của mạch DNA trừ, mạch này có thể xảy ra đồng thời với đầu tận 5' của RNA pregenom. Thế nên, đầu tận 3' của mạch DNA trừ, được đặc hiệu bằng sự đứt dời đi, khi polymerase đến gần đầu tận của khuôn mẫu RNA của nó, gây ra một dư thừa tận cùng của mạch DNA trừ gồm từ 8 đến 10 nucleotit.

7.5. RNASE H VÀ MẪN CẢM SƠ BỘ CỦA MẠCH DNA (+)

Tất cả men phiên mã ngược kết hợp với một hoạt tính Rnase H, phân cắt RNA của các đoạn lai RNA-DNA thành oligoribonucleotit. Sự bất hoạt đột biến của vùng RNase H trong HBV polymerase phong tỏa sự tổng hợp mạch DNA cộng. Tuy nhiên, vùng RNase H của HBV polymerase không thể tách các RNA nucleotit cuối cùng, gắn vào mạch DNA trừ. Vì thế, một đoạn RNA có mũ chụp dài 18 bazơ từ đầu tận 5' của pregenom được sản sinh ra. Phân đoạn này phân ly vì các lý do chưa biết từ DR1 đầu tận 5' trong DNA mạch trừ và được chuyển vị vào DR2. Tại đây chức năng của nó như một đoạn mồi cho DNA mạch cộng. DNA bắt đầu với bazơ cuối cùng của DR2.

7.6. SỰ LƯU THÔNG CỦA BỘ GEN

Vì mạch DNA trừ dùng như một DNA khuôn cho sự tổng hợp mạch DNA cộng có dạng thẳng, sự tổng hợp mạch thứ nhì sẽ thực hiện tại đầu tận 5' của DNA khuôn. Tuy nhiên, sự tổng hợp mạch DNA cộng sẽ gặp sự không liên tục tại đầu tận 3' và 5' của mạch DNA trừ. Dựa vào các dữ liệu của Loch, người đã gây đột biến tại các đầu 3' và 5' của mạch DNA trừ, lý thuyết hiện nay cho rằng một sự tách đôi của chuỗi mã DNA mạch kép tạo nên bởi đầu tận 3' của mạch cộng DNA và đầu tận 5' của mạch trừ DNA. Sau đó là sự quấn đôi (annealing) giữa đầu tận 3'của DNA mạch cộng với đầu tận 3' bổ sung của mạch DNA trừ, cho phép polymerase tiến hành tổng hợp DNA cộng.

7.7. SỰ VÀO LOẠI CỦA HBV DNA TRƯỞNG THÀNH VÀO NHÂN

HBV cccDNA trong nhân có một thời gian bán phân hủy độ 2 đến 3 ngày. Vì thế, tập hợp bộ gen HBV trong nhân phải được khôi phục thường xuyên để bảo đảm sự tồn tại virut. Trên nguyên tắc, sự khôi phục có thể do tế bào gan nhiễm HBV mới, hoặc do sự nhập lại tế bào gan của DNA virut sau khi bỏ vỏ ngoài. Tuttleman và cs đã chứng minh sự khuyếch đại cccDNA trong tế bào gan nguyên sinh nhiễm DHBV xảy ra sau khi các tế bào đã mất nhạy cảm với sự hấp thụ virut. Các số liệu này được xác định ở các tế bào không nhạy cảm. Dòng tế bào Hep G2.2.15 mang bộ gen HBV cũng cho thấy sự chuyên chở trong nhân của bộ gen không liên quan tới sự hấp thụ virut. Trong các trường hợp tự nhiên, các tế bào gan chỉ tích lũy khoảng 50 bản

sao HBV cccDNA cho mỗi tế bào. Tế bào gan nguyên sinh của vịt nhiễm DHBV đột biến, có khiếm khuyết protein màng bao nhưng lại có khả năng sao chép bộ gen, dẫn đến tích lũy cccDNA trong nhân lên đến gấp 50 lần số bản sao tự nhiên, cho thấy vỏ ngoài virut có chức năng điều hòa sao chép cccDNA.

7.8. SỰ TẠO VỎ NGOÀI CỦA CÁC HẠT LÕI

Sự lắp ráp các hạt lõi xảy ra trong dịch bào tương, nhưng sau khi lắp ráp và trưởng thành bộ gen, protein HBc hình như có một ái lực đối với các màng bên trong tế bào có chứa các phân tử LHBs được chèn vào. Người ta đã chứng minh sự tổng hợp quan trọng DNA mạch trừ phải xảy ra trước khi các hạt lõi tạo vỏ, gồm cả sự thay đổi hình thái của các hạt trong quá trình trưởng thành bộ gen. Chỉ có 16 aa đầu tận carboxy của chuỗi mã tiền S1 trong LHBs có thể cần thiết cho vỏ ngoài vì chiều dài của chuỗi mã tiền S này hình như đủ để giữ nó trong dịch bào tương nơi nó khởi động gắn vào hạt lõi. Sự kết hợp của vùng tiền S bên trong với hsc70 có thể quan trọng cho tiến trình này. Một lượng thừa protein SHBs là cần thiết cho sự bài tiết của các virion có vỏ ngoài. Vỏ ngoài có thể được tạo thành bằng các kết tập hỗn hợp của LHBs, MHBs và SHBs, nhưng MHBs hình như không cần thiết. Khi bài tiết, virion và các hạt HBs đi chung từ lưới nội bào tương qua bộ máy Golgi đến bề mặt tế bào. Trong quá trình di chuyển với vật chuyên chở, protein HBs được biến đổi thêm giống như các protein bài tiết từ tế bào bình thường. Các chuỗi bên glycosit của protein HBs được tỉa gọn và biến đổi, các cầu nối disulfide đồng hóa trị được tạo thành ở trong và giữa các tiểu đơn vị HBc hoặc HBs. Sự phóng thích các virion và các hạt HBs từ các tế bào nhiễm có vẻ không cần bất cứ tín hiệu đặc hiệu nào và đi theo lộ trình thông thường của sự bài tiết. Tuy nhiên, sự bài tiết cần tỉa gọn glycan gắn kết N chưa trưởng thành gắn vào protein HBs. Ức chế sự tỉa gọn này bằng *N*-butyldesoxynojirimycin ức chế glucosidase I cũng ức chế sự xuất hiện các hạt HBV trong phần nổi trên mặt của dòng tế bào sản xuất HBV chuyển nhiễm. Sự bài tiết các hạt HBs không bị ức chế mạnh, có lẽ do hàm lượng thấp của glycosit trong protein HBs.

Đôi khi giữa lúc bao bọc của các hạt lõi và lúc bài tiết, một phần phân tử LHBs bị gấp lại trong vùng tiền S từ mặt trong của vỏ ngoài đến bề mặt. Trước khi bài tiết trong mạng lưới trans-Golgi, pH thấp hình như thúc đẩy sự gấp này, vì pH thấp cũng làm xuất hiện *in vitro* các biểu vị tiền S1 phụ trên bề mặt của các hạt HBV.

Dòng tế bào ung thư gan người như HepG2 và Huh7 biểu hiện một tỉ lệ thích hợp của tất cả protein HBV cho phép lắp ráp và bài tiết virut. Môi trường cấy dòng tế bào gan chuột cũng có khả năng sản xuất HBV. Tuy nhiên, không phải tế bào gan nào cũng có thể biểu hiện *in vivo* tất cả protein HBV theo một tỉ lệ thích hợp. Vì vậy, trong các mẫu gan nhiễm virut tồn tại chỉ có một ít tế bào chứa cả HBV DNA, HBcAg và HBsAg, trong khi nhiều tế bào chỉ chứa HBsAg hoặc HBcAg.

8. TÓM TẮT

Cũng như các virut khác, sự sao chép HBV trãi qua nhiều bước: gắn virut vào tế bào ký chủ, nhập nội bào, phóng thích bộ gen virut, biểu hiện các sản phẩm gen virut, sao chép bộ gen virut, lắp ráp hạt virut và phóng thích virut.

Hạt HBV hoàn chỉnh lưu thông trong máu và tìm cách gắn kết vào tế bào chủ. Nhiều bằng chứng cho thấy một vùng protein bề mặt lớn (vùng Pre S1) là nơi gắn kết thụ thể. Các kháng thể đối với pre S1 có thể phong tỏa sự gắn kết của virion HBV vào màng tế bào gan. Sự gắn kết cũng có thể qua trung gian albumin huyết thanh người đã biến đổi. Sự thiếu vắng thụ thể pHSA trên các tế bào HepG2 có thể làm các tế bào này đề kháng với nhiễm HBV. pHSA bị gắn kết có lẽ được hấp thụ và tiêu hóa bên trong tế bào gan. Vì thế, HBV có thể dùng protein huyết thanh đã biến đổi như một phương tiện chuyên chở để vào trong tế bào gan.

Cơ chế HBV đi vào tế bào chủ chưa được hiểu biết rõ ràng: hoặc vỏ ngoài HBV có protein dung hợp, protein dung hợp này chèn một chuỗi mã kỵ nước vào hai lớp lipit của tế bào đích và gây dung hợp màng virut với màng tế bào, qua đó phóng thích nucleocapsit virut vào bào tương; hoặc virut nhập nội bào qua trung gian thụ thể.

Sau 24 giờ nhiễm DHBV, DNA xuất hiện trong nhân và được chuyển thành các phân tử vòng đóng đồng hóa trị (cccDNA). Các nghiên cứu gần đây cho thấy đường kính tối đa của lỗ nhân là 25 nm quá nhỏ so với kích cỡ của các hạt lõi là 36 nm. Tuy nhiên, hạt lõi có thể vận chuyển bộ gen virut đến phức hợp lỗ nhân nếu nó bị phosphoryl hóa. Bộ gen virut có thể vào nhân qua trung gian của polymerase virut.

Sau khi kết hợp với histone, thể ccc của HBV DNA nhân được chuyển thành thể nhiễm sắc nhỏ ngoại thể dùng làm DNA khuôn cho sự phiên mã mRNA virut. Sự phiên mã của cccHBV DNA được điều khiển bởi các gen tăng cường I và II, các phần tử đáp ứng glucocorticoit và các gen khởi đầu trên dòng của điểm khởi đầu mRNA. Tại đầu tận 5' có chuỗi mã tín hiệu tạo vỏ ε. Một chuỗi mã ngắn bên trong đầu tận 3' là tín hiệu phiên mã ngược nơi mà phức hợp đoạn mồi được chuyển đến.

Trước khi phiên mã kết thúc, các tiền mRNA bắt đầu trải qua một quá trình biến đổi ngay trong nhân để thành các mRNA hoạt động. Quá trình này gồm nhiều bước: gắn mũ chụp ở đầu tận 5', gắn đuôi polyA ở đầu tận 3'. Đến giai đoạn này, tiền mRNA đã được hình thành, nhưng để trở thành dạng hoạt động, phân tử này phải qua một bước biến đổi mới được gọi là quá trình ghép nối, loại bỏ các vùng RNA không mã hóa bên trong (intron) và gắn kết các mảnh mã hóa bên ngoài còn lại (exon) tạo nên mRNA. Đây là các mRNA trưởng thành có khả năng dịch mã các protein là các vật liệu để lắp ráp thành các hạt virut hoàn chỉnh cũng như các hạt virut phụ không gây nhiễm.

Sau khi dịch mã một lượng đủ HBc protein và ít nhất với một phân tử protein polymerase, các protein này lắp ráp chung với mRNA của chúng, hsp 90 và protein kinase C để tạo thành hạt lõi. Sự tạo vỏ chỉ xảy ra khi polymerase tương tác với một chuỗi mã RNA đặc hiệu hiện diện tại đầu tận 5' của HBc mRNA. Tín hiệu này được gọi là ε cần cho sự tạo vỏ.

Sau khi có vỏ ngoài, virut hoàn chỉnh được tiết ra hoặc có thể vào lại nhân tế bào. HBV cccDNA trong nhân có một thời gian bán phân hủy độ 2 đến 3 ngày. Vì thế, các bộ gen HBV trong nhân phải được khôi phục thường xuyên để bảo đảm sự tồn tại virut. Sự khôi phục có thể do tế bào gan nhiễm HBV mới, hoặc do DNA virut nhập lại sau khi bỏ vỏ ngoài. Các tế bào gan thường chỉ tích lũy khoảng 50 bản sao HBV cccDNA cho mỗi tế bào.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. **Kann-M; Gerlich-W.** Hepadnaviridae. Structure and molecular virology. In Zuckerman AJ, Thomas HC, editors. Viral Hepatitis. 2nd ed. London. Churchill Livingstone; 1998: 77-105.
2. **Vyas-NG; Yen TSB. Hepatitis B virus**: Biology, Pathogenesis, Epidemiology, Clinical Description, and Diagnosis. In S. Specter editor. Viral hepatitis: Diagnosis, Therapy, and Prevention.Totowa, NJ. Humana Press Inc. 1999:7-33.
3. **Hu-J; Toft-DO; Seeger-C.** Hepadnavirus assembly and reverse transcription require a multi-component chaperone complex which is incorporated into nucleocapsids. EMBO-J. 1997 Jan 2; 16(1): 59-68.
4. **Seifer-M; Heermann-KH; Gerlich-WH.** Replication of hepatitis B virus in transfected nonhepatic cells. Virology. 1990 Nov; 179(1): 300-11.
5. **Robert G. Robert' s HBV page**. Hepatitis B genome. http://www.globalserve.net/ ~harlequin/ HBV/genome.htm
6. **Hồ Huỳnh Thùy Dương**. Sinh học phân tử. NXB Giáo Dục. 1998, tr 70-84.
7. **James D.Watson.** A gen Molekularis Biologiaja. Medicina Komyvkiado. Budapest. 1990.

Chương 5

CÁC BIẾN DỊ PHÂN TỬ CỦA VIRUT VIÊM GAN B

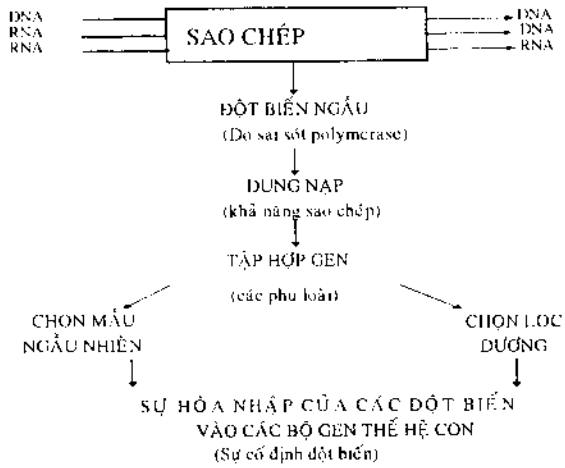
Trang

1. TIẾN HOÁ CỦA VIRUT 112
2. ĐỘT BIẾN THOÁT 114
3. XẾP LOẠI CÁC BIẾN DỊ HBV 115
4. BIẾN DỊ GEN TIỀN LÕI/LÕI 116
4.1. Sinh học của gen tiền lõi / lõi 116
4.2. Các biến dị HBe Ag (-) và sự tiến triển của viêm gan mạn 117
4.3. Sự chọn lọc chuỗi mã của các biến dị tiền lõi và lõi 121
4.3.1. Các đột biến tiền lõi 121
4.3.2. Các đột biến lõi 122
4.4. Các cơ chế xuất hiện 122
4.5. Các biến dị và bệnh mạn tính đang tiến triển 124
4.6. Các biến dị HBeAg(-) và VGKP 125
4.7. Các biến dị HBeAg(-) và VG Cấp không kịch phát 126
4.8. VG tử mật sơ hoa 126
4.9. Các biến dị HBeAg(-) và điều trị INTERFERON 126
4.10. Biến dị tiền lõi sản xuất HBe Ag 127
4.11. Các đột biến mất đoạn gen lõi ở trẻ em 127
5. BIẾN DỊ PROTEIN HBsAg. 128
5.1. Gen bề mặt và các kiểu phụ 128
5.2. Các biến dị liên quan đến Vacxin 131
5.2.1. Truyền nhiễm theo chiều dọc 131
5.2.1.1. Đột biến sG145R 131
5.2.1.2. Đột biến sT/I126N 131
5.2.2. Truyền nhiễm theo chiều ngang 131
5.2.2.1. Đột biến sK141R 131
5.2.2.2. Biến dị sI110V và sC149R 132
5.3.Các biến dị được chọn lọc do liệu pháp kháng thể 133
6. CÁC BIẾN DỊ TIỀN - S/S VÀ VG MẠN 134
7. HBX VÀ CÁC BIẾN DỊ VÙNG TÁC ĐỘNG CIS 134
8. HBV BẤT THƯỜNG VỀ MẶT HUYẾT THANH HỌC 135
9. CÁC ĐỘT BIẾN TRONG KĐM POLYMERASE 136
10. TÓM TẮT 138
TÀI LIỆU THAM KHẢO 139

1. TIẾN HOÁ CỦA VIRUT

Các thể phân lập HBV gồm một hỗn hợp các chủng virut. Ngay trong một ký chủ, HBV đã có nhiều biến dị. Các biến dị hay gặp trong trường hợp các virut RNA

và retrovirut do chúng dễ đồng hóa sai nucleotit trong khi sao chép RNA hoặc phiên mã ngược và khi đồng hóa sai, chúng cũng không có khả năng điều chỉnh vì dùng các enzym thiếu chức năng đọc sửa. Tỷ lệ đột biến trung bình bao gồm một đột biến điểm, mất đoạn, hay xen đoạn cho mỗi 1.000 đến 1.100 nucleotit và cho một vòng sao chép. Khi gộp chung các đột biến, độ một nửa các thế hệ con của một chu kỳ sao chép retrovirut được ước tính sẽ chứa vài đột biến.



***Hình 5-1**. Tiến triển của kiểu gen virut bên trong tế bào chủ.*

Các đột biến ngẫu nhiên xảy ra trong lúc sao chép của các virut DNA, retrovirut và virut RNA do sai lầm phiên mã. Các virut đột biến tồn tại trong tập hợp làm mất khả năng sao chép virut. Tập hợp các "phụ loài" (quasispecies) chịu nhiều sức ép chọn lọc khác nhau, làm thay đổi các thành phần của chúng (sự cố định đột biến).

Tỷ lệ sao chép khá quan trọng trong tiến triển của cộng đồng virut. Các virut RNA và DNA đều có thể gây nhiễm virut cấp trong một cộng đồng, cũng như gây nhiễm virut mạn và có thể chịu thay đổi nhanh chóng. Các biến dị có thể truyền nhiễm chung với nhau và sau đó sao chép độc lập với các tỷ lệ khác nhau cho đến khi có một thể trội hơn, hoặc tăng lên do đột biến ngẫu nhiên sau khi được chọn lọc và truyền nhiễm. Bội nhiễm có lẽ là một con đường bất thường trong nhiễm virut hỗn hợp. Chuyển huyết thanh anti-HBe đôi khi do bội nhiễm với chủng sản xuất HBeAg không gây VG.

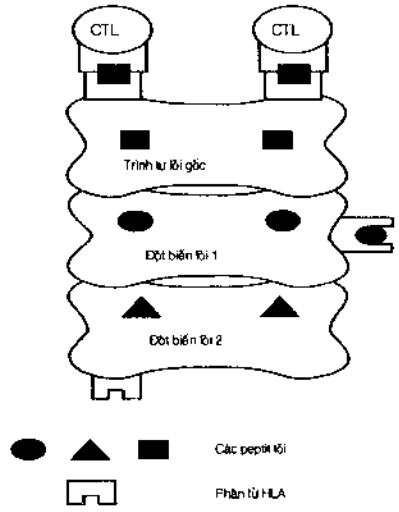
Sau quá trình đột biến ngẫu nhiên, ký chủ sẽ chọn lọc chủng thích hợp nhất (hình 5-1). Sự thích hợp phải được xác định ở mức độ tế bào (các virut sao chép hiệu quả nhất trong một kiểu tế bào đặc biệt sẽ trội hơn) hoặc ở mức độ ngoài tế bào (virut tránh loại thải miễn dịch sẽ trở nên trội). Chọn lọc miễn dịch được xác định bằng các gen đáp ứng miễn dịch đặc hiệu của ký chủ. Đột biến ngẫu nhiên sẽ làm chết hoặc gây nguy hiểm cho virut và vì thế được chọn lọc chống lại, được gọi là *chọn lọc âm.*

Tuy nhiên, các đột biến điểm riêng biệt thường không có tác động kiểu hình do dư thừa mã di truyền hoặc do thay đổi không tác động đến cấu trúc RNA hoặc protein. Một vài đột biến yên lặng về mặt kiểu hình có thể hòa nhập vào hỗn hợp quasispecies ("phụ loài"). Tuy nhiên, sự thay đổi trong một cộng đồng virut là do tác động *chọn lọc dương* của ký chủ .

HBV sao chép qua trung gian RNA, vì thế phải chịu tỷ lệ đột biến cao. Tuy nhiên, bộ gen HBV có cấu tạo chắc chắn nên khả năng biến dị giảm nhiều. Các KĐM của HBV lại thường gối lên nhau như KĐM bề mặt (S) hoàn toàn bị chồng lên bởi KĐM mã hóa polymerase (P), nên bất cứ thay đổi nucleotit nào làm mất chức năng của một trong hai KĐM sẽ làm chết virut. Các kiềm chế khác được đặt ra bởi nhu cầu bảo tồn các lặp lại trực tiếp, các gen khởi đầu và các phân tử tác động *cis* (*cis*-acting) liên quan trong sao chép bộ gen. Dù bị nhiều kiềm chế như thế, cũng có khoảng 12% nucleotit khác biệt trong các thể phân lập HBV.

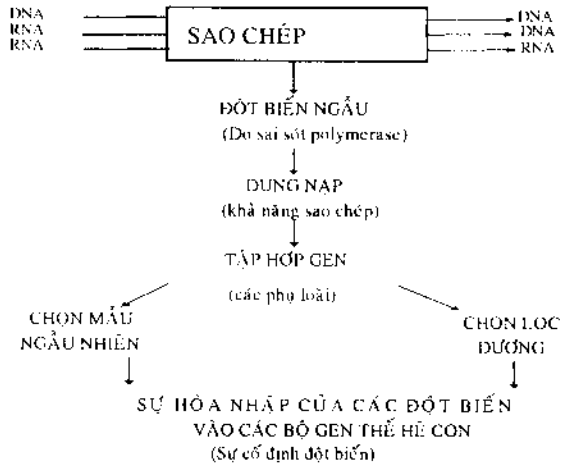
2. ĐỘT BIẾN THOÁT

Đột biến thoát là một quá trình qua đó thay thế aa tại một hay nhiều vị trí làm biến đổi biểu vị (epitope) khiến virut có thể tồn tại cùng với đáp ứng miễn dịch đối với biểu vị ban đầu chưa biến đổi. Nếu đáp ứng miễn dịch nhận biết biểu vị ban đầu, tế bào nhiễm virut sẽ bị hủy hoại hoặc virut tự do sẽ trung hòa. Các virut mã hóa biểu vị đột biến (hoặc các tế bào trình diện biểu vị này trên bề mặt) sẽ sống sót. Đột biến thoát có thể được tạo ra trong môi trường nuôi cấy tế bào khi các kháng thể đơn dòng (mAb) đặc hiệu được cho vào. Sau đó, các virut đột biến có các biểu vị kháng nguyên biến đổi sẽ không phản ứng với các kháng thể đơn dòng nữa. Nếu các kháng thể đặc hiệu được lấy đi, biểu vị ban đầu lại xuất hiện và hiện tượng này được gọi là *chọn lọc ngược*.



Hình 5-2. *Sự trình diện các biểu vị đột biến.*

và retrovirut do chúng dễ đồng hóa sai nucleotit trong khi sao chép RNA hoặc phiên mã ngược và khi đồng hóa sai, chúng cũng không có khả năng điều chỉnh vì dùng các enzym thiếu chức năng đọc sửa. Tỷ lệ đột biến trung bình bao gồm một đột biến điểm, mất đoạn, hay xen đoạn cho mỗi 1.000 đến 1.100 nucleotit và cho một vòng sao chép. Khi gộp chung các đột biến, độ một nửa các thế hệ con của một chu kỳ sao chép retrovirut được ước tính sẽ chứa vài đột biến.



***Hình 5-1**. Tiến triển của kiểu gen virut bên trong tế bào chủ.*

Các đột biến ngẫu nhiên xảy ra trong lúc sao chép của các virut DNA, retrovirut và virut RNA do sai lầm phiên mã. Các virut đột biến tồn tại trong tập hợp làm mất khả năng sao chép virut. Tập hợp các "phụ loài" (quasispecies) chịu nhiều sức ép chọn lọc khác nhau, làm thay đổi các thành phần của chúng (sự cố định đột biến).

Tỷ lệ sao chép khá quan trọng trong tiến triển của cộng đồng virut. Các virut RNA và DNA đều có thể gây nhiễm virut cấp trong một cộng đồng, cũng như gây nhiễm virut mạn và có thể chịu thay đổi nhanh chóng. Các biến dị có thể truyền nhiễm chung với nhau và sau đó sao chép độc lập với các tỷ lệ khác nhau cho đến khi có một thể trội hơn, hoặc tăng lên do đột biến ngẫu nhiên sau khi được chọn lọc và truyền nhiễm. Bội nhiễm có lẽ là một con đường bất thường trong nhiễm virut hỗn hợp. Chuyển huyết thanh anti-HBe đôi khi do bội nhiễm với chủng sản xuất HBeAg không gây VG.

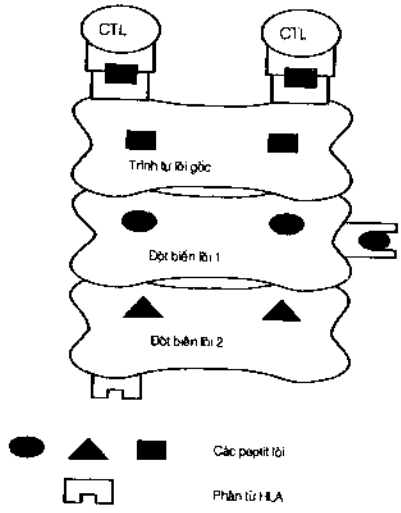
Sau quá trình đột biến ngẫu nhiên, ký chủ sẽ chọn lọc chủng thích hợp nhất (hình 5-1). Sự thích hợp phải được xác định ở mức độ tế bào (các virut sao chép hiệu quả nhất trong một kiểu tế bào đặc biệt sẽ trội hơn) hoặc ở mức độ ngoài tế bào (virut tránh loại thải miễn dịch sẽ trở nên trội). Chọn lọc miễn dịch được xác định bằng các gen đáp ứng miễn dịch đặc hiệu của ký chủ. Đột biến ngẫu nhiên sẽ làm chết hoặc gây nguy hiểm cho virut và vì thế được chọn lọc chống lại, được gọi là *chọn lọc âm.*

Tuy nhiên, các đột biến điểm riêng biệt thường không có tác động kiểu hình do dư thừa mã di truyền hoặc do thay đổi không tác động đến cấu trúc RNA hoặc protein. Một vài đột biến yên lặng về mặt kiểu hình có thể hòa nhập vào hỗn hợp quasispecies ("phụ loài"). Tuy nhiên, sự thay đổi trong một cộng đồng virut là do tác động *chọn lọc dương* của ký chủ .

HBV sao chép qua trung gian RNA, vì thế phải chịu tỷ lệ đột biến cao. Tuy nhiên, bộ gen HBV có cấu tạo chắc chắn nên khả năng biến dị giảm nhiều. Các KĐM của HBV lại thường gối lên nhau như KĐM bề mặt (S) hoàn toàn bị chồng lên bởi KĐM mã hóa polymerase (P), nên bất cứ thay đổi nucleotit nào làm mất chức năng của một trong hai KĐM sẽ làm chết virut. Các kiềm chế khác được đặt ra bởi nhu cầu bảo tồn các lặp lại trực tiếp, các gen khởi đầu và các phân tử tác động *cis* (*cis*-acting) liên quan trong sao chép bộ gen. Dù bị nhiều kiềm chế như thế, cũng có khoảng 12% nucleotit khác biệt trong các thể phân lập HBV.

2. ĐỘT BIẾN THOÁT

Đột biến thoát là một quá trình qua đó thay thế aa tại một hay nhiều vị trí làm biến đổi biểu vị (epitope) khiến virut có thể tồn tại cùng với đáp ứng miễn dịch đối với biểu vị ban đầu chưa biến đổi. Nếu đáp ứng miễn dịch nhận biết biểu vị ban đầu, tế bào nhiễm virut sẽ bị hủy hoại hoặc virut tự do sẽ trung hòa. Các virut mã hóa biểu vị đột biến (hoặc các tế bào trình diện biểu vị này trên bề mặt) sẽ sống sót. Đột biến thoát có thể được tạo ra trong môi trường nuôi cấy tế bào khi các kháng thể đơn dòng (mAb) đặc hiệu được cho vào. Sau đó, các virut đột biến có các biểu vị kháng nguyên biến đổi sẽ không phản ứng với các kháng thể đơn dòng nữa. Nếu các kháng thể đặc hiệu được lấy đi, biểu vị ban đầu lại xuất hiện và hiện tượng này được gọi là *chọn lọc ngược*.



Hình 5-2. *Sự trình diện các biểu vị đột biến.*

Sự thất bại của các kháng thể hoặc tế bào T gây độc tế bào (TBTGĐTB, CTL) trong việc nhận biết các biểu vị HBcAg trong các tế bào gan nhiễm virut. Đối với TBTGĐTB, sự không nhận biết có thể do một biểu vị đột biến (□) hoặc do peptit không gắn vào phân tử HLA lớp I (□). Sự đối kháng cũng có thể xảy ra do biểu vị đột biến ức chế đáp ứng TBTGĐTB đối với peptit chuẩn.

Đột biến trong biểu vị TBTGĐTB đưa đến sự kiện virut thoát khỏi sự kiểm soát miễn dịch được mô tả lần đầu trong chuột thực nghiệm và được xác định *in vivo* ở BN nhiễm HIV. Qua thời gian, các BN nhiễm HIV với các kiểu phức hợp phù hợp tổ chức chính (PHPHTCC, MHC) riêng biệt có các thay đổi bên trong và quanh các biểu vị virut được trình diện bởi các phân tử PHPHTCC nhóm I. Các chuỗi mã peptit đột biến được chứng minh là không phản ứng với TBTGĐTB, vì TBTGĐTB chỉ nhận biết các peptit ban dầu (hình 5-2). Tuy nhiên, các biểu vị ban đầu có thể xuất hiện trở lại. Có thể có 2 hoặc nhiều cộng đồng peptit, một trong số đó thường là thiểu số, ức chế đáp ứng với các biểu vị "bình thường" khác.

Đa số người lớn nhiễm HBV phát triển VG có hay không có triệu chứng sẽ thanh thải virut sau đó. Dưới 5% người lớn nhiễm HBV phát triển tình trạng tồn tại dẫn đến VG mạn. Những người này sẽ chuyển huyết thanh HBeAg thành anti-HBe khoảng 5% mỗi năm. Trong thời gian nhiễm virut mạn, các thay đổi xảy ra khắp bộ gen virut, một vài thay đổi có thể gây né tránh đáp ứng miễn dịch.

3. XẾP LOẠI CÁC BIẾN DỊ HBV

Một số các virut biến dị chỉ thay đổi duy nhất một nucleotit hoặc một aa, nhưng cũng đủ ngăn chặn tổng hợp HBeAg hoặc hủy hoại quyết định a của HBsAg. Các virut biến dị có thể hoặc không thể truyền nhiễm vào một ký chủ mới. Tất cả virut truyền nhiễm và ổn định trong nhiều ký chủ được gọi là nguyên sinh. Khi các virut có một vài biến đổi phân tử thì được gọi là biến dị.

Một số các biến dị quan trọng về mặt lâm sàng là các biến dị đã bị thay đổi kháng nguyên, được gọi là biến dị kháng nguyên. Carman và cs đề nghị các biến dị có thể được xếp loại theo cơ chế sức ép chọn lọc và chia các biến dị HBV làm 2 lớp (bảng 5-1):

- *Các biến dị lớp I:* được dùng cho các biến dị tồn tại tự nhiên, đang phát triển bên trong một cộng đồng ký chủ nhiễm virut. Đây là lớp bao gồm các kiểu gen và kiểu phụ của HBV.

- Các *biến dị lớp II:* xuất hiện do can thiệp y khoa, như điều trị hoặc tiêm chủng.

Bảng 5-1. Danh pháp được đề nghị đối với biến dị HBV[a]

Kiểu biến dị	Thứ tự thông tin trình bày	Thí dụ
Lớp 1		
Các biến dị mà một mẫu đầu tiên lấy từ BN cho thấy không thay đổi vị trí	Nt thấy được/ số nt Tên protein/ chữ aa/số aa	T_{1856} eS15
Lớp 2		
Các đột biến nucleotit quan sát được	Nt thấy trong mẫu đầu/ số nt/nt được thấy ở mẫu thứ 2	$G_{1896}A$
Các thay thế aa quan sát được	Tên protein/aa thấy ở mẫu đầu/số aa/aa thấy ở mẫu 2	sG145R
Xen đoạn	Tên protein/số aa trước khi xen đoạn + danh sách các aa xen đoạn.	s122+TN
	Vị trí nt trước xen đoạn + danh sách các nt bị xen đoạn	1857+TCT
Mất đoạn	Tên protein/┘/số aa đầu tiên mất đoạn-số của vị trí mất đoạn cuối cùng	c┘75-77
	┘/Số của nt đầu tiên mất đoạn-số của nt mất đoạn cuối cùng	┘1878-1881

[a] Tên protein viết bằng chữ thường, các vị trí nucleotit (nt) được đánh số từ điểm EcoR1 và được viết dưới thấp.

4. BIẾN DỊ GEN TIỀN LÕI/LÕI

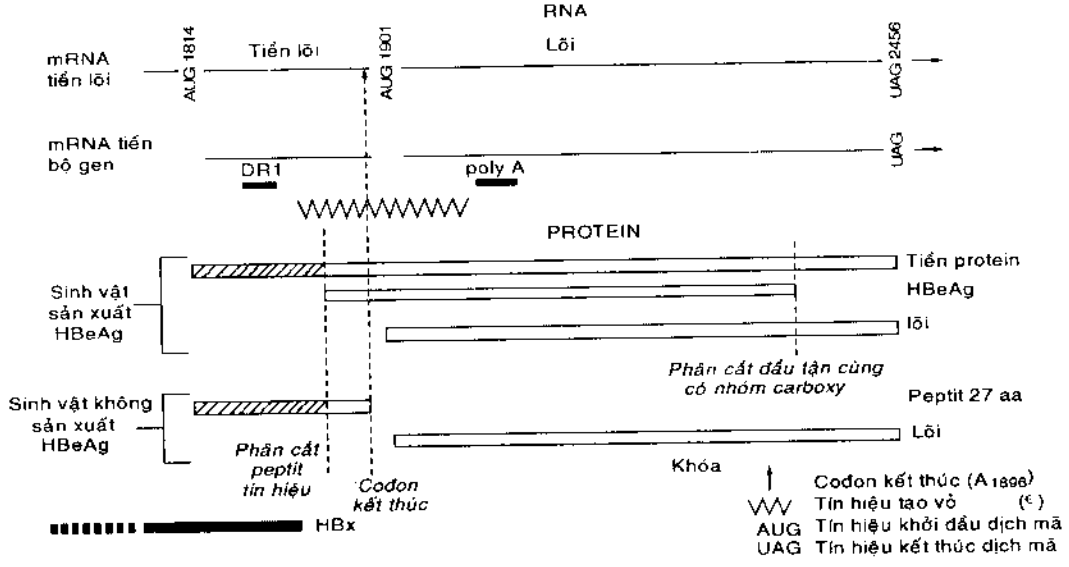
4.1. SINH HỌC CỦA GEN TIỀN LÕI/LÕI

HBeAg là sản phẩm dịch mã của vùng tiền lõi và lõi. HBeAg được tế bào gan nhiễm virut tiết ra do một chuỗi mã tín hiệu bài tiết tại codon khởi đầu dịch mã thứ nhất của vùng tiền lõi (hình 5-3). HBcAg được dịch mã từ codon khởi đầu dịch mã thứ nhì và vì thế có chung phần lớn aa với HBeAg (từ methionin lõi đến đầu tận carboxy của HBeAg khoảng aa 144). Các protein này chứa các biểu vị tế bào B và T, trong đó một số biểu vị được góp chung giữa 2 protein và các protein khác. Việc phát hiện các biểu vị kháng nguyên khác nhau giữa 2 protein, cho dù chúng góp chung khá nhiều aa, được giải thích bằng các khác biệt hình thái liên quan đến peptit tiền lõi 10 aa tại đầu tận amin của HBeAg và vùng giàu arginin của đầu tận carboxy của lõi. Một gốc cystein đơn độc bên trong phần sau của tiền lõi có trách nhiệm làm cho HBeAg không còn khả năng lắp ráp để tạo thành virion.

HBeAg được tiết từ các tế bào nhiễm virut nhưng không là thành phần của virut hoàn chỉnh. Khi mang thai, HBeAg từ người mẹ nhiễm HBV qua lá nhau gây dung

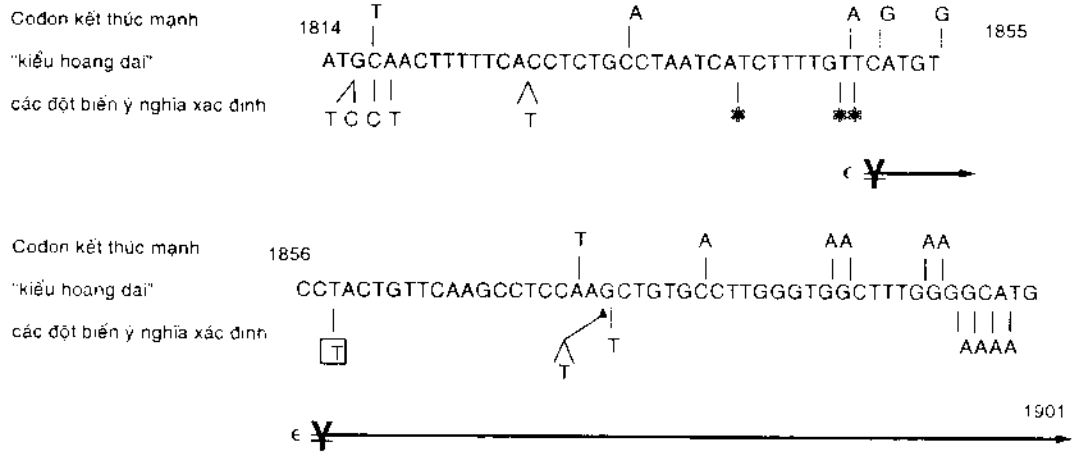
nạp ở trẻ sơ sinh. HBeAg cũng có thể có một chức năng điều biến miễn dịch trong nhiễm virut ở người trưởng thành. HBeAg là protein tan trong nước, trọng lượng phân tử thấp có thể gây tình trạng không đáp ứng miễn dịch, ở mức độ tế bào Th hoặc cả tế bào B. Dung nạp do HBeAg tạo ra che lấp hoàn toàn đáp ứng của tế bào T đối với các biểu vị có nguồn gốc từ HBeAg và HBcAg, làm thải loại tế bào nhiễm HBV không xảy ra. HBeAg có lẽ cũng ảnh hưởng đến đáp ứng ký chủ qua việc điều chỉnh giảm bớt sản xuất IFN-β.

Lưỡng phân (dimer) của HBcAg lắp ráp tự nhiên thành các hạt đồng thời với sự tạo vỏ của mRNA pregenom. Các vùng gắn RNA/DNA tại đầu tận carboxy của HBcAg, cộng với protein polymerase (gắn vào tín hiệu tạo vỏ, được gọi là ε) dính líu trong quá trình này. Bố trí của HBV DNA bên trong hạt hiện chưa rõ. Tín hiệu tạo vỏ (hình 5-4) có yêu cầu chặt chẽ về cấu trúc và chuỗi mã. Bởi thế, biến dị chuỗi mã tiền lõi có thể ảnh hưởng đến tính ổn định của tín hiệu và một tín hiệu không ổn định không phù hợp cho sự sống virut. Thay đổi trong vùng giàu arginin có thể biến đổi phân bố HBcAg trong tế bào gan với các tác dụng mạnh mẽ về sinh học tế bào.



Hình 5-3. *Cấu trúc bộ gen của biến dị HBeAg.*

Có 2 codon khởi đầu dịch mã trong khung "in-frame" (AUG) và một codon kết thúc (UAG) trong gen này. Sản phẩm dịch mã từ codon khởi đầu thứ nhất qua phân cắt phân giải protein của 19 aa từ đầu tận có gốc amin (mất chuỗi mã tín hiệu) và 63 aa từ đầu tận có gốc carboxyl (từ codon 149 trở đi) tạo nên HBeAg. Dịch mã từ codon khởi đầu thứ nhì sản xuất HBcAg, protein cần thiết cho nucleocapsit và lắp ráp virion. Đột biến A_{1896} không dịch mã HBeAg, nhưng tiếp tục sản xuất HBcAg. Khung đọc mở (KĐM) X chồng lên đầu tận 5' của tiền lõi.



Hình 5-4. *Các đột biến tiền lõi-lõi.*

Tất cả codon kết thúc có thể được sinh ra do các đột biến đơn độc là chuỗi mã tiền lõi được phác họa ở hình trên. Phía dưới chuỗi mã là vài biến dị được mô tả, một số hủy hoại codon khởi đầu, một số tạo các xê dịch khung và một số khác dẫn đến các codon kết thúc. Có nhiều vị trí ở đó các codon kết thúc không được quan sát.

4.2. CÁC BIẾN DỊ HBEAG (-) VÀ SỰ TIẾN TRIỂN CỦA VG MẠN

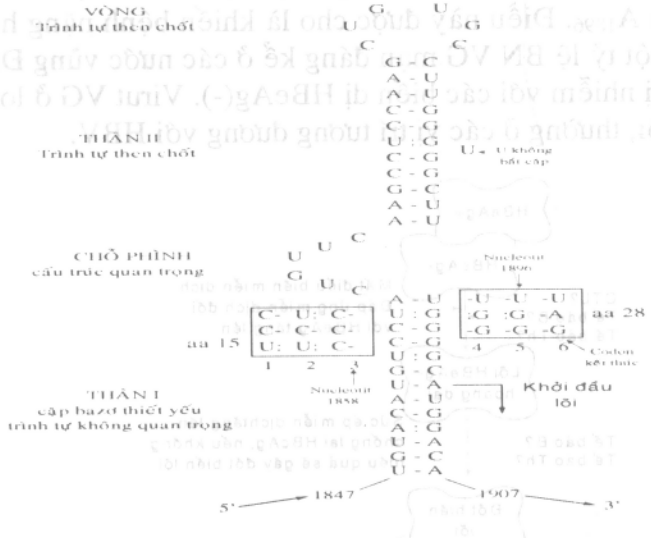
Trong 5% người lớn nhiễm HBV và gần 100% trẻ em sinh ra từ người mẹ nhiễm virut sẽ trở thành người mang HBV mạn, virut huyết có lẽ tồn tại do cảm ứng hoặc mất hoạt tính TBTGĐTB. Khiếm khuyết miễn dịch làm xuất hiện các biến dị HBV chọn lọc từ các đáp ứng thể dịch kháng virut. Virut huyết tồn tại nhiều năm, lúc đầu có rất ít tế bào gan nhiễm virut bị hoại tử viêm. Sau nhiều năm, VG tăng dần, được cho là do bổ sung các thành phần mới của hệ miễn dịch, do biến dị kháng nguyên của protein virut gây nên bởi bộ gen virut đột biến tự nhiên. Các đột biến này do các sai lầm phiên mã của men phiên mã ngược virut.

Vai trò của lympho bào $CD4^+$ trong quá trình này được chứng minh qua một đáp ứng tăng lên của protein nucleocapsit khi chuyển huyết thanh HBeAg/anti-HBe. Các tế bào $CD4^+$ được cho là giúp đỡ các lympho bào B tăng thêm số lượng anti-HBe và anti-HBc. Trong quá trình chuyển huyết thanh, các tế bào nhiễm HBV sao chép bị thải trừ do phân giải kháng thể hoặc do sản xuất cytokin bởi các lympho bào B và CD4. Trong đa số BN, HBsAg tồn tại do một số tế bào chứa các chuỗi mã HBV hòa nhập. Tuy nhiên, bằng PCR, một lượng nhỏ HBV DNA có thể phát hiện trong huyết thanh của NB HBsAg(+), anti-HBe(+) với các xét nghiệm chức năng gan bình thường.

Một số BN nhiễm virut vào lúc sinh hoặc nhiễm vào những năm đầu tiên của cuộc sống từ các thành viên trong gia đình, xuất hiện biến dị HBeAg(-). Biến dị này hay gặp ở đa số BN trong giai đoạn anti-HBe(+) sau chuyển huyết thanh. Từ một chủng sản xuất HBeAg, đột biến A_{1896} được chọn lọc vào lúc chuyển huyết thanh anti-HBe hoặc sau đó. Quá trình có thể cần nhiều năm, trong đó một hỗn hợp cả hai chủng thường gặp. Đây là một trường hợp di truyền bán ngẫu nhiên và chủng thích hợp nhất dưới sức ép miễn dịch sẽ tồn tại.

Các trường hợp VG hoạt động HBeAg(+) có hỗn hợp của các chủng có sản xuất hay không sản xuất HBeAg trong giai đoạn này. Ngược lại, các trường hợp anti-HBe(+) có một hỗn hợp thường gây VG nhẹ.

Một số BN HBeAg(-) về sau virut xuất hiện với nồng độ cao và phát triển bệnh gan nặng hơn thì hiện nay vẫn chưa rõ. Một vài thành phần đáp ứng miễn dịch rõ ràng có trách nhiệm kiểm soát virut trong giai đoạn anti-HBe. Trong quá trình ức chế miễn dịch, ở BN có vài kiểu hình HLA trình diện peptit virut với ái lực thấp và gây một đáp ứng tế bào kém, hoặc vì đột biến bên trong những vùng của virut được nhận biết bởi các tế bào T nhạy cảm gây mất sản xuất các biểu vị liên quan trong sự kiểm soát nhiễm virut, virut xuất hiện trở lại. Trong giai đoạn này, sự thay thế aa trong protein lõi được cho là thường gặp.

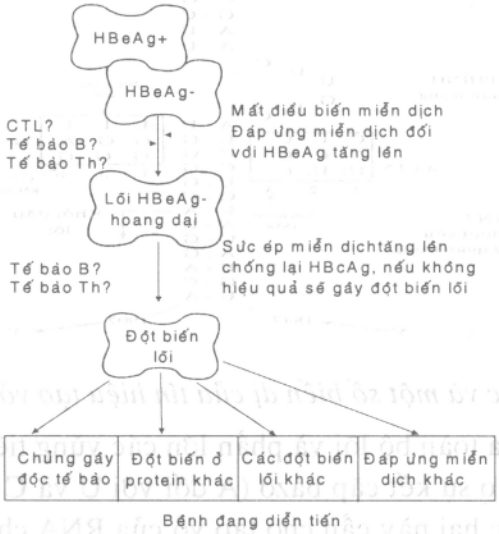


***Hình 5-5**. Cấu trúc và một số biến dị của tín hiệu tạo vỏ RNA pregenom.*

RNA pregenom, chứa toàn bộ lõi và phần lớn các vùng tiền lõi, tạo nên một cấu trúc bậc hai tùy thuộc vào sự kết cặp bazơ (A đối với U và C đối với G) được gọi là thân (stem). Cấu trúc bậc hai này cần cho tạo vỏ của RNA cho các hạt lõi mới sinh. Các vùng không kết cặp tạo thành một chỗ phình và một vòng. Nucleotit 1858 (bazơ thứ ba của aa 15) và 1896 (bazơ thứ nhì của aa 28) đối bên với nhau ở phần thân

trong khi chuỗi mã thứ 3 và CCU mã hóa cho prolin. Chuỗi mã 6 là codon kết thúc ở tiền lõi A_{1896}. Nếu có một kết cặp bazơ không hoàn hảo, như đối với các chuỗi mã 1 và 4, một đột biến khác, như chuỗi mã 2 hoặc 6, sẽ dẫn đến sự bất ổn của nguồn và virut sẽ không tồn tại được.

Hình như sức ép chọn lọc quan trọng là sự hiện diện anti-HBe khi không có một đáp ứng TBTGĐTB đầy đủ, như đa số các biến dị được mô tả cho đến nay xuất hiện trong giai đoạn nhiễm virut muộn có một kiểu hình hay gặp, được gọi là sự bất lực mã hóa tế bào nhiễm virut trong sản xuất HBeAg. Một số các biến dị tiền lõi giúp giải thích hình ảnh huyết thanh này. A_{1896} thay đổi codon 28 từ TGG thành TAG, một codon kết thúc dịch mã. A_{1897} thành TGA, cũng là một codon kết thúc. Các đột biến khác có các tác dụng chức năng tương tự là mất codon khởi đầu dịch mã (ATG thành ACG), đột biến xê dịch khung và đột biến mất đoạn. Tuy hiếm gặp, nhưng có nhiều vị trí bên trong tiền lõi nơi các codon kết thúc có thể được sinh ra bằng các đột biến duy nhất. Lý do của sự kiện này chưa rõ, nhưng có lẽ liên quan đến sự không hiệu quả trong sao chép và tạo vỏ (hình 5-5). Sự thay thế aa tiền lõi đã được phát hiện ở các chủng HBeAg(-), đôi khi kết hợp với A_{1896}. Các nucleotit 1896-1899 có các gốc G, tất cả trong số đó có thể được thay thế bởi A, có lẽ sự hoạt động này của 4 G là một điểm nóng (hotspot) đột biến nơi mà polymerase có thể hòa nhập sai một nucleotit. Hai trong số này, A_{1898} và A_{1899}, ý nghĩa chưa rõ nhưng liên quan chặt chẽ lần lượt với T_{1856} và A_{1896}. Các phối hợp có vẻ liên quan đến các cấu trúc thứ phát của tín hiệu tạo vỏ, nhưng liệu chúng có liên quan lâm sàng không thì chưa rõ. A_{1899} chỉ thấy kết hợp với A_{1896}, gợi ý một sức ép chọn lọc khác được khởi động trên tiền lõi sau khi xuất hiện A_{1896}. Điều này được cho là khiến bệnh nặng hơn, nhưng chưa được chứng minh. Một tỷ lệ BN VG mạn đáng kể ở các nước vùng Địa Trung Hải và ở vùng Viễn Đông bị nhiễm với các biến dị HBeAg(-). Virut VG ở loài sóc đen cũng có các biến dị tiền lõi, thường ở các vị trí tương đương với HBV.



Hình 5-6. *Bệnh sinh trong giai đoạn HBeAg(-).*

Trong lúc nhiễm virut, một cộng đồng biến dị tiền lõi (thường là A_{1896}) xuất hiện không thể sản xuất HBeAg. Do dung nạp hoặc giảm điều biến miễn dịch, nên đáp ứng miễn dịch tăng lên chống lại HBeAg, làm cho virut không sản sinh HBeAg nhưng vẫn sống sót. Cùng lúc ấy, sức ép miễn dịch tăng lên chống lại HBcAg qua trung gian của anti-HBc. Nếu sức ép miễn dịch không hiệu quả, sẽ xuất hiện các biến dị thoát HBcAg.

4.3. SỰ CHỌN LỌC CHUỖI MÃ CỦA CÁC BIẾN DỊ TIỀN LÕI VÀ LÕI

Các biến dị xảy ra ở BN có bệnh tiến triển và cả ở những người chuyển huyết thanh anti-HBe có ALT gan bình thường. Trong trường hợp sau, mức độ virut huyết thấp chỉ được phát hiện bằng PCR. Bệnh nặng hơn trong các trường hợp đột biến là do tác động điều biến miễn dịch của HBeAg đã mất đi, phơi bày tế bào gan cho hoạt tính miễn dịch bình thường (hình 5-6). Hỗn hợp các chủng HBeAg(+) và A_{1896}, hay gặp ở bệnh nhẹ. BN không thể đáp ứng hiệu quả chống HBeAg nên chỉ có bệnh nhẹ và có sức ép miễn dịch trên HBeAg yếu.

4.3.1. Các đột biến tiền lõi

Các đột biến tiền lõi thường gặp trong những trường hợp bệnh nhẹ lẫn bệnh nặng sau chuyển huyết thanh. Biến dị trong gen lõi liên quan đến kiểu gen, và vì thế có các biến dị chủng tộc và địa lý. Có các biểu vị trong HBeAg được nhận biết bởi các kháng thể, các tế bào Th và TBTGĐTB. Một số tác giả đã mô tả các đột biến được chọn lọc trong gen lõi của BN VG mạn tiến triển. Ở các BN Nhật VG mạn HBeAg(+), việc kết cụm lớn hơn các thay thế được ghi nhận giữa aa 84 và 101, so với các BN bệnh nhẹ (hình 5-7). Số lượng các thay thế không lớn, phù hợp với các kết quả ở BN Ý và Hy Lạp có HBeAg(+), là những người có 1 hoặc 2 thay thế các aa. Ở các BN Hàn Quốc chuyển huyết thanh thành anti-HBe, kết cụm còn gặp giữa aa 84 và 101 của HBeAg, cho thấy đây là một vùng sức ép thích hợp ở các BN Viễn Đông. Một phân tích khác cho thấy việc kết cụm trong các biểu vị tế bào B và Th. Các BN Trung Quốc cũng chọn lọc nhiều biến dị trong chuyển huyết thanh anti-HBe hơn trong giai đoạn dung nạp miễn dịch, nhưng không có tương quan chặt chẽ với các biểu vị. Ở các BN anti-HBe(+) Địa Trung Hải có VG nhẹ, rất ít biến đổi. Ngược lại, trung bình 5 hoặc 6 thay thế gặp ở một nhóm anti-HBe(+) có bệnh tiến triển. Trong một phân tích, các thay thế được kết cụm trong các biểu vị tế bào B và Th. Một nghiên cứu chuỗi mã xác nhận phát hiện này với các biểu vị tế bào B nhưng phát hiện một kết hợp yếu với các biểu vị Th. Điều quan tâm là trong các trường hợp chuyển huyết thanh anti-HBe và qua thuyên giảm lâm sàng, nhiều thay thế xảy ra trong biểu vị Th từ aa 50 đến aa 69. Khác với bệnh tiến triển, các đột biến HBcAg cũng tích tụ trong các biểu vị Th ở BN Trung Quốc bị ung thư gan. Tuy nhiên, ở BN Tây Ban Nha, có nhiều biến dị trong và xung quanh biểu vị HLA-A2 lớp 1 từ aa 11 đến 27 và biểu vị tế bào B từ aa 74 đến 83.

Các thay đổi đặc hiệu liên quan đến hậu quả lâm sàng hay không vẫn chưa được biết rõ. Ở các BN Địa Trung Hải, một thay đổi aa threonin thành serin tại aa 12 của lõi (cT12S), rất gần với một biểu vị TBTGĐTB hạn chế HLA-A2 (tuy không có kết hợp với kiểu HLA) liên quan có ý nghĩa đến bệnh tiến triển. Những BN này chọn lọc cT12S chỉ sau khi họ đã chuyển huyết thanh anti-HBe và chọn lọc A_{1896}. Tuy thế, gần như tất cả các BN Nhật HBeAg(+) nhiễm một tiền lõi sản xuất HBeAg, serin được tìm thấy tại aa số 12. Các kết quả mâu thuẫn này từ những vùng địa lý khác nhau là do ký chủ, một yếu tố quan trọng trong diễn tiến virut hoặc do các kiểm chế chức năng trong vài thể phân lập ở Nhật không cho phép biến dị này được chọn lọc. Chọn lọc HBeAg có thể xảy ra khi cả hai G_{1896} và A_{1896} đều hiện diện. Carman và cs cho rằng, một khi A_{1896} được chọn lọc, vì HBeAg có chung các biểu vị tế bào T thường gặp với HBcAg và tác động điều biến miễn dịch của HBeAg đã bị mất, hoạt tính miễn dịch đặt sức ép chọn lọc lên HBcAg.

4.3.2. Các đột biến lõi

Đột biến mất đoạn HBcAg có thể ở ngay trong khung đọc (in-frame) hoặc dẫn đến các codon kết thúc sớm. Mất đoạn HBcAg tại codon kết thúc sớm có thể tồn tại với HBcAg nguyên vẹn để tiếp tục phát triển, nhưng mất đoạn HBcAg trong khung đọc còn bàn cãi. Scaglioni và cs đã chứng minh sao chép HBV bị ức chế gần như hoàn toàn bởi HBcAg bị cắt cụt *in vitro*.

Hai kiểu di truyền khác ở gen C cần đề cập:

- Một đột biến xen đoạn 36-bp được thấy quanh hoặc gồm trong ATG lõi kết hợp với A_{1896}, ở BN nhiễm HIV và người mang HBV được điều trị với interferon. Các xen đoạn có thể xuất hiện độc lập trong một BN bằng tái tổ hợp với tế bào ký chủ hoặc bộ gen HBV khác, hoặc bởi sự kiện cắt ghép không chính thống.

- Các mRNA cắt ghép bất thường có thể có vai trò trong diễn tiến bệnh. 2,2-kb RNA cắt ghép đơn độc dẫn tới việc bài tiết các hạt khiếm khuyết hay gặp trong những BN VG mạn.

Chun và cs cho rằng các đột biến gen khởi đầu lõi không tương quan có ý nghĩa với tình trạng sao chép virut và tổn thương gan ở người nhiễm VG B mạn. Hoạt tính sao chép ở các chủng đột biến tương đương với chủng nguyên sinh. Tuy nhiều chủng có đột biến kép A thành T (1762) và G thành A (1764), trước đây được tin làm tăng sao chép gấp 2 hoặc 3 lần, cũng không thấy có tình trạng sao chép tăng lên. Bệnh gan nặng là do đáp ứng miễn dịch ký chủ hơn là số lượng virut.

4.4. CÁC CƠ CHẾ XUẤT HIỆN

Chọn lọc bằng đáp ứng miễn dịch là cơ chế có khả năng nhất. Khi không có đáp ứng tế bào hiệu quả, chọn lọc bằng sức ép miễn dịch thể dịch là có khả năng nhất.

Mục tiêu có khả năng miễn dịch là HBeAg, khi HBeAg có trên bề mặt tế bào. Sức ép trên HBcAg và HBeAg là do TBTGĐTB chọn lọc virut HBeAg(-). Sức ép chống lại peptit có nguồn gốc từ vùng tiền lõi hơn là lõi. Nếu sức ép chống lại peptit HBc, các tế bào HBeAg(-) cũng như dương tính sẽ bị hủy hoại vì tất cả tế bào đều chứa HBcAg. HBeAg có thể được xử lý thành các peptit khác nhau. HBeAg và HBcAg có thể dẫn đến nhiều đáp ứng Th khác nhau.

Trong nhiều trường hợp, các virut đột biến không còn khả năng sao chép và có ít hoặc không có vai trò nào trong tiến triển virut (hình 5-8). Truyền nhiễm thường xảy ra trong nhiễm virut cấp hoặc giai đoạn HBeAg(+) khi gen lõi tương đối được bảo tồn. Tuy nhiên, chuỗi mã A_{1896} có thể bị truyền đi và trong một số trường hợp hiếm, có thể truyền các chuỗi mã A_{1896} có lõi đột biến cùng với gen X gây các hậu quả nặng nề như VG kịch phát. Ngay ở những người mang mạn tính, đã có bằng chứng những người này không có giai đoạn HBeAg(+), có nhiều khả năng có các chủng A_{1896}. Vì thế, truyền nhiễm mới có thể thường gặp hơn.

Không như tất cả biến dị ảnh hưởng đến sự dịch mã HBeAg, biến dị tiền lõi được phân bố trong các kiểu gen đặc biệt. Quan sát cấu trúc bậc hai RNA của tín hiệu tạo vỏ phát hiện một thân (stem) thấp hơn bảo tồn cao gồm các nucleotit 1856, 1858, 1896 và 1899. Các thí nghiệm sinh đột biến đã chứng minh sự bắt cặp bazơ quan trọng trong vùng này và nhiều nhóm sau đó xác định các biến dị quan sát trên lâm sàng. Các virut có cấu trúc thân-vòng không ổn định sẽ không tạo vỏ RNA pregenom, và vì thế, không cạnh tranh thành công với các chủng khác. Sự loại trừ lẫn nhau của A_{1896} và T_{1856} chứa các chủng được giải thích bởi tính bất ổn của thân như T_{1856} luôn được tìm thấy với C_{1858}, đối lập với A_{1896} trên thân. Ở các BN anti-HBe(+), các chủng C_{1858} có vẻ gây bệnh hơn các chủng A_{1896}. A_{1896} không hay gặp ở BN kiểu gen A. Ở người da đen Nam Phi, một đột biến sai ở chỗ phình của tín hiệu tạo vỏ trong 24% người mang HBcAg(-) có thể dẫn đến một tác động chức năng trên sự mẫn cảm ban đầu của phiên mã ngược. Tuy nhiên, tỷ lệ HBeAg(+) thấp trong cộng đồng chưa được giải thích. Có nhiều khả năng là do một đáp ứng miễn dịch đặc hiệu trên cơ sở chủng tộc.

Phân tích chuỗi mã DNA virut ở BN không đáp ứng với kích thích peptit cho thấy tính không đáp ứng TBTGĐTB không do nhiễm các biến dị virut khác biệt trong các chuỗi mã với các peptit tổng hợp. TBTGĐTB đặc hiệu cho một trong các biểu vị không thể nhận biết nhiều biến dị virut xảy ra tự nhiên, trừ khi nồng độ peptit cao, nhấn mạnh đến độ đặc hiệu kiểu phụ HBV của đáp ứng này. Ngược lại với bệnh tự giới hạn cấp, đáp ứng TBTGĐTB ở HBV mạn thường yếu. Nếu đáp ứng mạnh này là đơn đặc hiệu, cơ may chọn lọc virut đột biến tại giai đoạn này sẽ tăng mạnh. Trong trường hợp này, các đột biến bên trong các biểu vị then chốt sẽ bảo vệ tế bào nhiễm virut khỏi phân giải bởi TBTGĐTB.

Sự đối kháng sẽ bảo vệ tế bào nhiễm virut không bị phân giải bởi TBTGĐTB đặc hiệu biểu vị nguyên mẫu, qua đó cho phép virut biến dị có thời gian sao chép và gây nhiễm các tế bào khác. Điều này tùy thuộc vào cytokin được phóng thích bởi các tế bào gan bị thâm nhiễm, nhưng không thải trừ virut biến dị trước khi có nguy cơ lan tỏa. Cùng lúc đó, virut nguyên mẫu cũng sẽ lan tỏa nhưng sẽ bị loại bởi TBTGĐTB đặc hiệu với virut này.

- Nếu virut biến dị sinh miễn dịch mạnh, nó sẽ mẫn cảm một đáp ứng TBTGĐTB mới và nếu đủ hiệu quả, có thể làm sạch virut đột biến.

- Nếu biểu vị mới sinh miễn dịch kém, đáp ứng TBTGĐTB sẽ không làm sạch virut mới và virut có thể tồn tại. Một kết quả như thế có thể lợi cho virut lẫn ký chủ. Kết quả này cho phép virut sống sót và nếu đột biến làm cho sự nhận biết khiếm khuyết hoàn toàn bởi TBTGĐTB, sẽ không có tổn thương tế bào thêm và bệnh sẽ thuyên giảm tạo nên tình trạng người mang HBV bất hoạt.

Các nghiên cứu dùng các phương pháp phát hiện TBTGĐTB cải tiến cho phép quét toàn bộ TBTGĐTB đặc hiệu HBV, được thực hiện để đánh giá tần số thoát TBTGĐTB ở BN nhiễm virut mạn, cho thấy các biểu vị TBTGĐTB có thể gối lên các vùng then chốt của bộ gen. Các tín hiệu định vị nhân và tín hiệu tạo vỏ của HBcAg từ 141 đến 151 có chứa biểu vị TBTGĐTB nhận biết bởi HLA-A31 và TBTGĐTB giới hạn HLA-Aw68. Tương tự, một chuỗi mã quan trọng trong vùng xuyên màng của HBsAg gối lên một biểu vị TBTGĐTB giới hạn HLA-A2 ở giữa gốc 250 đến 269. Các đột biến trong các biểu vị này sẽ làm chết virut và vì thế không phù hợp với đột biến thoát từ nhánh của hệ miễn dịch.

Các đột biến bên trong các biểu vị riêng biệt sẽ ảnh hưởng đến đáp ứng cytokin đối với virut. Ở chuột chuyển gen sao chép HBV, TBTGĐTB có thể làm sạch virut hoạt động bằng một cơ chế sau phiên mã qua trung gian bởi IFN-γ và yếu tố hoại tử u α (TNF-α). Nếu cytokin có tác động mạnh, một hiệu quả kháng virut trong nhiễm HBV tự nhiên như được quan sát trong mẫu chuột chuyển gen, vùng này cho thấy nhiều ích lợi trong giải thích sự tồn tại của virut và bệnh đang diễn tiến.

4.5. CÁC BIẾN DỊ VÀ BỆNH MẠN TÍNH ĐANG TIẾN TRIỂN

Đột biến HBcAg: không làm tăng sao chép, không xảy ra bùng phát và vì thế, không làm bệnh gan nặng thêm. Các biến dị virut có lẽ dễ bị tấn công bởi các nhánh đáp ứng miễn dịch khác, như các tế bào giết tự nhiên (TBGTN, NK).

Đột biến ở polymerase hay HBx: có thể luân phiên nhau với mỗi đỉnh transaminase, cuối cùng, các chủng biến dị có lẽ trực tiếp gây bệnh tế bào.

Đột biến HBeAg: BN biểu hiện một thể nhiễm HBV nặng như VG kịch phát (VGKP) hoặc người đã nhận gan ghép có thể có nhiều đột biến ở đầu tận carboxy của HBeAg. Các đột biến ở đầu tận carboxy ít gặp trong VG mạn ngoại trừ trong vùng giàu arginin liên quan đến sự gắn kết RNA (aa 150 đến 154).

Mục tiêu có khả năng miễn dịch là HBeAg, khi HBeAg có trên bề mặt tế bào. Sức ép trên HBcAg và HBeAg là do TBTGĐTB chọn lọc virut HBeAg(-). Sức ép chống lại peptit có nguồn gốc từ vùng tiền lõi hơn là lõi. Nếu sức ép chống lại peptit HBc, các tế bào HBeAg(-) cũng như dương tính sẽ bị hủy hoại vì tất cả tế bào đều chứa HBcAg. HBeAg có thể được xử lý thành các peptit khác nhau. HBeAg và HBcAg có thể dẫn đến nhiều đáp ứng Th khác nhau.

Trong nhiều trường hợp, các virut đột biến không còn khả năng sao chép và có ít hoặc không có vai trò nào trong tiến triển virut (hình 5-8). Truyền nhiễm thường xảy ra trong nhiễm virut cấp hoặc giai đoạn HBeAg(+) khi gen lõi tương đối được bảo tồn. Tuy nhiên, chuỗi mã A_{1896} có thể bị truyền đi và trong một số trường hợp hiếm, có thể truyền các chuỗi mã A_{1896} có lõi đột biến cùng với gen X gây các hậu quả nặng nề như VG kịch phát. Ngay ở những người mang mạn tính, đã có bằng chứng những người này không có giai đoạn HBeAg(+), có nhiều khả năng có các chủng A_{1896}. Vì thế, truyền nhiễm mới có thể thường gặp hơn.

Không như tất cả biến dị ảnh hưởng đến sự dịch mã HBeAg, biến dị tiền lõi được phân bố trong các kiểu gen đặc biệt. Quan sát cấu trúc bậc hai RNA của tín hiệu tạo vỏ phát hiện một thân (stem) thấp hơn bảo tồn cao gồm các nucleotit 1856, 1858, 1896 và 1899. Các thí nghiệm sinh đột biến đã chứng minh sự bắt cặp bazơ quan trọng trong vùng này và nhiều nhóm sau đó xác định các biến dị quan sát trên lâm sàng. Các virut có cấu trúc thân-vòng không ổn định sẽ không tạo vỏ RNA pregenom, và vì thế, không cạnh tranh thành công với các chủng khác. Sự loại trừ lẫn nhau của A_{1896} và T_{1856} chứa các chủng được giải thích bởi tính bất ổn của thân như T_{1856} luôn được tìm thấy với C_{1858}, đối lập với A_{1896} trên thân. Ở các BN anti-HBc(+), các chủng C_{1858} có vẻ gây bệnh hơn các chủng A_{1896}. A_{1896} không hay gặp ở BN kiểu gen A. Ở người da đen Nam Phi, một đột biến sai ở chỗ phình của tín hiệu tạo vỏ trong 24% người mang HBcAg(-) có thể dẫn đến một tác động chức năng trên sự mẫn cảm ban đầu của phiên mã ngược. Tuy nhiên, tỷ lệ HBeAg(+) thấp trong cộng đồng chưa được giải thích. Có nhiều khả năng là do một đáp ứng miễn dịch đặc hiệu trên cơ sở chủng tộc.

Phân tích chuỗi mã DNA virut ở BN không đáp ứng với kích thích peptit cho thấy tính không đáp ứng TBTGĐTB không do nhiễm các biến dị virut khác biệt trong các chuỗi mã với các peptit tổng hợp. TBTGĐTB đặc hiệu cho một trong các biểu vị không thể nhận biết nhiều biến dị virut xảy ra tự nhiên, trừ khi nồng độ peptit cao, nhấn mạnh đến độ đặc hiệu kiểu phụ HBV của đáp ứng này. Ngược lại với bệnh tự giới hạn cấp, đáp ứng TBTGĐTB ở HBV mạn thường yếu. Nếu đáp ứng mạnh này là đơn đặc hiệu, cơ may chọn lọc virut đột biến tại giai đoạn này sẽ tăng mạnh. Trong trường hợp này, các đột biến bên trong các biểu vị then chốt sẽ bảo vệ tế bào nhiễm virut khỏi phân giải bởi TBTGĐTB.

Sự đối kháng sẽ bảo vệ tế bào nhiễm virut không bị phân giải bởi TBTGĐTB đặc hiệu biểu vị nguyên mẫu, qua đó cho phép virut biến dị có thời gian sao chép và gây nhiễm các tế bào khác. Điều này tùy thuộc vào cytokin được phóng thích bởi các tế bào gan bị thâm nhiễm, nhưng không thải trừ virut biến dị trước khi có nguy cơ lan tỏa. Cùng lúc đó, virut nguyên mẫu cũng sẽ lan tỏa nhưng sẽ bị loại bởi TBTGĐTB đặc hiệu với virut này.

- Nếu virut biến dị sinh miễn dịch mạnh, nó sẽ mẫn cảm một đáp ứng TBTGĐTB mới và nếu đủ hiệu quả, có thể làm sạch virut đột biến.

- Nếu biểu vị mới sinh miễn dịch kém, đáp ứng TBTGĐTB sẽ không làm sạch virut mới và virut có thể tồn tại. Một kết quả như thế có thể lợi cho virut lẫn ký chủ. Kết quả này cho phép virut sống sót và nếu đột biến làm cho sự nhận biết khiếm khuyết hoàn toàn bởi TBTGĐTB, sẽ không có tổn thương tế bào thêm và bệnh sẽ thuyên giảm tạo nên tình trạng người mang HBV bất hoạt.

Các nghiên cứu dùng các phương pháp phát hiện TBTGĐTB cải tiến cho phép quét toàn bộ TBTGĐTB đặc hiệu HBV, được thực hiện để đánh giá tần số thoát TBTGĐTB ở BN nhiễm virut mạn, cho thấy các biểu vị TBTGĐTB có thể gối lên các vùng then chốt của bộ gen. Các tín hiệu định vị nhân và tín hiệu tạo vỏ của HBcAg từ 141 đến 151 có chứa biểu vị TBTGĐTB nhận biết bởi HLA-A31 và TBTGĐTB giới hạn HLA-Aw68. Tương tự, một chuỗi mã quan trọng trong vùng xuyên màng của HBsAg gối lên một biểu vị TBTGĐTB giới hạn HLA-A2 ở giữa gốc 250 đến 269. Các đột biến trong các biểu vị này sẽ làm chết virut và vì thế không phù hợp với đột biến thoát từ nhánh của hệ miễn dịch.

Các đột biến bên trong các biểu vị riêng biệt sẽ ảnh hưởng đến đáp ứng cytokin đối với virut. Ở chuột chuyển gen sao chép HBV, TBTGĐTB có thể làm sạch virut hoạt động bằng một cơ chế sau phiên mã qua trung gian bởi IFN-γ và yếu tố hoại tử u α (TNF-α). Nếu cytokin có tác động mạnh, một hiệu quả kháng virut trong nhiễm HBV tự nhiên như được quan sát trong mẫu chuột chuyển gen, vùng này cho thấy nhiều ích lợi trong giải thích sự tồn tại của virut và bệnh đang diễn tiến.

4.5. CÁC BIẾN DỊ VÀ BỆNH MẠN TÍNH ĐANG TIẾN TRIỂN

Đột biến HBcAg: không làm tăng sao chép, không xảy ra bùng phát và vì thế, không làm bệnh gan nặng thêm. Các biến dị virut có lẽ dễ bị tấn công bởi các nhánh đáp ứng miễn dịch khác, như các tế bào giết tự nhiên (TBGTN, NK).

Đột biến ở polymerase hay HBx: có thể luân phiên nhau với mỗi đỉnh transaminase, cuối cùng, các chủng biến dị có lẽ trực tiếp gây bệnh tế bào.

Đột biến HBeAg: BN biểu hiện một thể nhiễm HBV nặng như VG kịch phát (VGKP) hoặc người đã nhận gan ghép có thể có nhiều đột biến ở đầu tận carboxy của HBcAg. Các đột biến ở đầu tận carboxy ít gặp trong VG mạn ngoại trừ trong vùng giàu arginin liên quan đến sự gắn kết RNA (aa 150 đến 154).

Một vài biến dị của vùng gắn kết nhân: gặp trong các thể phân lập tự nhiên cũng như các chủng sinh ra *in vitro*, dẫn đến tái phân bố nguyên sinh chất sau biểu hiện *in vitro*. Tầm quan trọng của các thay đổi này hiện chưa rõ.

Đột biến mất đoạn pre-S1: có thể gây độc tế bào.

4.6. CÁC BIẾN DỊ HBeAg (-) VÀ VGKP

Các yếu tố virut liên can đến VGKP có nhiều bằng chứng dịch tễ học hơn là các yếu tố phụ thuộc vào đáp ứng miễn dịch đối với một chủng virut "bình thường". Đặc biệt những người HBeAg(-) thường thấy nhiễm A_{1896} vào lúc lấy mẫu. BN VGKP thường liên quan đến các chủng biến dị sao chép trong một ký chủ mới, trong đó có biến dị tiền lõi. Nhiễm virut mới với đột biến tiền lõi có thể gây sao chép nhanh, lan tỏa khắp gan và kích thích làm tăng hoạt động miễn dịch. HBeAg(-) gây khiếm khuyết điều biến miễn dịch cũng góp phần vào quá trình này. Kết quả là phân giải nhanh một lượng lớn tế bào nhiễm HBV. Bệnh sinh VGKP ở trẻ sơ sinh và các chủng A_{1896} ở trẻ em ít khi gây tình trạng mang mạn tính, có thể giải thích về sự vắng mặt của tác nhân điều biến miễn dịch là HBeAg.

Tuy biến dị A_{1896} thường gặp, không có nghĩa là chính biến dị này gây VGKP. Thật vậy, nhiều chủng phân lập có thể có A_{1896} với nhiều hậu quả khác nhau.

Sự xác định chuỗi mã bộ gen của 2 chủng dịch tễ không liên quan đến VGKP, cả hai đều có A_{1896} phát hiện các thay thế trong các thành phần tác động *cis*. Đặc biệt, các thành phần này được kết cụm vào 2 vùng bên trong gen khởi đầu lõi cơ bản/gen tăng cường II, và liên quan với các vùng gắn các chất trích nhân (hình 5-9). Việc kết cụm các thay thế bên trong gen đã được xác định trong các nghiên cứu khác. Hiệu quả phiên mã tăng lên làm nồng độ HBV DNA được sản xuất rất cao và có thể gây đáp ứng miễn dịch ồ ạt ở BN làm bệnh nặng hơn. Trong các thực nghiệm *in vitro* cho thấy tuy bộ gen A_{1896} không có hiệu quả sao chép cao, nhưng có thể liên kết với một bộ gen của BN VGKP, T_{1762} và A_{1764} làm HBV DNA tăng lên rất cao, tác động chính trên sự tạo vỏ. Biến dị tại nucleotit 1766 và 1768 hình như quan trọng trong quá trình này, cho thấy có một vùng khác bên ngoài ε dính líu gián tiếp trong sự tạo vỏ. Carman và cs đã hoàn tất một phân tích phát sinh chủng loài chi tiết gồm 20 chuỗi mã VGKP mới không liên quan về dịch tễ và phát hiện 6 cụm chủng kịch phát, mỗi chủng có các kiểu đột biến riêng.

Nhiều tác giả đã chứng minh không có biến dị duy nhất nào kết hợp đặc hiệu với VGKP, nhưng sự kết hợp của các biến dị nucleotit trong các vùng gen tăng cường/gen khởi đầu cộng với sự thay thế aa trong HBx gần như luôn luôn kết hợp với VGKP. Các đột biến ngoài kiểu gen thông thường cũng quan trọng. Các chủng A_{1896} với sự kết hợp như thế được thấy trong VGKP, giải thích vì sao gặp A_{1896} nhiều nhưng gặp VGKP ít hơn. Tỷ lệ sao chép của bộ gen VGKP tăng cao cũng đã được chứng minh. Các chủng VGKP liên quan đến A_{1896} gặp 2 đến 3 lần lớn hơn các chuỗi mã VGKP không A_{1896} và các chuỗi mã A_{1896} không VGKP. Cuối cùng,

oligonucleotit chứa chuỗi mã biến dị không gắn kết vào các yếu tố phiên mã nhân, cho thấy một cơ chế bệnh sinh chủ yếu trong VG kịch phát là mất ức chế phiên mã.

Sự phát hiện những biến dị trong các vùng tác động *cis* và protein X cũng liên quan đến VGKP. Giả thuyết có giá trị là giả thuyết có nhiều cách sao chép tăng cường có thể gây ra VGKP trong một ký chủ có tố bẩm di truyền.

4.7. CÁC BIẾN DỊ HBe Ag (-) VÀ VG CẤP KHÔNG KỊCH PHÁT

Tỷ lệ của đột biến tiền lõi trong VG cấp, không kịch phát hiện chưa rõ. Sự chọn lọc các chủng A_{1896} xảy ra trong nhiễm virut cấp anti-HBe tác động một sức ép chọn lọc ban đầu, sau đó là thải trừ virut HBeAg(-) bằng các cơ chế miễn dịch khác, có thể là TBTGĐTB. Tuy nhiên, nhiều BN không có quá trình này trong VG cấp mà đôi khi phải cần nhiều năm mới xuất hiện các biến dị tiền lõi. Ở BN VG cấp và có tình trạng virut huyết HBeAg(-), vật cấy ban đầu có thể hỗn hợp chứa cả virut HBeAg(-) và(+), và ở BN không có tình trạng virut huyết HBeAg(-), vật cấy ban đầu có thể chứa virut HBeAg(+) vì sức ép chọn lọc quá ngắn không đủ thời gian chọn lọc biến dị tiền lõi. Carman và cs đã thấy một cặp trường hợp người lớn trong đó người mang mạn tính truyền A_{1896} ở thể tinh khiết (không có G_{1896}, trong 40 clon) gây VG cấp điển hình với chuyển huyết thanh anti-HBe mà không có giai đoạn HBeAg(+). Điều này cho thấy anti-HBe phản ứng chéo với các biểu vị HBcAg và A_{1896} có thể có một mặt bằng bệnh tật tương tự như các virut G_{1896}

4.8. VIÊM GAN Ứ MẬT XƠ HOÁ

VG ứ mật xơ hóa xảy ra sau ghép gan, đôi khi sau ghép thận và trong nhiễm HIV. Yếu tố thúc đẩy VG ứ mật xơ hóa là ức chế miễn dịch. Các BN có diễn tiến kịch phát và trong các tế bào gan có các kháng nguyên HBs và HBc. Tuy các biến dị tiền lõi và biến dị HBc thường kết hợp với VG ứ mật xơ hoá, nhưng các đột biến gây tích tụ bên trong tế bào thì vẫn còn bàn cãi. Thể VG này là do tổn thương hoại tử tế bào hay do miễn dịch vẫn còn tranh luận. Nhất là các đột biến tạo ra các protein bị cắt cụt, mất các chuỗi mã tín hiệu bài tiết, đã có thể tác động độc trên tế bào. Hiện vẫn chưa rõ do ức chế miễn dịch làm tăng quá mức các virut "bất thường" hoặc do chọn lọc các virut đột biến mới.

4.9. CÁC BIẾN DỊ HBe Ag (-) VÀ ĐIỀU TRỊ INTERFERON

Các BN vùng Địa Trung Hải có HBsAg(+), anti-HBe(+) và HBV DNA(+) bị VG mạn thường đáp ứng kém với interferon (IFN). Nhưng nếu có đáp ứng thì lại hay tái phát. IFN khuếch đại hoạt động miễn dịch chống lại các tế bào gan nhiễm virut, có lẽ bằng việc tăng cường biểu hiện PHPHTCC và vì thế trình diện các peptit cho các TBTGĐTB. Các BN HBeAg(+) đáp ứng với IFN có bằng chứng của hoạt động miễn dịch, được thấy qua nồng độ ALT tăng và HBV DNA thấp. Các BN ở giai đoạn này có thể có các cộng đồng biến dị nhỏ HBeAg(-). Một nghiên cứu cho thấy các NB có đột biến tiền lõi trong giai đoạn HBeAg(+) có nhiều khả năng đáp ứng với IFN. Các chủng chứa T_{1896} thường đáp ứng rất kém với IFN so với A_{1896} hoặc G_{1896}/C_{1896},

nhưng nhận xét này còn cần xác định thêm. Hơn nữa, BN anti-HBe(+) có C_{1858} (thường kết hợp với T_{1856}) có hiện tượng viêm và xơ hóa rõ hơn BN có A_{1896}. Trong các trường hợp HBeAg(+) đáp ứng với IFN, có nhiều kiểu codon kết thúc, codon khởi đầu và các thay thế aa tăng lên. Một nghiên cứu cũng so sánh tần số chọn lọc đột biến sau liệu pháp IFN thành công với chuyển huyết thanh anti-HBe tự nhiên. Trong các trường hợp chuyển huyết thanh do liệu pháp IFN, đột biến ít gặp và xuất hiện chậm hơn .

Các biến dị tiền lõi tác động đến hiệu quả điều trị ở NB VG B mạn anti-HBe(+) còn cần được xác định. Một nhóm đã chứng minh đột biến A_{1896} và A_{1899} có một đáp ứng tương đối kém, nhưng hai nhóm khác cho rằng đột biến tiền lõi trước điều trị không ảnh hưởng đến kết quả. Carman và cs cũng cho rằng không cần xác định chuỗi mã vùng tiền lõi trước khi điều trị để xác định khả năng đáp ứng. Biến dị chuỗi mã HBeAg hay gặp trong các BN anti-HBe(+) không đáp ứng. Giả thuyết được chứng minh bằng phát hiện biến dị trong biểu vị HLA-A2 TBTGĐTB hay gặp ở những người không đáp ứng với IFN. Tuy nhiên, không có liên quan nào được phát hiện ở các BN Trung Quốc .

4.10. BIẾN DỊ TIỀN LÕI SẢN XUẤT HBeAg

Một prolin của vùng tiền lõi tại aa 15 bị thay thế bởi serin (do thay thế C thành T ở 1856; T_{1856}) có thể gặp ở 3 vùng trên thế giới. Đột biến này nằm trong peptit tín hiệu và vì thế được tách từ protein tiền chất HBeAg trong quá trình biến đổi sau dịch mã để tạo thành HBeAg. Đột biến được gặp tình cờ trong khi xác lập chuỗi mã bộ gen HBV toàn phần của một BN HIV(+) có mặt bằng huyết thanh lạ. Các tác giả nghĩ rằng có thể liên quan đến đáp ứng anti-HBe kém gặp ở BN này, nhưng không có bằng chứng.

Biến dị được quan sát ở người Canada không phải gốc Hoa và cả ở BN Hồng Kông gốc Hoa bị VG mạn. T_{1856} hoặc A_{1896} được thấy khoảng 50% trong mỗi cộng đồng Trung Quốc được nghiên cứu, nhưng vì chúng ở hai bên đối diện của tín hiệu tạo vỏ, các biến dị này loại trừ lẫn nhau. T_{1856} được thấy trong giai đoạn HBeAg và cả anti-HBe(+) của bệnh, hoàn toàn không giống hình ảnh thông thường với A_{1896}. Một nghiên cứu lâu dài trong giai đoạn anti-HBe(+), đột biến A_{1896} không được chọn lọc ở những người có T_{1856}. Phân tích các gen lõi thấy các chủng này là các chuỗi thế hệ độc lập có thể được truyền trong các gia đình.

4.11. CÁC ĐỘT BIẾN MẤT ĐOẠN GEN LÕI Ở TRẺ EM

Tổn thương gan là do hậu quả của tương tác giữa HBV và đáp ứng miễn dịch ký chủ. Trong quá trình nhiễm HBV mạn tự nhiên, HBcAg được mã hóa bởi gen HBV lõi là một đích quan trọng trong sự phân giải qua trung gian tế bào lympho T của tế bào gan nhiễm virut. Ý nghĩa của HBcAg trong sự hoạt hóa đáp ứng tế bào lympho

T được chứng minh bằng cách quan sát các tế bào lympho $CD4^+$ và $CD8^+$ đặc hiệu HBcAg ở trong máu ngoại vi và gan của BN nhiễm HBV mạn.

Các báo cáo đã chứng minh các đột biến gen lõi xuất hiện trong nhiễm HBV mạn, nhất là trong giai đoạn thải trừ HBeAg. Vì HBcAg là mục tiêu đối với TBTGĐTB, các đột biến gen lõi có thể là các đột biến thoát được chọn lọc bởi đáp ứng miễn dịch ký chủ nhắm vào HBV nguyên sinh. Các đột biến mất đoạn gen lõi trong các đột biến thoát đã được xác định ở một số BN. Các đột biến mất đoạn gen lõi kết hợp với giảm tình trạng virut huyết và chuyển huyết thanh HBeAg vẫn còn tranh cãi. Mặt khác, tất cả các nghiên cứu trước đây về các đột biến này được thực hiện ở BN người lớn và chưa bao giờ thực hiện trên trẻ em. Các đột biến này cũng được cho là các hạt gây nhiễu khiếm khuyết ức chế sự sao chép của virut nguyên sinh. Ni và cs tuyển chọn 365 trẻ nhiễm HBV mạn để nghiên cứu các đột biến mất đoạn gen lõi theo thời gian (bảng 5-2). Đây là một cộng đồng nghiên cứu thuần tập qui mô lớn và lâu dài với thời gian theo dõi trung vị hơn 10 năm. Các mẫu huyết thanh được lấy hàng loạt và các trường hợp dương được phân tích chuỗi mã nucleotit HBV DNA. Kết quả như sau:

Bảng 5-2. Các yếu tố có thể kết hợp với sự xuất hiện các đột biến mất đoạn gen lõi HBV

Các yếu tố	Số trường hợp	Số đột biến (%)	p
Chuyển huyết thanh			0,0013
Có	169	15 (8,9%)	
Không	196	3 (1,5%)	
Mẹ mang HBsAg			
Có	227	6 (2,6%)	0,04
Không	138	12 (8,7%)	

5. BIẾN DỊ PROTEIN HBsAg

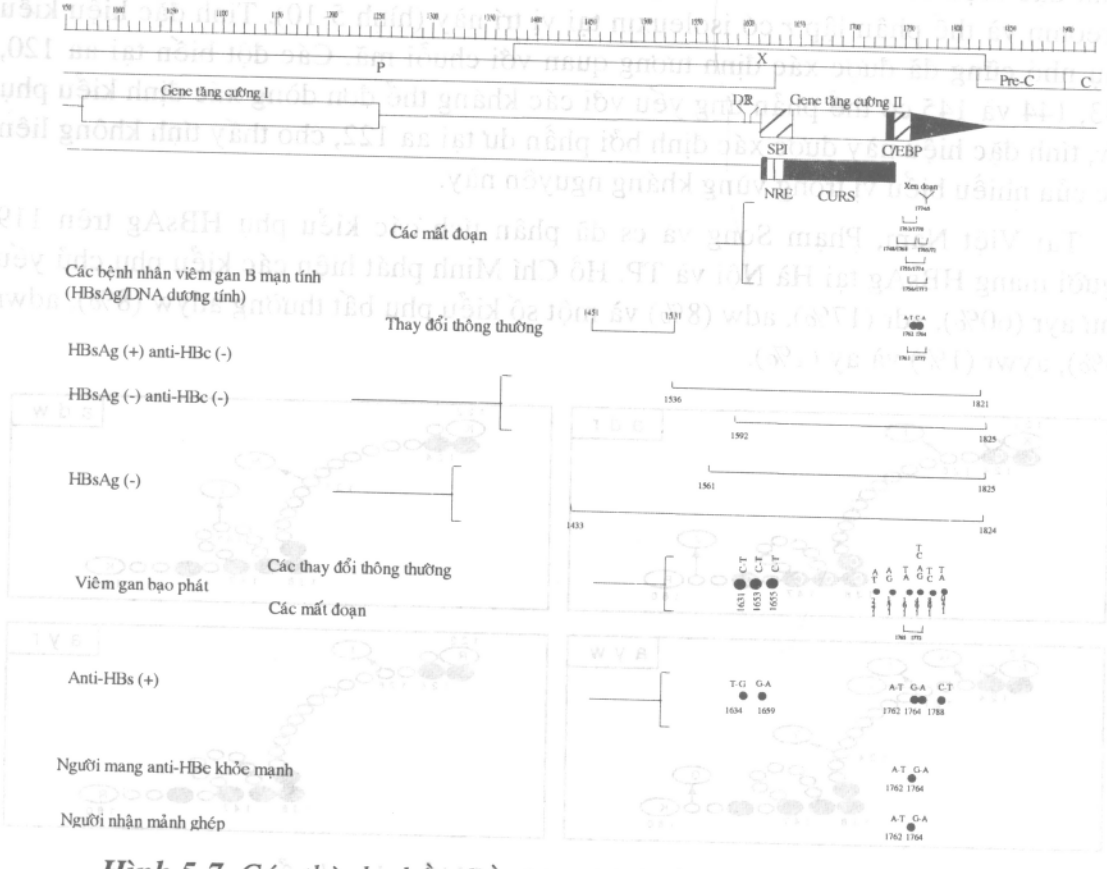
Đáp ứng anti-HBs sau nhiễm virut hoặc tiêm chủng bao gồm chủ yếu các kháng thể nhận biết vùng ưa nước chính. Các trường hợp phân lập virut có các biến dị HBV trong vùng này, được dự báo thoát khỏi sự trung hòa bằng các kháng thể. Một số trường hợp nhiễm virut có thể đã được bỏ qua vì các xét nghiệm huyết thanh hiện nay không có khả năng phát hiện các thể biến dị HBsAg. Các biến dị thoát khỏi sự trung hòa bởi anti-HBs đơn dòng và đa dòng đã được chọn lọc trong dự phòng miễn dịch của HBV trong ghép gan và ở những người được tiêm chủng chủ động hoặc thụ động sau sinh ra từ người mẹ nhiễm HBV.

5.1. GEN BỀ MẶT VÀ CÁC KIỂU PHỤ

Một KĐM duy nhất chiếm hơn 1/3 của bộ gen HBV mã hóa 3 polipeptit chứa HBsAg. Các protein này bảo tồn cao ở mức độ aa với các vùng biến đổi. Vùng bên

trong pre-S1 (aa 21-47) dính líu việc gắn kết vào tế bào gan được bảo tồn cao. Trên cơ sở sự gắn kháng thể–peptit, các thí nghiệm gây nhiễm hắc tinh tinh cũng như sinh đột biến *in vitro* cho thấy sự gắn kết này ở vùng kháng nguyên của protein vỏ ngoài nhỏ chứa 2 vòng tạo thành từ các cầu disulfit giữa cysteine 124/137 và 139/147. Tính sinh kháng nguyên của HBsAg phụ thuộc vào cấu trúc bậc ba của protein. Ái lực của huyết thanh của người anti-HBs(+) đối với peptit thẳng (aa 139-147) cao hơn peptit ở aa 124-137. Các nghiên cứu gần đây dùng thư viện biểu vị phage cho thấy chỉ có vòng (loop) thứ nhì có thể là lý tưởng và vòng thứ nhất được hòa nhập vào một vòng lớn hơn ở aa 107-138. Có một vòng nhỏ giữa cystein 121 và 124. Tầm quan trọng của cystein bảo tồn cao trong protein S đối với sự bài tiết và tính sinh kháng nguyên đã được xem xét lại gần đây.

Một số các quyết định kháng nguyên của chuỗi mã bộ gen HBV đã được xác định. Quyết định *a* thường gặp ở tất cả các chủng, nhưng các giới hạn chưa được xác định rõ. Các kiểu phụ của HBsAg đều chứa quyết định a và được xác định bằng cách dùng kháng huyết thanh đơn đặc hiệu thích hợp. Các biến dị địa lý đa số có thể xảy ra qua áp lực dân số hàng thiên niên kỷ, có lẽ dưới ảnh hưởng của kiểu PHPHTCC và các yếu tố sinh miễn dịch khác. Vì thế, quyết định *a* có thể được xếp vào các biến dị lớp 1.

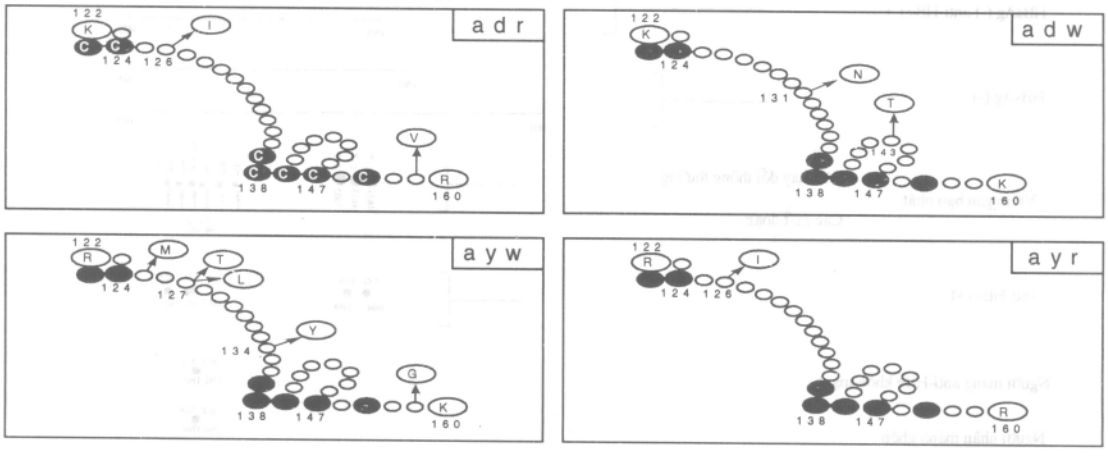


Hình 5-7. *Các thành phần điều hòa phiên mã- gen X và các biến dị.*

Gen khởi đầu và gen tăng cường liên quan trong sao chép HBV. Các gen này trên dòng gen tiền lõi/lõi và trong trường hợp gen khởi đầu lõi cơ bản (BCP) chồng lên đầu tận 5'. Gen X được bao bên trong các thành phần này. Vì thế, bất cứ các thay đổi nucleotit nào trong một thành phần đều có thể phản ánh chuỗi mã aa của protein HBx. Có khả năng là các mất đoạn của gen X không thể sống được. NRE, thành phần điều hòa âm; CURS, chuỗi mã điều hòa lõi trên dòng; BCP, gen khởi đầu lõi cơ bản; DR, lặp lại trực tiếp. Thước trên đầu trang dùng đánh số nucleotit.

Có 2 cặp quyết định kiểu phụ loại trừ lẫn nhau: *d* và *y* với *w* và *r*. Có 9 kiểu phụ (vì có các quyết định dưới kiểu phụ nữa), nhưng có 4 (*adw, ayw, adr, ayr*) là những kiểu phụ chủ yếu. Các kiểu phụ có tính đặc hiệu bất thường hiếm gặp, như *adwr*, hoặc *adyr*, có thể do nhiễm hỗn hợp. Tuy có các khác biệt trong phân bố địa lý của các kiểu phụ, không có tương quan rõ ràng giữa các kiểu phụ và độc tính của virut. Một thay đổi nucleotit duy nhất, ở arginin hoặc lyxin tại aa 122 có trách nhiệm lớn cho tính đặc hiệu *d/y*: các kiểu phụ *adw* và *adr* có lyxin, trong khi *ayw* và *ayr* có arginin. Tương tự, phần dư 160 hình như là trung tâm đối với tính đặc hiệu *w/r*: *adw* và *ayw* có lyxin tại vị trí này, trong khi *adr* và *ayr* có arginin. Mặt khác, biến dị tại phần dư 113 và 134 và phần dư 144 và 145 được bao hàm trong tính đặc hiệu *d/y*. Tính đặc hiệu của codon 156 tương quan với đột biến *w/r*: các thể phân lập *w* có threonin và thể phân lập *r* có isoleuxin tại vị trí này (hình 5-10). Tính đặc hiệu kiểu phụ nhỏ cũng đã được xác định tương quan với chuỗi mã. Các đột biến tại aa 120, 143, 144 và 145 có thể phản ứng yếu với các kháng thể đơn dòng xác định kiểu phụ *d/y*, tính đặc hiệu này được xác định bởi phần dư tại aa 122, cho thấy tính không liên tục của nhiều biểu vị trong vùng kháng nguyên này.

Tại Việt Nam, Phạm Song và cs đã phân tích các kiểu phụ HBsAg trên 119 người mang HBsAg tại Hà Nội và TP. Hồ Chí Minh phát hiện các kiểu phụ chủ yếu như ayr (60%), adr (17%), adw (8%) và một số kiểu phụ bất thường adyw (8%), adwr (5%), aywr (1%) và ay (1%).



***Hình 5-8.** Biến dị bên trong 4 kiểu phụ chuẩn.*

Trên hình, vòng đầu tiên ít thay đổi hơn vòng thứ nhì, cho thấy biến dị của vòng thứ nhì có thể thích hợp về mặt lâm sàng hơn.

Có các biểu vị tế bào B thẳng và không liên tục và một vài vùng có nhiều biểu vị. Biến dị liên quan đến kiểu phụ có thể thay đổi sự gắn kết các kháng thể vào các vùng xa theo đường thẳng. Vì bản chất phức tạp của đặc tính kháng nguyên HBsAg, các tác giả thường quan tâm đến quyết định *a* qua vùng ưa nước chính.

5.2. CÁC BIẾN DỊ LIÊN QUAN ĐẾN VACXIN

5.2.1. Truyền nhiễm theo chiều dọc

5.2.1.1. Đột biến sG145R

Trong hai cộng đồng gồm 1.590 người ở miền nam nước Ý, đa số là trẻ con, nơi tần suất HBsAg trên 5%, được nghiên cứu về các đáp ứng với vacxin có nguồn gốc huyết tương. Trong số này, 44 người được chủng trở thành HBsAg(+), 32 người có các dấu ấn sao chép HBV và anti-HBs(+). Dùng PCR để xác định chuỗi vùng ưa nước chính trong huyết thanh của họ. Một đứa con của người mẹ HBeAg(+) được tiêm globulin miễn dịch VG B (HBIG) ngay lúc sinh, lúc một tháng tuổi và một lịch tiêm chủng vacxin vào các tháng 3, 4 và 9. Dù có dự phòng miễn dịch, đứa trẻ vẫn nhiễm HBV mạn. Mẫu được lấy khi em bé lúc 5 tuổi có biến dị sG145R [trên protein s lớn, ở vị trí aa 145, glycine (GGA, GGG) được thay thế bằng arginine (AGA, AGG), do guanosine (G) biến thành adenosine (A)]. Mẹ có sG145 (hình 5-11).

Các nghiên cứu khác dùng HBIG và vacxin trong dự phòng truyền nhiễm mẹ-con cũng cho kết quả tương tự, sG145R được mô tả ở Singapore, Nhật và Mỹ. Khi có đột biến, virut từ mẹ vào con có thể bị trung hòa bởi HBIG, để lại biến dị sG145. Các nghiên cứu gần đây ở Mỹ cho thấy 0,8% trẻ sinh ra từ người mẹ nhiễm HBV phát triển nhiễm virut tồn tại với biến dị sG145R dù tiêm chủng chủ động và thụ động đầy đủ. Vì sự truyền nhiễm sơ sinh chiếm 75% truyền nhiễm HBV toàn thế giới, đây có thể là một ổ chứa quan trọng của biến dị HBV.

5.2.1.2. Đột biến sT/I126N

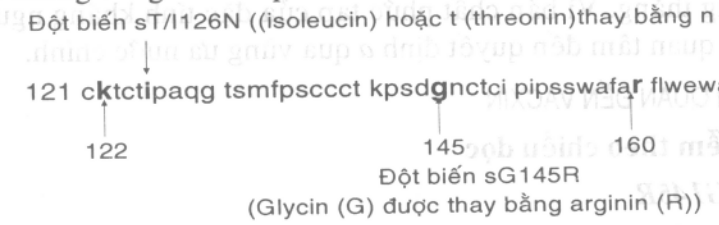
Okamoto và cs nhân dòng gen S của HBV ở hai gia đình có trẻ nhiễm HBV do mẹ truyền dù đã tiêm chủng đầy đủ. Trong một gia đình, có đột biến sG145R ở một trẻ, trong khi gia đình em không có ai có đột biến này. Trong một gia đình khác, có 2 anh em ruột nhiễm HBV dù đã được tiêm chủng. Hai em này không có đột biến sG145R, nhưng lại có đột biến sai nghĩa tại codon 126 với sT/I126N, nhưng không giống đột biến sG145R, đột biến này cũng có thể gặp trong phần lớn (12/17) các clon ở người mẹ. Bà ngoại có một hỗn hợp các chủng ở aa126 (tuy không có s126N) cho thấy một quá trình chọn lọc chậm qua 3 thế hệ.

5.2.2. Truyền nhiễm theo chiều ngang

5.2.2.1. Đột biến sK141R

Không có trường hợp nào được chứng minh truyền nhiễm theo chiều ngang một biến dị liên quan đến vacxin cho một người được tiêm chủng, tuy điều này có thể xảy ra ở người được tiêm chủng có anti-HBs(+). Trong nghiên cứu đang tiến hành ở

Gambia, sự xuất hiện của đột biến sK141R được ghi nhận ở trẻ em trong 2 làng bị nhiễm theo chiều ngang. Truyền nhiễm theo chiều ngang của các biến dị ở những người đã tiêm chủng ít có khả năng truyền nhiễm theo chiều dọc cho một trẻ sơ sinh đã được tiêm chủng cùng lúc với phơi nhiễm.

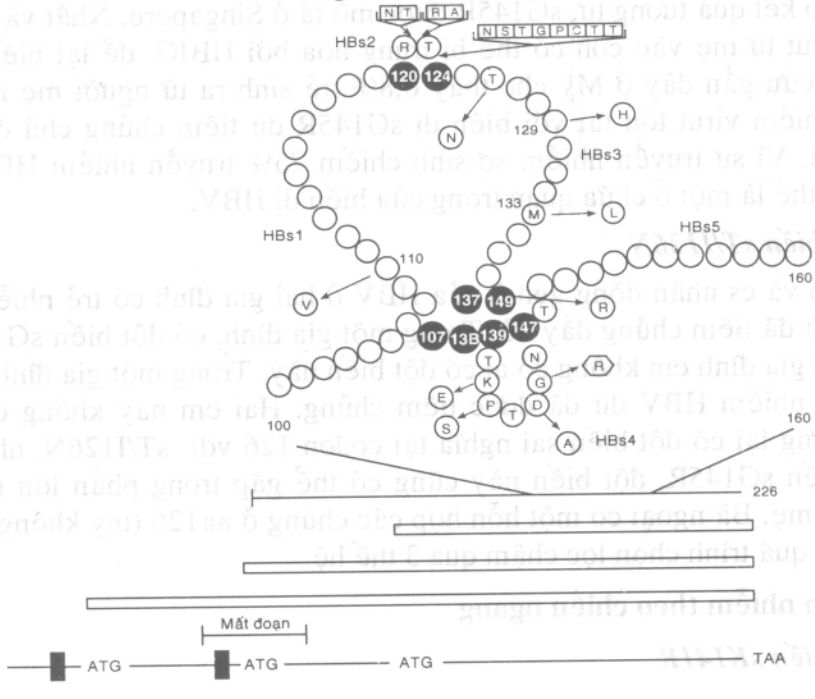


***Hình 5-9.** Các đột biến thoát sau tiêm chủng*

5.2.2.2. Biến dị kép sI110V và sC149R

Carman và cs nghiên cứu trên 1.560 nhân viên y tế ở Sardinia vài năm sau tiêm chủng phát hiện có 13 người anti-HBc(+). Trong số này, 9 người được lấy mẫu để làm PCR, 4 người PCR dương, một người có biến dị kép, sI110V và sC149R. Biến dị sI110V hiện chưa rõ tầm quan trọng, nhưng biến dị sC149 có hiệu quả kháng nguyên mạnh.

Các biến dị ở trẻ em được tiêm chủng có thể trở thành các chủng virut trội ngay cả khi truyền nhiễm theo chiều ngang. Theo một nghiên cứu Gambia, các đột biến thoát vacxin như sG145R có khả năng xuất hiện ở những người được tiêm chủng.

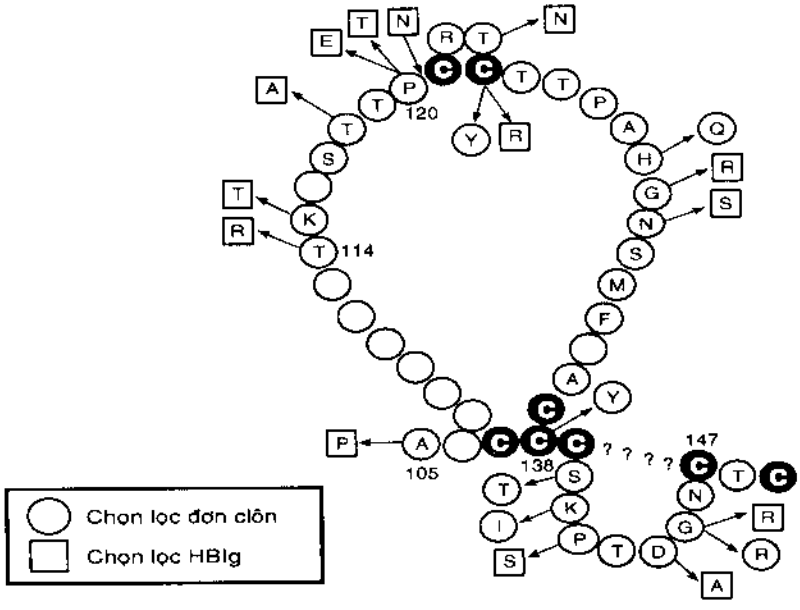


***Hình 5-10.** Sinh học gen bề mặt,*
các biến dị liên quan với tiêm chủng và các đột biến xen đoạn.

Có ba ATG và một TAA (codon kết thúc). Do đó, 3 protein vỏ ngoài có thể được dịch mã: L (lớn), M (trung bình) và S (nhỏ) hoặc HBsAg. Vùng giữa aa100 và 160 được gọi là vùng ưa nước chính ở trên HBsAg và có thể trên các protein trung bình và lớn. Các mất đoạn của pre-S1 (giữa ATG thứ nhất và thứ nhì), thường gối lên pre-S2 (bắt đầu của protein trung bình). Hai vòng chính và một vòng nhỏ được đề cập trong vùng ưa nước chính, xác định bởi nhiều cầu disulfit, có lẽ giữa aa107/137 (hoặc 138), 139/147 (hoặc 149) và 121/124. Carman và cs đề nghị có thể có 5 vùng kháng nguyên được gọi từ HBs1 đến HBs5. Các biến dị liên quan đến tiêm chủng được minh họa trong các vòng. Cho đến nay, sG145R hay gặp nhất nằm ở HBs4. Các đột biến xen đoạn trong HBsAg chỉ có thể gặp ở các BN Viễn Đông và tất cả ở giữa aa121-124.

5.3. CÁC BIẾN DỊ ĐƯỢC CHỌN LỌC DO LIỆU PHÁP KHÁNG THỂ

BN có bệnh gan giai đoạn cuối liên quan đến HBV thường phải ghép gan và được điều trị với anti-HBs đơn dòng hoặc globulin siêu miễn dịch nhằm dự phòng nhiễm virut mẫu ghép. Trong một số trường hợp, HBsAg lại xuất hiện trong huyết thanh và một số các thay thế đã được quan sát trong virut này so với virut trước ghép (hình 5-11). Trong một số báo cáo BN ghép gan được điều trị với kháng thể đơn dòng (mAb), 3/6 BN biểu hiện HBV tái hoạt hóa ở mẫu ghép, và gen bề mặt virut được xác định chuỗi mã. sG145R được thấy đơn thuần trong một BN và hỗn hợp với sG145 ở BN thứ hai. Các đột biến khác cũng hiện diện đồng thời như một phụ loài trong BN này: sT140S và sC124Y. Ở BN thứ 3, sC137Y được thấy xuất hiện. Các kháng thể đa clon trong HBIG cũng có thể phát triển nhiều chủng đột biến sau điều trị.



Hình 5-11. *Các đột biến HBsAg được chọn lọc trong quá trình dùng liệu pháp anti-HBs đơn dòng hoặc đa dòng sau ghép gan.*

Mô hình vùng ưa nước chính của HBsAg được mở rộng để thấy rõ, xác định sự chọn lọc của các biến dị được quan sát trong một số nghiên cứu. Aa trong các vòng là chuỗi mã bình thường và các aa tại đầu các mũi tên là các đột biến.

6. CÁC BIẾN DỊ TIỀN - S/S VÀ VG MẠN

Các biến dị HBsAg có thể được chọn lọc vào khoảng thời gian chuyển huyết thanh HBs/anti-HBs. Chọn lọc đột biến xảy ra cùng với sự phát triển cộng đồng anti-HBs mới tồn tại cho đến khi các kiềm chế chức năng trên HBsAg không cho phép các đột biến khác xảy ra. Điều này cũng có thể gặp sau khi điều trị IFN. Mất prolin tại aa142 và sR145 đã được quan sát ở các BN thải trừ thành công các kháng nguyên HBe và HBs nhiều năm trước; các BN này HBsAg(-), HBV DNA(+) với nồng độ ALT tăng cao.

Các đột biến trong vùng pre-S của KĐM bề mặt đã được mô tả ở nhiều BN thuộc các nước Địa Trung Hải với VG B mạn hoặc UTTBG. Trong trường hợp này, HBV DNA huyết thanh không luôn được phát hiện bằng phương pháp lai axit nucleotit. Một mất đoạn 61 aa từ phân nửa đầu tận carboxy của vùng pre-S1 và của gen khởi đầu cho mRNA đối với các protein vỏ ngoài trung bình và nhỏ đã được chứng minh. Vùng pre-S1 từ aa 21-47, có trách nhiệm gắn kết vào tế bào gan, lại được bảo tồn. Sau khi điều trị IFN, đột biến mất đoạn pre-S1 có thể tăng lên, tác động đến các điểm gắn kết yếu tố phiên mã trên dòng, làm giảm sản xuất HBsAg. Sự ứ đọng các đột biến mất đoạn protein S trong các túi phồng gây độc trực tiếp cho các tế bào gan nhiễm virut. VGKP đã được mô tả với các đột biến trong gen khởi đầu S.

BN có tình trạng virut huyết HBeAg(-) có thể có mất đoạn pre-S2 cũng như các đột biến tiền lõi. Ở người Hàn Quốc chuyển huyết thanh anti-HBe, các biến dị tiền lõi và pre-S xuất hiện gần như đồng thời. Các đột biến mất đoạn trong vùng pre-S2 thường gồm cả đơn vị mã khởi đầu pre-S2 làm ngăn chặn tổng hợp protein trung bình. Khi các mất đoạn xảy ra trong vùng đệm của KĐM polymerase hay gặp ở các BN Ý, virut có thể sống được.

7. HBx VÀ CÁC BIẾN DỊ VÙNG TÁC ĐỘNG *C/S*

HBx có tính chất chuyển hoạt hóa, kích thích tế bào chủ sao chép các thành phần di truyền của virut, cần thiết trong sao chép HBV. Anti-HBx có thể được phát hiện trong huyết thanh. Gen mã hóa HBx đã được nghiên cứu nhiều vì cần thiết trong quá trình điều hòa phiên mã của RNA tiền lõi và pregenom. Tuy nhiên cho đến nay, biến dị của chúng còn khá mơ hồ. Đột biến mất đoạn HBx đã được quan sát

ở các BN VG mạn, sau điều trị IFN và cả trước khi điều trị IFN, ở các trường hợp anti-HBe(+) có thuyên giảm lâm sàng cũng như trong các trường hợp không có các dấu ấn huyết thanh. Trong một nghiên cứu các BN thẩm tách máu, nhiều người có HBx hoặc anti-HBx lưu hành, có nồng độ ALT tăng nhưng không có bất cứ dấu ấn nào của HBV. Trên PCR, HBx hiện diện trên điện di ngắn hơn.

Các biến dị của các vùng tác động *cis* được mô tả lần đầu tiên ở người mang anti-HBe(+) tại hoặc gần điểm gắn RNA polymerase; điểm khởi đầu phiên mã, nằm trên 25 nucleotit dưới dòng. Khi xảy ra, 82% đột biến ở gen khởi đầu lõi cơ bản (BCP), T_{1762} và/hoặc A_{1764} được ghi nhận. Các nghiên cứu về sau cho thấy cả 2 lớp biến dị thường xảy ra chung được gọi là đột biến kép tại gen khởi đầu lõi cơ bản (T_{1762}/A_{1764}). T_{1762} và A_{1764} đã được mô tả ở BN bị VGKP, VG mạn (có hoặc không có anti-HBe) và các cá thể đã thải trừ HBV về mặt huyết thanh học. Tuy nhiên, ngay cả ở người mang khỏe mạnh HBeAg(-) hoặc anti-HBe(+), các đột biến này cũng được thấy số lượng gần bằng nhau. Tuy nhiên, hình như HBeAg và nồng độ HBV DNA hơi thấp trong các trường hợp có T_{1762} và A_{1764}.

Tương tự với các chuỗi mã trong VG kịch phát, nhiều biến dị gen khởi đầu/gen tăng cường lõi II có thể dẫn đến một kiểu hình hay gặp ở các BN ức chế miễn dịch. Các mất đoạn, xen đoạn và đột biến này dẫn đến sự gia tăng mRNA pregenom, nhưng mRNA tiền lõi giảm xuống, có lẽ do tạo thành một điểm gắn HNF1 mới.

8. HBV BẤT THƯỜNG VỀ MẶT HUYẾT THANH HỌC

Hai trường hợp được nghiên cứu bởi Wands và cs. Một BN huyết thanh dương với anti-HBs và anti-HBe, dương yếu với HBV DNA bằng phương pháp lai. HBsAg(+) bằng phương pháp RIA trên cơ sở anti-HBs đơn dòng nhưng âm bằng phương pháp xét nghiệm dùng kháng huyết thanh đa dòng. BN khác cũng có HBsAg phát hiện bằng xét nghiệm dựa trên mAb và dương tính yếu với HBV DNA bằng phương pháp lai nhưng không có dấu ấn khác của nhiễm HBV. Virut ở cả 2 BN có thể gây nhiễm cho hắc tinh tinh và tạo anti-HBs(+) trong huyết thanh của chúng sau khi tiêm chủng. Vài trường hợp VGKP, HBV dương tính với PCR nhưng không có các dấu ấn huyết thanh chuẩn, được giải thích là chúng có các thay đổi trong các vùng tác động *cis* nằm trong KĐM X.

Một số BN ở Senegal có HBsAg(+) nhưng không có anti-HBc hoặc HBeAg và cũng không chuyển huyết thanh anti-HBs sau khi hồi phục, một số người nhiễm virut mặc dù có anti-HBs tạo ra bởi vacxin, được mô tả. Tác nhân này được đặt tên là HBV2.

Hiện nay, ngày càng có nhiều hiểu biết HBV ẩn dấu về mặt huyết thanh có nồng độ virut huyết thấp và không có HBsAg và anti-HBc. Các chủng này, với các đột biến mất đoạn HBx và T_{1762}/A_{1764}, chưa được chứng minh là có thể truyền nhiễm được. Tuy nhiên, nếu sao chép đủ gây tình trạng virut huyết, anti-HBc cũng sẽ được tạo ra. Ký chủ không thể nhận biết HBV hoặc sản xuất kháng nguyên không đủ để tạo ra một đáp ứng. Những người có HBsAg/HBeAg nhưng không có anti-HBc, đã được mô tả, đôi khi có mất đoạn trong HBcAg.

9. CÁC ĐỘT BIẾN TRONG KĐM POLYMERASE

HBV polymerase là một protein đa chức năng gồm các vùng có DNA polymerase phụ thuộc DNA và RNA, hoạt tính Rnase H và hoạt tính này mẫn cảm sơ bộ sự tổng hợp DNA qua một liên kết tyrosin-nucleotit. Các biến dị HBV tự nhiên ảnh hưởng đến hoạt tính polymerase rất hiếm gặp trước khi ra đời các thuốc tương tự nucleosit. Bộ gen HBV chứa nhiều đột biến khác nhau gồm một đột biến thay thế prolin bằng threonin bảo tồn cao (hoặc đôi khi là serin) ở vùng tận cùng carboxyl của polymerase. Phân tích biểu hiện trong tế bào nuôi cấy cho thấy đột biến khiến virut thiếu sót trong việc đóng gói pregenom vào trong các hạt tiền lõi.

Ling và cs phân tích các chuỗi mã HBV polymerase ở 2 BN điều trị với lamivudine, trong đó virut được tái hoạt hóa dù vẫn tiếp tục điều trị. Trong cả 2 trường hợp, các đột biến ảnh hưởng đến việc mã hóa loại hình YMDD (Tyrosin, Methionin, Aspartate, Aspartate) bảo tồn cao, được tin là một phần điểm hoạt động của polymerase.

Phần lớn trường hợp đề kháng LAM do kết hợp với các đột biến tại 2 ổ gen (loci) ở codon 552 và 528. Đột biến thường gặp nhất ảnh hưởng ở loại hình YMDD bảo tồn cao trong vùng xúc tác của DNA polymerase/HBV reverse transcriptase (vùng C của gen P), thay thế methionin bằng isoleucin tại codon 552 (M552I). Một đột biến khác tại codon 552, methionin được thay bằng valine M552V. Đột biến M552V thường kèm theo một đột biến thứ nhì tại codon 528, leucin được thay bằng methionin (L528M). Các nghiên cứu *in vitro* cho thấy:

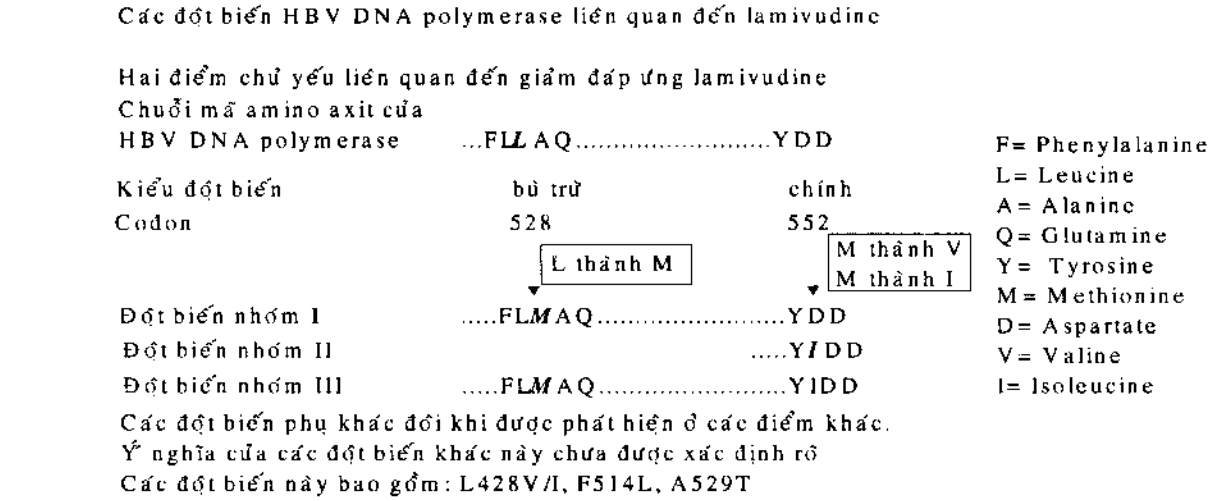
- Đột biến ở codon 552 đơn thuần có thể gây đề kháng với lamivudine nhưng đột biến M552I đề kháng với lamivudin nhiều hơn đột biến M552V.
- Đột biến L528M đơn thuần được cho là rất ít đề kháng với lamivudine.
- Nhưng kết hợp đột biến L528M với M552V đề kháng mạnh hơn M552V đơn thuần và tương tự với đề kháng M552I.

Bảng 5-3. Các kiểu đột biến trong vùng DNA polymerase/reverse transcriptase ở các BN được điều trị lamivudine.

Tham khảo	Số BN có các đột biến đề kháng lamivudine			
	M552V+L528M	M552V đơn thuần	M552I+L528M	M552I đơn thuần
Liaw và cs	12	0	0	20
McCaughan và cs	6	0	0	0
Hussain và Lok	28	3	2	15
Lok và cs	5	0	3	2
Cộng chung	51	3	5	37

Các đột biến tương tự cũng gặp ở các BN đồng nhiễm HIV được điều trị lamivudin. Ở các BN này, đột biến M184I được phát hiện trong vài tuần điều trị đầu tiên và sau đó thay thế bởi đột biến M184V vì đột biến sau có tình trạng sao chép mạnh hơn.

Đề kháng virut kết hợp với chọn lọc các đột biến chủ yếu trong loại hình YMDD trong vùng C của men phiên mã ngược virut và trong vùng B được bảo tồn. Các đột biến này được xếp vào nhóm I với các đột biến vùng C và B (L528M, thay leucin bằng methionin + M552V, thay methionin bằng valin) và nhóm II với đột biến vùng C (M552V), được cho là đề kháng kiểu gen. Đột biến M552V theo sau bởi một đột biến thứ nhì tại codon 528 với sự thay leucin bằng methionin (L528M). Nhóm đột biến I hình như có các đột biến thường gặp kết hợp với sự đề kháng lamivudine. Các đột biến này làm giảm nhạy cảm với lamivudine và giảm khả năng sao chép trong môi trường nuôi cấy cũng như *in vivo*. Hơn nữa, sự tương quan với một kiểu hình đề kháng lamivudine đã được xác định *in vitro* trong môi trường nuôi cấy.



***Hình 5-12.** Các đột biến HBV DNA polymerase trong khi điều trị LAM*

10. TÓM TẮT

HBV là một virut có vẻ tiến hóa cao. HBV có một bộ gen nhỏ và có cách sử dụng axit nucleic khá hiệu quả với nhiều vùng bảo tồn cao, ngay cả trong các hepadnavirut khác nhau. Tuy nhiên, HBV cũng có nhiều biến đổi. Tương tác giữa HBV với ký chủ khá phức tạp (bảng 5-4). Nhiều cố gắng cho việc nghiên cứu các yếu tố virut, tuy trong 7 năm qua chỉ có một biến dị liên quan về mặt lâm sàng đã được mô tả, đó là đột biến SR145 trong một vài trường hợp tiêm chủng và dự phòng sau ghép gan thất bại, cũng như bị bỏ sót bởi một số chẩn đoán huyết thanh. Có nhiều biến dị HBsAg khác, nhưng không phổ biến đủ để làm thay đổi cách xử trí hiện nay. Các biến dị gen tiền lõi/lõi đến nay chưa có bằng chứng gây ảnh hưởng về mặt lâm sàng. Đột biến A_{1896} được biết như là chuỗi thế hệ độc lập của HBV và như là một dấu ấn của biến dị ở đâu đó trong bộ gen. Các biến dị của gen khởi đầu, gen tăng cường và protein HBx được cho có liên quan về lâm sàng. Phản ứng quá mức liên quan đến VG kịch phát và phản ứng thấp là do huyết thanh học HBV bất thường. Giải quyết vấn đề này cần 3 phương pháp.

- *Nghiên cứu với cỡ mẫu lớn được thiết kế đầy đủ với đánh giá thống kê thích hợp sẽ đưa ra sự tương tác giữa các biến dị không có vẻ liên quan.*
- *Đánh giá chức năng, tính kháng nguyên hoặc tác dụng sao chép để chọn các biến dị quan trọng nhất.*
- *Vai trò của các yếu tố ký chủ đơn thuần hoặc liên quan đến các biến dị đặc biệt, nhất là khi tiêm chủng phổ thông mở rộng khắp thế giới, HBV phải thích nghi đối với hàng rào miễn dịch nhiều hơn.*

Bảng 5-4. Tương tác giữa virút và các yếu tố ký chủ trong nhiễm HBV.

Tình hình	Yếu tố virut	Yếu tố ký chủ
Tiến triển đến VG mạn	?	HLA II, mannose gắn protein
Tiến triển sau chuyển huyết thanh đối với anti-HBc	? A + các sự thay thế lõi	Thất bại của hệ miễn dịch tế bào
Phân bố kiểu phụ	Nền kiểu gen	Chọn lọc miễn dịch săn lùng về mặt dân tộc
Phân bố thay thế protein lõi	Nền kiểu gen	Dân tộc xác định phản ứng miễn dịch
Biến dị tiền lõi	Nền kiểu gen Biến dị cạnh tranh	Không thải trừ virut không tạo HBeAg Nền dân tộc (T_{1856})
VG kịch phát	Biến dị trong vùng tác động *cis* và HBx	Hệ miễn dịch ? Khác biệt gan tươi và gan nhiễm virut mạn?
Nhiễm virut ẩn	Vùng tác động *cis*	Không khả năng sản xuất anti-HBc
Đáp ứng vacxin nghèo nàn		HLA lớp II

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. **Carman-WF, Thomas-HC, Zuckerman-AJ, Harrison-TJ. Molecular variants of hepatitis B virus. In Zuckerman AJ, Thomas HC, editors.** Viral Hepatitis. 2nd ed. London. Churchill Livingstone; 1998: 141-72.

2. **Ahmed SNS; Tavan D; Pichoud C; Berby F; Stuyver L; Johnson M; Merle P; Abidi H; Trépo C; Zoulim F. Early** detection of viral resistance by determination of hepatitis B virus polymerase mutations in patients treated by lamivudine for chronic hepatitis B. Hepatology 2000;32:1078-1088.

3. **Pereillo R, Schiff E, Yoshida E. Adefovir Dipivoxil** for the treatment of lamivudine-resistant hepatitis B mutants. Hepatology 2000;32:129-134.

4. **Lok ASF. Hussain M, Cursano C et al.** Evolution of hepatitis B virus polymerase gene mutations in hepatitis B e antigen-negative patients receiving lamivudine therapy. Hepatology 2000; 32:1145-1153.

5. **Ling-R; Mutimer-D; Ahmed-M; Boxall-EH; Elias-E; Dusheiko-GM; Harrison-TJ.** Selection of mutations in the hepatitis B virus polymerase during therapy of transplant recipients with lamivudine. Hepatology. 1996 Sep; 24(3): 711-13.

6. **Nguyễn Hữu Chí.** Một số đặc điểm của bệnh viêm gan siêu vi. NXB TP. Hồ Chí Minh. 1998, tr 22.

7. **Chun YK; Kim JY; Woo HJ; Oh SM; Kang I; Ha J; Kim SS.** No significant correlation exists between core promoter mutations, viral repliacation, and liver damage in chronic hepatitis B infection. Hepatology 2000; 32:1154-1162.

8. **Schlager F; Schaefer S; Metzler M; Gratzki N; Lampert F, Gerlich WH; Repp R.** Quantitative DNA fragment analysis for detecting low amounts of hepatitis B virus deletion mutants in highly viremic carriers. Hepatology 2000; 32:1096-1105.

9. **Perrillo R; Schiff E; Yoshida; Statler, Hirsch; Wright; Gutfreund K; Lamy P; Murray A.** Adefovir Dipivoxil for the treatment of lamivudine-resistant hepatitis B mutants. Hepatology 2000;32:129-134.

10. **Ni YH; Chang MH; Hsu HY; Chen HL.** Long-term follow-up study of core gene deletion mutants in children with chronic hepatitis B virus infection. Hepatology 2000;32:124-128.

11. **Okamoto-H; Yano-K; Nozaki-Y; Matsui-A; Miyazaki-H; Yamamoto-K; Tsuda-F; Machida-A; Mishiro-S.** Mutations within the S gene of hepatitis B virus transmitted from mothers to babies immunized with hepatitis B immune globulin and vaccine. Pediatr-Res. 1992 Sep; 32(3): 264-8.

Chương 6
CÁC LOẠI VIRUT VIÊM GAN B Ở LOÀI VẬT

Trang

1. CÁC LOẠI VIRUT VIÊM GAN B 140
1.1. Orthohep adna virus (Các virut VG B loài có vú) 140
1.2. Avihep adna virus (Các virut VG B loài chim) 141
2. HEPADNAVIRUT Ở SÓC ĐEN 143
2.1. Phát triển tự nhiên của WHV 144
2.1.1. Mô tả và xếp loại WHV 144
2.1.2. Phân bố địa lý của nhiễm WHV 144
2.1.3. VG mạn và UTTBG ở sóc đen nhiễm WHV 145
2.2. Nhiễm Hep adna virut mắc phải tự nhiên ở các loài vật khác 146
2.3. Nhiễm Hep adnavirut thực nghiệm ở sóc đen 146
2.3.1. Nhiễm WHV ở sóc đen trưởng thành 146
2.3.2. Nhiễm WHV ở sóc đen sơ sinh 147
2.3.3. Nhiễm GSHV ở sóc đen 148
2.4. Tính sinh UTTBG trong nhiễm Hepadnavirut 149
2.4.1. Các bằng chứng sinh UTTBG của nhiễm hepadnavirut 149
2.4.1.1.Bằng chứng dịch tễ học 149
2.4.1.2.Bằng chứng phân tử 149
2.4.1.3. Bằng chứng y học so sánh 150
2.4.2. Các cơ chế phân tử của sự sinh UTTBG gây ra bởi hepadnavirut 150
2.4.3. VG mạn và UTTBG 152
2.4.4. Tương tác giữa chất sinh ung thư hóa học và hepadnavirut trong bệnh sinh UTTBG 153
2.4.5. Sự sản xuất nitric oxide trong nhiễm hepadnavirut 153
2.5 Hoạt tính Anti-WHV và độc tính của các thuốc kháng virut 154
2.5.1. Trắc nghiệm hoạt tính kháng virut 154
2.5.2. Đánh giá độc tính của thuốc 157
3. TÓM TẮT 159

1. CÁC LOẠI VIRUT VIÊM GAN B

Tất cả thành viên của họ *Hepadnaviridae* đầu tiên là các virut hướng gan và có bộ gen DNA mạch kép. Có 2 nhóm phụ trong họ này: loài có vú và loài chim.

1.1. ORTHOHEP ADNA VIRUS (CÁC VIRUT VG B LOÀI CÓ VÚ)

- Virut VG B sóc đất bắc cực (arctic ground squirrel hepatitis B virus)

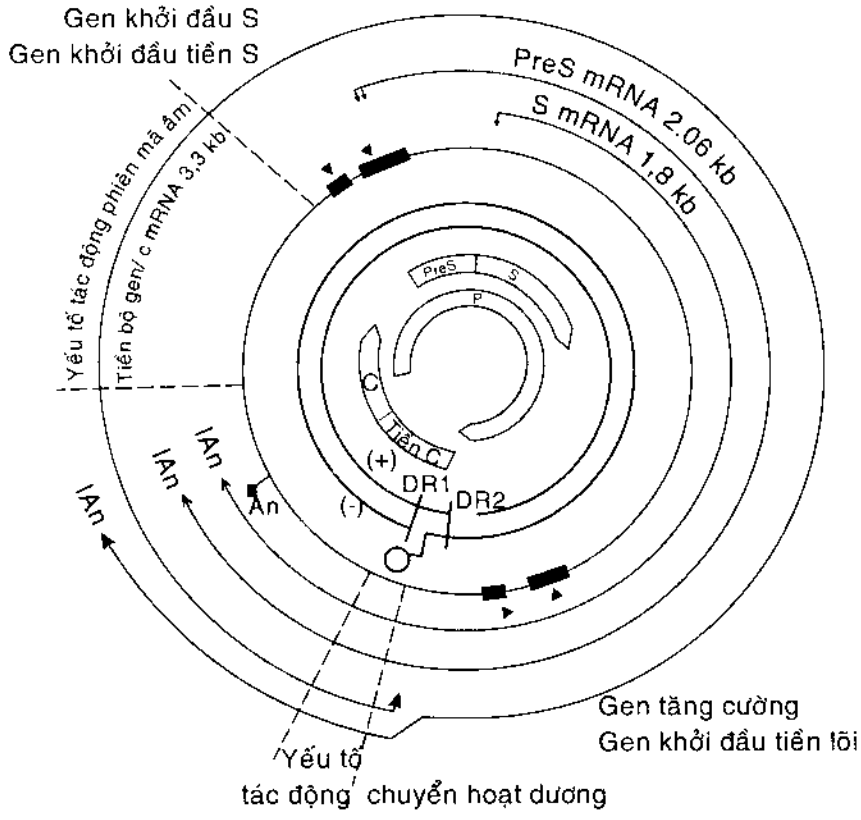
- Virut VG B sóc đất (GSHBV, ground squirrel HBV), phân lập từ sóc đất Beechy
- Virut VG B sóc đất và virut VG sóc đen tái tổ hợp (GSHBV/WHBV recombinant)
- Virut VG B người (HBV): HBV (chủng alpha1); HBV (chủng LSH/chủng phân lập hắc tinh tinh); các HBV kiểu phụ như AD; ADR; ADW; ADYW; AR và AYW.
- Virut VG B 2 (HBV2)
- Virut VG B orangutan (orangutan hepadnavirus)
- Virut VG B sóc đen (woodchuck= WHBV, sóc đen), phân lập từ sóc đen phương đông, bao gồm các chủng WHBV 1, WHBV 59, WHBV 7, WHBV 8, WHBV 8 (dòng vô tính gây nhiễm), WHBV w64 (chủng phân lập PWS23)
- Virut VG B khỉ lông mịn (wooly monkey hepatitis B virus)

1.2. AVIHEP ADNA VIRUS (CÁC VIRUT VG B LOÀI CHIM)

- Virut VG vịt (DHBV= duck) phân lập từ vịt Bắc Kinh: DHBV (chủng vịt nâu Thượng Hải S5); DHBV (chủng Trung Quốc); DHBV (chủng vịt trắng Thượng Hải S31)
- Virut VG B diệc (HHBV=heron) được tìm thấy ở loài diệc xám
- Virut VG ngỗng tuyết (snow gooose HBV)

Một số virut đã được nhân dòng và xác định chuỗi mã và nhiều chuỗi mã đã chứng minh là gây nhiễm. Tất cả thành viên của họ *Hepadnaviridae* có chung các đặc trưng cấu trúc và bộ gen độc đáo, có một vỏ ngoài bao quanh một nucleocapsit hình cầu chứa một bộ gen DNA virut giống nhau về kích cỡ, cấu trúc và cấu tạo. Hepadnavirut có cách sao chép độc đáo liên quan đến phiên mã ngược một RNA có chiều dài dài hơn bộ gen bằng cách dùng một đoạn mồi protein mã hóa virut. Cuối cùng, chúng đều có phạm vi gây bệnh hạn chế ở một số vật chủ, thường giới hạn cho mỗi loài. HBV chỉ gây nhiễm cho loài linh trưởng bậc cao như hắc tinh tinh và vượn (gibbon). WHV và GSHV không gây nhiễm các loài gậm nhấm khác trong tự nhiên. Tuy nhiên, trong thực nghiệm đã gây nhiễm GSHV cho sóc chuột (chipmunk) và sóc đen. DHBV chỉ gây nhiễm tự nhiên hạn chế trong một số bầy vịt nuôi và đã được truyền nhiễm thực nghiệm vào ngỗng thành công.

Hepadnavirut loài có vú và loài chim được xem là hai giống riêng biệt vì các khác biệt về dung lượng bộ gen của mỗi giống. Một so sánh các đặc trưng vật lý và dung lượng bộ gen (genomic capacity) của HBV, WHV, GSHV và DHBV được đưa ra trong bảng 6-1. Các chuỗi mã nucleotit bộ gen giống nhau trong các thành viên của mỗi nhóm. Hai nhóm có một số khác biệt về gen. Virut loài có vú có 4 KĐM (khung đọc mở), trong khi virut loài chim chỉ có 3; hepadnavirut loài chim thiếu gen X. Cũng có các khác biệt kháng nguyên giữa hai nhóm. Virut loài có vú có phản ứng chéo với protein lõi và protein vỏ ngoài trong nhóm, nhưng phản ứng này không xảy ra với virut loài chim. Cuối cùng, có vài khác biệt nhỏ trong siêu cấu trúc virion và trong sản xuất các hạt kháng nguyên bề mặt không gây nhiễm. Virut loài có vú sản xuất các sợi kháng nguyên bề mặt, nhưng virut loài chim thì không.



Hình 6-1. *Bản đồ di truyền và phiên mã của bộ gen DHBV.*

Trên hình minh họa: các khung đọc mở được ở giữa và các sản phẩm phiên mã RNA ở bên ngoài. An, điểm polyadenyl hóa.

Bảng 6-1. So sánh các thành viên khác nhau của họ Hepadnaviridae.

Các đặc trưng vật lý	Các thành viên Hepadnavirut			
	HBV	WHV	GSHV	DHBV
Virion				
Đường kính (nm)	42	45	47	40-45
Tỷ trọng nổi trong CsCl (g/ml)	1,24	1,225	1,24	1,16
Nucleocapsit				
Đường kính (nm)	27	27	30	27
Tỷ trọng nổi trong CsCl (g/ml)	1,34	1,34	1,34	1,34 (có gai)
Các hạt kháng nguyên bề mặt				
Các hạt cầu (nm)	22	20-25	15-25	40-60
Tỷ trọng nổi trong CsCl (g/ml)	1,19-1,20	1,18	1,18	1,14
Các dạng sợi	có	có	có (dài, nhiều)	không
Bộ gen				
Kích cỡ DNA (ccb)	3182-3188	3308-		3021
Chuỗi mã đồng dạng với HBV	100	3320	3311	40
Số lượng khung đọc mở (KĐM)	4	70	55	3
Số lượng aa được mã hóa/KĐM		4	4	
Pre-S	163			197
S	226	204-	206	167
Pre-C	29	205	222	43
C	183	222	30	262
P	838	30	188	783-786
X	145	187	881	không
		879	138	
		141		

Viết tắt: nm, nanomet; CsCl, clorua cesium; ccb, các cặp bazơ (bp, base pairs); KĐM, khung đọc mở.

Trong phòng thí nghiệm, HBV không gây nhiễm cho loài vật ngoài loài linh trưởng. Việc khám phá các hepadnavirut loài vật đã giúp cho việc phát triển các mô hình thay thế trong nghiên cứu bệnh sinh và sao chép. Nhờ đó, các nghiên cứu quan trọng đã hình thành làm tăng sự hiểu biết toàn diện về sao chép, tiến trình tự nhiên và bệnh sinh của VG B.

Mô hình DHBV đã giúp giải thích chiến lược sao chép HBV và cũng cho thấy có giá trị trong nghiên cứu chu kỳ sống của hepadnavirut cũng như trong thử nghiệm hoạt tính chống nhiễm DHBV mạn *in vivo*.

2. HEPADNAVIRUT Ở SÓC ĐEN

Hắc tinh tinh dễ nhiễm HBV và được dùng như một động vật thí nghiệm quan trọng trong nghiên cứu bệnh sinh HBV và phát triển vacxin, nhưng chi phí và tính khả dụng đã hạn chế khá nhiều khi dùng hắc tinh tinh trong nghiên cứu. Do đó, để

khắc phục các hạn chế trên, các nghiên cứu về nhiễm hepadnavirut ở loài sóc đen phương Tây (*Marmota monax*) và sự phát triển loài này như một động vật thử nghiệm trong nghiên cứu HBV, đã được đẩy mạnh.

2.1. PHÁT TRIỂN TỰ NHIÊN CỦA WHV

2.1.1. Mô tả và xếp loại WHV

WHV được mô tả đầu tiên bởi Summer và cs. trong một đàn sóc đen từ phòng Thí nghiệm Nghiên cứu Penrose thuộc vườn thú Philadelphia. Đàn này có tỷ lệ VG mạn cao và khi tử thiết, 23% có UTTBG. 15% sóc đen có huyết thanh chứa DNA polymerase và các hạt hình cầu và hình sợi giống HBV. Các tác giả kết luận WHV thuộc lớp virut tương tự như HBV.

WHV là thành viên của giống *Orthohepadnavirus*, họ hepadnavirut, là loài virut DNA hướng gan mà nguyên mẫu là HBV (bảng 6-2). Sóc đen nhiễm WHV có một số lượng lớn các hạt virut trong máu. Hình thái và cấu tạo bộ gen WHV khá giống HBV và các hepadnavirut loài có vú khác. Trong huyết thanh, nhiều hạt hình sợi và hình cầu 22 nm là các hạt virut bất toàn chỉ gồm các protein vỏ ngoài còn gọi là kháng nguyên bề mặt (WHsAg). Các hạt virion toàn vẹn có đường kính 42–45 nm gồm vỏ ngoài (WHsAg), nucleocapsit hoặc kháng nguyên lõi (WHcAg) và bên trong nucleocapsit là bộ gen DNA. Chu kỳ sao chép của WHV khá giống với HBV. Thời kỳ chuyển tiếp từ DNA đến RNA trong vòng đời của hepadnavirut giống với retrovirut. Tuy DNA tiền virut hòa nhập vào bộ gen ký chủ là cần thiết trong sao chép retrovirut, sự hòa nhập này không cần trong sao chép hepadnavirut. Khi các chuỗi mã hepadnavirut hòa nhập vào DNA bộ gen chủ, chúng sẽ có vai trò nào đó trong sự sinh UTTBG.

Bảng 6-2. Các thành viên của họ Sciuridae trong đó nhiễm Hepadnavirut xảy ra tự nhiên.

Tên khoa học	Tên thông thường
Marmota monax	Sóc đen phương Tây
Spermophilus beecheyi	Sóc đất California (sóc đất Beechy)
Sciurus carolinensis	Sóc xám (sóc cây)
Spemophilus richardsonii	Sóc đất Richardson
Spermophilus parryii	Sóc đất Bắc Băng Dương

2.1.2. Phân bố địa lý của nhiễm WHV

Môi trường sống tự nhiên của sóc đen là ở Hoa Kỳ trải từ miền bắc Georgia, Alabama và Mississippi ở miền nam, phía tây với Oklahoma, Kansas, Nebraska, miền bắc và nam Dakota. Phạm vi trải về phía bắc đến Quebec và Labrator, phía tây qua Canada đến British Columbia và Yukon Territory và gồm cả một vùng nhỏ đông nam Alaska. Một nghiên cứu dịch tễ học huyết thanh nhiễm WHV toàn diện chưa được thực hiện và tần suất nhiễm WHV trong sóc đen chưa được biết rõ.

Nhiễm WHV là dịch lưu hành cao ở các bang Mid-Atlantic và chính từ vùng này WHV lần đầu được phân lập bởi Summer và cs. Tyler và cs thực hiện một nghiên cứu huyết thanh sóc đen từ Pensylvania, New Jersey và Maryland thấy 23% sóc đen trưởng thành dương với WHsAg. 36% khác dương với kháng thể anti-WHs và tỷ lệ nhiễmWHV toàn bộ lên đến 59%. Tương tự, tỷ lệ nhiễm WHV cao ở các bang Mid-Atlantic đã được Wong và cs báo cáo. Ngược lại, ở New York chỉ ước độ 2% anti-WHs(+) và tỷ lệ WHsAg tồn tại đã xác định là 0,2%. Tuy số lượng sóc đen được xét nghiệm còn ít, không có bằng chứng nhiễm WHV được phát hiện ở các bang khác như Vermont, Massachusetts, hoặc Iowa.

2.1.3. VG mạn và UTTBG ở sóc đen nhiễm WHV

Vườn thú Philadelphia là nơi mô tả UTTBG đầu tiên ở loài sóc đen, với nhiều u tuyến (adenoma) gan có đường kính từ 0,3 đến 1.0 cm.

Hai sóc đen có u gan được báo cáo sau đó, một từ công viên vườn thú Washington và một mắc bẫy ở Bethesda, Maryland. Một tỷ lệ UTTBG cao đáng chú ý được báo cáo ở sóc đen mắc bẫy ở Pennsylvania và sau đó được lưu giữ trong phòng thí nghiệm. Yếu tố hepatoxin trong khẩu phần ăn bị loại trừ vì nhiều loài khác có khẩu phần ăn tương tự như sóc đen không phát triển u gan. Người ta cho là do một virut VG gây ra. Sau đó u gan đã được báo cáo ở một sóc đen 4 tuổi từ bang New York bị nhốt hơn 3 năm. 3/15 sóc đen có u gan và 1/4 tái sinh nốt gan được mô tả trong một nhóm 15 sóc đen nuôi do bị mắc bẫy ở hạt Ferderick, Maryland.

U gan kết hợp với nhiễm WHV có kích thước thay đổi và có nhiều thể. Thể bó dây (trabecular) hay gặp nhất, nhưng các thể tuyến nang (acinar) hoặc giả tuyến cũng được mô tả. Các khối u là UTTBG đã biệt hóa có các nhân dễ bắt màu, nhất là các hạch nhân. Các thay đổi thoái biến, tăng sinh được mô tả ở gan không ung thư và nhiều mức độ VG được quan sát. Trong đa số trường hợp, VG mạn hoạt động được xác định khi thâm nhiễm nhiều tế bào đơn nhân vượt quá mức giới hạn. Hiện tượng hoại tử tế bào gan rải rác, tăng sinh ống dẫn mật là bằng chứng của xơ hóa ban đầu trong một số trường hợp. Tổng cộng, 87% sóc đen có VG mạn hoạt động với bằng chứng WHsAg trong tế bào gan (nhuộm orcein dương) và 53% có UTTBG.

Tương quan chặt chẽ giữa nhiễm WHV mắc phải tự nhiên và UTTBG về sau được nhiều nhóm báo cáo. Popper và cs báo cáo 33 sóc đen có nguồn gốc từ Maryland, Pennsylvania và Delaware, được lưu giữ trong phòng thí nghiệm trong 2 năm. Trong số đó, 14 con có các dấu ấn huyết thanh nhiễm WHV, 10 con mang WHV mãn tính và UTTBG phát triển ở 6/10 con mang WHV mạn. Popper và cs nghiên cứu VG từ trung bình đến nặng ở các sóc đen mang WHV mạn với nhiều mức độ tăng sinh ống mật và xơ hóa quanh tiểu thùy. Một diễn tiến ung thư được mô tả từ trung tâm của các tế bào gan thoái hóa, đến các nốt ung thư nhỏ và đối với UTTBG, một số trong đó chứa một số lượng tế bào tạo huyết thâm nhiễm. Các tác giả khác cũng xác định tỷ lệ UTTBG cao liên quan với nhiễm WHC mạn. UTTBG di căn ngoài gan ở sóc đen thường ít gặp. Tuy nhiên, di căn ở phổi đã được mô tả.

2.2. NHIỄM HEP ADNA VIRUT MẮC PHẢI TỰ NHIÊN Ở CÁC LOÀI VẬT KHÁC

Đã có nhiều báo cáo nhiễm hepadnavirut ở nhiều loài khác thuộc loài có vú và chim. Hình thái học và cấu tạo bộ gen của các virut tương tự nhau. Virut VG ở loài sóc đất (GSHV) gây nhiễm sóc đất ở California (*Spermophilus beecheyi*) virut VG B ở vịt (DHBV) gây nhiễm vịt Bắc Kinh (*Anas domesticus*). Và virut VG B ở diệc (HHBV) gây nhiễm loài diệc xám (*Ardea cinerea*) ở Đức. Gần đây virut VG sóc đất Bắc Cực (ASHV) đã được xác định ở sóc đất Bắc Cực (*Spermophilus parryii*). Bằng chứng cũng đã được báo cáo với nhiễm hepadnavirut ở loài sóc xám miền Đông (*Spermophilus Carolinensis*) ở Pennsylvania và ở loài sóc đất Richardson (*Spermophilus richardsonii*) ở Alberta.

UTTBG đã được quan sát ở loài sóc đất California nhiễm GSHV mắc phải tự nhiên. Các khối u gan ở sóc đất California được báo cáo không nhiều và phát triển vào độ tuổi lớn hơn ở sóc đen nhiễm WHV. UTTBG cũng gặp trong nhiễm hepadnavirut ở sóc đất Bắc Cực. VG mạn và UTTBG ở loài sóc đất Richardson khá giống với VG và UTTBG ở sóc đen . Ở loài vịt, sự phối hợp UTTBG và nhiễm DHBV ít gặp và tính sinh UTTBG của DHBV loài vịt vẫn còn cần nghiên cứu. UTTBG không được mô tả trong các con vật nhiễm GSHV hoặc HHBV.

2.3. NHIỄM HEP ADNAVIRUT THỰC NGHIỆM Ở SÓC ĐEN

2.3.1. Nhiễm WHV ở sóc đen trưởng thành

Lúc đầu, nghiên cứu về mối liên quan giữa nhiễm WHV và phát triển UTTBG được thực hiện ở sóc đen mắc bẫy trong điều kiện sống hoang dã và trong nhiễm WHV mắc phải tự nhiên. Các sóc đen tỏ ra giá trị vì là nguồn virut và mô gan được dùng cho các phân tích mô học và phân tử, nhưng các giới hạn của các loài vật này cho mục đích thực nghiệm sớm được biết rõ. Người ta không biết khi nào và trong bao lâu sóc đen bị mắc bẫy trong điều kiện hoang dã đã bị nhiễm WHV hoặc các yếu tố dinh dưỡng hoặc môi trường có thể ảnh hưởng đến diễn tiến nhiễm WHV tự nhiên hay không. Tổn thương gan ở các loài *Ackertia marmotae* và *Capillaria* sp. thường gặp và gây khó khăn cho các nghiên cứu thực nghiệm.

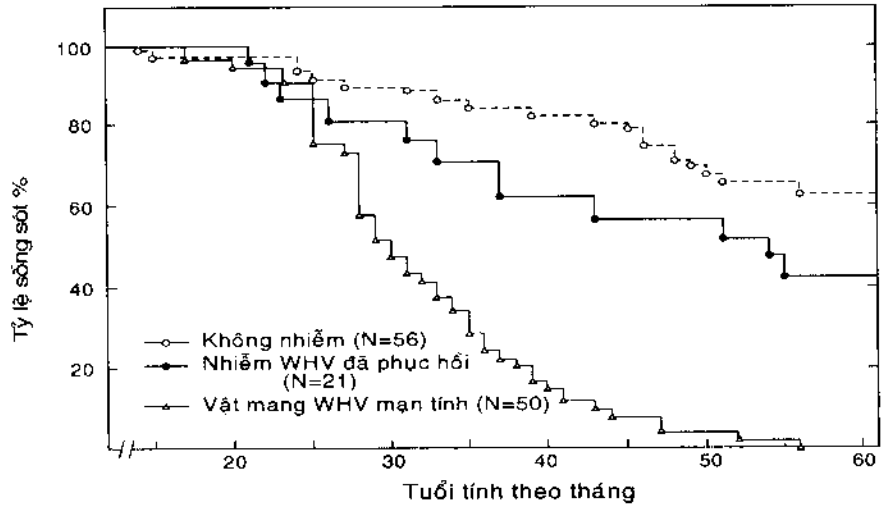
Summers và cs báo cáo nhiễm khuẩn thực nghiệm ở sóc đen từ 4 đến 8 tháng tuổi với huyết thanh của con vật mang WHV mạn. Nhiễm virut xảy ra, nhưng tự giới hạn và không có con vật nào trở thành mang mạn tính. Các cố gắng gây nhiễm thực nghiệm cho sóc đen còn trẻ hoặc trưởng thành đã gây nhiễm WHV cấp nhưng không gây nhiễm WHV mạn (trừ một trường hợp ngoại lệ). Các nghiên cứu hình thái học và virut học phân tử của gan sau khi gây nhiễm thực nghiệm ở sóc đen trưởng thành đã cho thấy 100% tế bào gan bị nhiễm và, tuy các dạng sao chép được thải trừ sau khi hồi phục, WHV DNA vòng đóng đồng hóa trị tồn tại ở 3/10 sóc đen sau khi đã ngừng sao chép. Nhiễm WHV ở sóc đen trưởng thành đã được dùng để khảo sát đáp ứng miễn dịch qua trung gian tế bào đối với nhiễm hepadnavirut.

2.3.2. Nhiễm WHV ở sóc đen sơ sinh

Khi sóc đen lớn nhiễm WHV, dưới 5% trở thành vật mang WHV mạn, trong khi nhiễm HBV sơ sinh nhiễm virut mạn khá cao. Các báo cáo về tỷ lệ nhiễm WHV mạn cao ở sóc đen từ các vùng dịch lưu hành cho thấy có lẽ do truyền nhiễm theo chiều dọc như ở người.

Để sử dụng sóc đen như một động vật thí nghiệm, việc nuôi dưỡng sóc đen trong phòng thí nghiệm trở nên cần thiết. Để làm được điều đó, cần biết cơ sở di truyền, chế độ ăn của chúng và chúng phải được giữ không cho phơi nhiễm với WHV và nhiễm ký sinh trùng khác hay gặp trong cộng đồng sóc đen hoang dã. Một đàn sóc đen gây giống không nhiễm WHV được nuôi dưỡng ở Đại học Cornell năm 1979. Hiện nay, đàn này được dùng như một nguồn sóc đen cho các nghiên cứu gây nhiễm WHV thực nghiệm. Sóc đen sinh ra trong phòng thí nghiệm được nhiễm truyền ngay lúc sinh với huyết thanh pha loãng từ nguồn dự trữ nhiễm virut chuẩn được lấy từ sóc đen mang WHV mạn. Sau khi nhiễm virut phát triển, sóc đen được giám sát qua các xét nghiệm huyết thanh tìm các dấu ấn đặc hiệu sóc đen (WHsAg, kháng thể lõi anti-WH và kháng thể bề mặt anti-WH).

Sóc đen sơ sinh nhiễm WHV thực nghiệm có một tỷ lệ mang mạn tính trên 60%. Nguy cơ thời gian sống của sóc đen nhiễm WHV mạn thực nghiệm phát triển UTTBG lên đến 100%. Biểu đồ sống sót của vật mang WHV mạn do gây nhiễm virut thực nghiệm vào lúc sinh với WHV, của sóc đen hồi phục sau nhiễm WHV sơ sinh thải trừ WHV và phát triển kháng thể anti-WHs, của lô sóc đen chứng không nhiễm WHV sinh ra và lớn lên trong phòng thí nghiệm được minh họa ở hình 6-2.



Hình 6-2. *Biểu đồ sống sót của (1) sóc đen mang WHV mạn sau nhiễm WHV sơ sinh thực nghiệm, (2) sóc đen được gây nhiễm WHV ngay sau sinh, sau đó thải trừ WHV và phát triển anti-WHs, (3) lô chứng bình thường không nhiễm WHV. Tất cả sóc đen mang WHV mạn đều phát triển UTTBG. 17% sóc đen đã hồi phục sau nhiễm WHV phát triển UTTBG, trong khi UTTBG không thấy ở lô chứng (Gerin và cs).*

Bảng 6-3. Tỷ lệ sống sót và phát triển UTTBG của sóc đen dùng trong thực nghiệm.

Các lô sóc đen dùng trong thực nghiệm	Tỷ lệ sống sót sau 56 tháng tuổi (%)	Tỷ lệ phát triển UTTBG (%)
Sóc đen mang WHV mạn	0	100
Sóc đen nhiễm WHV đã hồi phục	42	17
Sóc đen lô chứng không gây nhiễm	62	0

Thực nghiệm của Gerin và cs, lúc 56 tháng tuổi, tất cả các con vật mang WHV mạn đều chết, 42% sóc đen với nhiễm WHV đã hồi phục và 62% sóc đen lô chứng không nhiễm còn sống (bảng 6-3). Thời gian trung vị đến chết do UTTBG ở vật mang WHV là 29 tháng. Các sóc đen hồi phục sau nhiễm WHV sơ sinh có 17% phát triển UTTBG, thấp hơn nhiều so với tỷ lệ vật mang WHV. Không có con nào ở lô chứng nuôi trong phòng thí nghiệm phát triển UTTBG. Các nghiên cứu này chứng minh trực tiếp cho tính sinh ung thư của WHV và gián tiếp cho các hepadnavirut khác bao gồm HBV và GSHV. Tỷ lệ UTTBG trong sóc đen nhiễm WHV mạn thực nghiệm có thể so sánh được với tỷ lệ ở sóc đen nhiễm WHV mạn mắc phải tự nhiên.

Giới tính không ảnh hưởng đến tỷ lệ của nhiễm WHV mạn hoặc UTTBG ở sóc đen gây nhiễm WHV thực nghiệm lúc mới sinh. Đây là một kết quả đáng kinh ngạc vì ở người lẫn loài gặm nhấm nuôi trong phòng thí nghiệm, giới tính đực có tỷ lệ UTTBG cao hơn giới tính cái. Chu kỳ sinh sản hàng năm bất thường của sóc đen có thể giải thích sự khác biệt này. Vì ít nhất 8 tháng trong năm, dịch hoàn của sóc đen đực ở trong bụng và sản xuất rất ít hoặc không có testosterone, về mặt chức năng, được xem gần như ở trong tình trạng thiến.

Khi sóc đen được tiêm chủng chống VG B, chúng giảm 4 lần nhiễm virut mạn và giảm 8 lần nguy cơ UTTBG. Từ thực nghiệm này, nếu phối hợp tiêm chủng và điều trị cho người, có khả năng phòng ngừa được UTTBG, loại ung thư do HBV chịu trách nhiệm khoảng 60%.

2.3.3. Nhiễm GSHV ở sóc đen

Nghiên cứu sao chép hepadnavirut đã bị cản trở do hệ cấy mô còn khá hạn chế. Tuy nhiên, các dòng vô tính nguyên vẹn của bộ gen HBV, WHV, DHBV, GSHV đã được chứng minh là gây nhiễm và khi tiêm trực tiếp vào nhu mô gan của loài vật chủ tương đồng, có thể gây nhiễm virut có sao chép. Trong thực nghiệm chuyển nhiễm (transfection) để xác định gen virut hoặc gen có trách nhiệm hạn chế biên độ chủ, sóc đen có thể bị nhiễm với GSHV. Sóc chuột (chipmunk) (*Eutamias* sp) cũng chứng tỏ là dễ nhiễm với GSHV.

UTTBG ở sóc đen liên quan với nhiễm WHV có một tỷ lệ cao hơn sóc đất ở California nhiễm GSHV và UTTBG ở sóc đất phát triển vào độ tuổi lớn hơn ở sóc đen. Vì không thể gây nhiễm sóc đen với cả hai hepadnavirut, các khác biệt về tính sinh ung thư của GSHV và WHV trong các vật chủ tự nhiên tương ứng có thể xác định là do đáp ứng vật chủ hoặc các khác biệt di truyền virut. Khi sóc đen sơ sinh bị gây nhiễm thực nghiệm với WHV hoặc GSHV, tỷ lệ nhiễm mạn tính cho mỗi virut thì tương tự và vào lúc 2 năm tuổi, không có khác biệt nào được ghi nhận có mức độ VG mạn trầm trọng. Trong khoảng 2 năm, UTTBG phát triển ở 13/16 vật mang WHV mạn trong khi ở vật mang GSHV mạn cùng độ tuổi chỉ có 1/16 phát triển một nốt u gan (đường kính 5mm) được xếp vào loại u tuyến gan. Sự khác biệt giữa GSHV và WHV trong tính sinh UTTBG ở các vật chủ tự nhiên có thể do khác biệt di truyền giữa các virut, tuy không thể loại trừ các khác biệt trong chính yếu tố vật chủ.

Gây nhiễm sóc đất California với WHV sẽ thu được nhiều lợi ích, nhưng không khả thi. Các cố gắng gây nhiễm sóc đất Cali với WHV DNA hiện chưa thành công. Tuy nhiên, các khác biệt trong quyết định di truyền virut về tính sinh ung thư có thể được đánh giá bằng chuyển nhiễm các cấu trúc hepadnavirut WHV/GSHV ảo (chimeric) và các nghiên cứu như thế đã được bắt đầu.

2.4. TÍNH SINH UTTBG TRONG NHIỄM HEPADNAVIRUT

2.4.1. Các bằng chứng sinh UTTBG của nhiễm hepadnavirut

2.4.1.1. Bằng chứng dịch tễ học

Sự tương quan địa lý chặt chẽ giữa tần suất nhiễm HBV và UTTBG đã được chứng minh. Những người nhiễm HBV mạn có một tỷ lệ UTTBG cao hơn nhóm chứng ở các vùng dịch lưu hành cao của châu Phi, châu Á và ngay cả Mỹ và Anh là nơi tỷ lệ nhiễm HBV và UTTBG tương đối thấp. Các nghiên cứu dịch tễ thuần tập ở Đài Loan chứng minh HBV là một tác nhân quan trọng sinh UTTBG ở người. Nguy cơ tương đối của UTTBG là 100 lần lớn hơn ở người nam mang HBV mạn so với lô chứng không mang. Một nguy cơ tương đối cao của UTTBG ở người mang HBV cũng đã được báo cáo ở Mỹ.

2.4.1.2.Bằng chứng phân tử

Nghiên cứu phân tử cho thấy HBV quan trọng trong bệnh sinh UTTBG. Hòa nhập đồng hóa trị của các chuỗi mã HBV DNA đã được chứng minh trong DNA tế bào của nhiều UTTBG người. Sự hòa nhập cũng được thấy trong mô kế cận không ung thư. Các quan sát cho thấy hòa nhập có trước khi hình thành khối u, gợi ý một vai trò sinh ung thư đối với HBV tương tự như vai trò của các virut khác sinh ung thư trong đó sự hiện diện của DNA virut hòa nhập (hoặc DNA provirus trong trường hợp retrovirut), liên quan đến biến đổi ác tính. Hơn nữa, cccDNA của WHV có tính ổn

định rất cao với thời gian bán tồn kéo dài (trên 24 ngày trong môi trường thực nghiệm). cccDNA lại có thể tồn tại khi phân chia tế bào và được phân bố khá hiệu quả trong các tế gan phân chia.

2.4.1.3. Bằng chứng y học so sánh

Vai trò căn nguyên của HBV trong sinh UTTBG cũng được gợi ý qua bằng chứng y học so sánh. Ít nhất, 4 loài của họ Sciuridae đã được mô tả trong đó nhiễm hepadnavirut liên quan đến sự phát triển UTTBG. Tuy bằng chứng hiện nay đã khá thuyết phục là hepadnavirut sinh ung thư, nhưng gây ung thư như thế nào thì chưa được hiểu rõ hoàn toàn.

2.4.2. Các cơ chế phân tử của sự sinh UTTBG gây ra bởi hepadnavirut

Hai giả thuyết không loại trừ lẫn nhau được sơ lược như sau:

- *Hepadnavirut có vai trò sinh UTTBG do gây tổn thương tế bào mạn.* Tổn thương này lần lượt gây VG mạn và tăng vòng quay tái tạo tế bào gan (turnover). Tổn thương gan tiến triển và sau đó tái tạo tế bào gan tạo ra một khung cảnh mà các đột biến tự nhiên dễ xảy ra, tái cấu trúc hoặc chuyển vị nhiễm sắc thể lần lượt làm thay đổi biểu hiện gen tế bào và gián đoạn sự điều hòa sao chép và tăng trưởng tế bào. Vai trò hepadnavirut trong sự sinh UTTBG được so với quá trình xúc tiến (promotion) hay quá trình tăng tiến (progression) của sự sinh UTTBG hóa học trong các động vật thực nghiệm.

- *Hepadnavirut có một vai trò phân tử trực tiếp trong sinh UTTBG.* Sự hòa nhập của các chuỗi mã axit nucleic hepadnavirut vào DNA tế bào chủ được xem là một sự kiện đột biến gen chủ yếu làm thay đổi biểu hiện các gen trong tế bào (gen tiền ung thư, gen ức chế u) làm chuyển dạng thành UTTBG. Hepadnavirut được xem là cần thiết khởi đầu các sự kiện chuyển dạng tương tự như các chất sinh UTTBG hóa học.

Giả thuyết phân tử được chứng minh qua phát hiện các chuỗi mã axit nucleic hepadnavirut hòa nhập vào DNA tế bào u gan ở những người nhiễm HBV. Khi DNA tiền virut của retrovirut hòa nhập vào một số điểm trong DNA tế bào chủ, biểu hiện gen tiền ung thư có thể bị thay đổi bằng đột biến xen đoạn. Các hòa nhập axit nucleic virut tương tự được quan sát trong các ung thư loài có vú khác gây nên do các DNA virut tạo u.

Các chuỗi mã WHV hòa nhập thường được thấy ở UTTBG sóc đen. Trong đa số trường hợp, chỉ có các thành phần của bộ gen virut hòa nhập và các chuỗi mã này thường được cấu trúc lại. Nhân dòng phân tử của WHV DNA hòa nhập và các chuỗi mã cạnh sườn kết hợp của DNA tế bào đã cho thấy sự hòa nhập xảy ra tại nhiều điểm bên trong bộ gen sóc đen và nhiều thành phần hòa nhập có thể gặp trong một

khối u duy nhất. Nhằm giải thích sự hiện diện của nhiều hòa nhập, hai động vật thực nghiệm đã được gợi ý. Đầu tiên, nhiều thành phần hòa nhập hepadnavirut có thể tích lũy trong một tế bào gan duy nhất và chúng có thể được nhân dòng sau khi tế bào gan chuyển dạng. Sau khi DNA hepadnavirut hòa nhập, sự tái cấu trúc thứ phát của các chuỗi mã DNA virut hòa nhập xảy ra. WHV DNA hòa nhập ở gan sóc đen không ung thư. Hòa nhập xảy ra trước khi mở rộng dòng vô tính của các khối u và vì thế sự hòa nhập được xác định xảy ra trước khi phát triển UTTBG.

Gen sinh ung tương tự như các gen trong chuyển dạng retrovirut, không có trong bộ gen hepadnavirut loài có vú. Phân tích RNA của UTTBG ở sóc đen mang WHV mạn không thấy các gen tiền ung thư gia tăng các phiên mã. Tuy nhiên, *c-myc* biểu hiện tăng lên (5 đến 50 lần) được quan sát ở 3/9 UTTBG sóc đen và có sự tái cấu trúc và cắt cụt gen. Trong mô hình sóc đen nhiễm WHV trong UTTBG do WHV, sự hoạt hóa gen sinh ung thư N-*myc* thường gặp do hòa nhập WHV đã được xác định chắc chắn. N-*myc2*, gen gây bệnh thường gặp nhất, được cho là hoạt hóa bằng sự xen đoạn WHV gần gen hoặc trong một ổ gen không mã hóa xa, gọi là win. Bruni và cs. đã báo cáo sự hòa nhập WHV được nhân dòng từ một khối ung thư gan định vị trong một ổ gen vừa được mô tả như là điểm hòa nhập WHV trong UTTBG khác. Trên cơ sở này, ổ gen được gọi là b3n, được xác định như là điểm hòa nhập WHV thường gặp. Một vùng gắn chất cơ bản hoặc dàn khung (S/MAR, scaffold or matrix attachment region) về sau cho thấy định vị trong ổ gen này vào khoảng 1 kb từ điểm xen đoạn WHV. S/MAR là các thành phần di truyền liên quan đến sự hình thành cấu trúc hoặc chức năng của DNA thể nhiễm sắc và kích thích biểu hiện gen. Bruni khảo sát khả năng gen N-*myc* có thể bị tác động bởi sự hòa nhập trong b3n. Phân tích khối u gan có hoà nhập WHV trong ổ gen này N-*myc2* biểu hiện quá mức. Qua phân tích hạn chế, ổ gen b3n được chứng minh định vị dưới dòng của N-*myc2*, sao cho điểm xen đoạn virut đã biết ở b3n ở vào khoảng 11 kb dưới dòng của gen khởi đầu N-*myc2*. Tuy các số liệu này cho rằng xen đoạn WHV trong b3n hoạt hóa N-*myc2* không giải thích thỏa đáng cho sự hoạt hóa trong một tập hợp nhỏ các hòa nhập WHV này. Các số liệu hiện nay cho thấy hoạt hóa N-*myc2* bằng sự hòa nhập WHV trong b3n có thể được thực hiện bởi S/MAR định vị gần xen đoạn WHV. Hoạt hóa c-*myc* gặp khoảng 10% trong các UTTBG sóc đen.

Fourel và cs đã phát hiện sự hoạt hóa c-*myc* bằng xen đoạn WHV DNA trong hai UTTBG riêng biệt đã giúp củng cố giả thuyết cho rằng sự hòa nhập của virut VG B vào bộ gen ký chủ, gặp trong đa số các u gan người và sóc đen, góp phần vào sự sinh ung thư. Một tần số hòa nhập WHV DNA cao trong hai gen N-*myc* vừa được xác định: N-*myc1*, là gen tương tự với gen N-*myc* người đã biết; và N-*myc2*, một "gen DNA bổ trợ" không có intron, còn gọi là "retroposon" (gen nhảy ngược). N-*myc2* hoàn toàn yên lặng trong gan bình thường, nhưng biểu hiện quá mức mà không có

các tái cấu trúc trong đa số các u gan. Hơn nữa, các hòa nhập virut xảy ra bên trong N-*myc1* hoặc N-*myc2* khoảng 20% khối u, làm tăng RNA thông tin ảo trong đó vùng 3' không dịch mã của N- được thay thế bởi các chuỗi mã WHV bao quanh gen tăng cường virut. Các điểm xen đoạn được tập hợp trong một chuỗi mã ngắn của exon thứ ba trùng khớp với một điểm nóng hòa nhập retrovirut bên trong gen N-*myc* chuột, được mô tả gần đây trong lymphoma tế bào T gây nên do virut leukemia chuột. Qua so sánh, biểu hiện mất điều hòa của gen N-*myc* có thể phát triển các khối u liên quan đến virut VG hoặc bởi retrovirut trong loài gặm nhấm. Sự hoạt hóa gen *myc* bằng cách xen đoạn của hepadnavirut DNA hiện nay xuất hiện như một sự kiện thường gặp trong sự sinh UTTBG của sóc đen.

Hiện nay, trong nhiễm WHV tự nhiên hoặc thực nghiệm, các thành phần hòa nhập virut ưu tiên kết hợp với ổ gen N-*myc2* nằm ở một vùng 3 kb trên dòng của N-*myc2* hoặc trong vùng không mã hóa 3'. Sự xen đoạn của các chuỗi mã gen tăng cường WHV trên hoặc dưới dòng của vùng mã hóa N-*myc2* làm sản sinh N-*myc2* RNA bình thường hoặc các phiên mã N-*myc2*/WHV lai, bắt đầu tại điểm khởi đầu N-*myc2* bình thường. Trong sinh UTTBG gây nên bởi WHV, hoạt hóa phiên mã của gen tiền ung thư họ *myc* bằng xen đoạn gen tăng cường là một cơ chế thường gặp. Một phần tử điều hòa đặc hiệu gan trong bộ gen WHV gần đây được xác định kiểm soát sự hoạt hóa *cis* gen *myc* (*myc* gene *cis* activation).

Cũng như sóc đen, UTTBG của sóc đất California nhiễm GSHV ít gặp tăng biểu hiện N-*myc2* tuy sóc đất Cali có ổ gen này. Tuy nhiên, khuếch bội biểu hiện c-*myc* hay gặp. UTTBG do sóc đen gây nhiễm thực nghiệm với WHV hoặc với GSHV được phân tích bởi Hansen và cs đã xác nhận xu hướng bộ gen WHV DNA hòa nhập vào trong hoặc gần ổ gen N-*myc2*. Các khối u gây nên bởi WHV có tái cấu trúc của allen N-*myc2* trong 7/17 trường hợp (41%), trong khi chỉ có 1/16 khối u gây nên bởi GSHV (6%) có các tái cấu trúc như thế.

Dựa vào các quan sát này, các khác biệt trong xen đoạn hepadnavirut và biểu hiện N-*myc* giữa sóc đen và sóc đất được kết luận là chủ yếu do các khác biệt di truyền virut và không khác biệt trong vật chủ tương ứng.

2.4.3. VG mạn và UTTBG

Lãnh vực quan trọng khác của nghiên cứu về vai trò hepadnavirut trong sự sinh UTTBG dựa vào giả thuyết viêm và hoại tử gan do virut VG kèm theo sự tái tạo tế bào gan làm tăng cường tính dễ mắc hoặc cố định các đột biến nhiễm sắc thể có trách nhiệm chuyển dạng ung thư của tế bào gan. Các quan sát tổn thương gan mạn liên quan với xơ gan có trước khi phát triển UTTBG do nhiễm HBV giúp củng cố giả thuyết này. Một tỷ lệ UTTBG gia tăng đáng kể đã được quan sát trong các thể bệnh gan mạn di truyền ở người. Bệnh nhiễm sắc tố sắt (hemochromatosis) và bệnh thiếu

α1-antitrypsine kết hợp với tổn thương tế bào gan tiến triển và tái tạo gan. Trong hai bệnh này, xơ gan gần như luôn có trước khi phát triển UTTBG.

Bằng chứng thực nghiệm khá ấn tượng chứng minh cho vai trò của tổn thương gan có vai trò quyết định trong UTTBG liên quan với hepadnavirut từ công trình của Chisari và cs với chuột chuyển gen. Các tác giả đã nghiên cứu các dòng chuột trong đó các mã chuyển gen với protein HBV vỏ ngoài lớn. Trong các dòng chuột chuyển gen, họ đã tìm thấy mối liên quan trực tiếp giữa biểu hiện và duy trì HBsAg trong tế bào gan và độ trầm trọng của VG. Một tương quan chặt chẽ giữa mức trầm trọng của VG trong chuột chuyển gen và sự phát triển UTTBG. Bên trong gan, sự sản xuất gốc tự do tăng lên cùng với tổn thương DNA oxy hóa tương tự với những gì được quan sát trong gan của các động vật thực nghiệm khác.

2.4.4. Tương tác giữa chất sinh ung thư hóa học và hepadnavirut trong bệnh sinh UTTBG

Bannasch và cs đã công bố về tác dụng hợp đồng sinh UTTBG của nhiễm hepadnavirut và aflatoxin B1, một trong những chất sinh UTTBG mạnh nhất, trong khẩu phần của sóc đen. Sóc đen được nhiễm truyền WHV vào lúc sinh. Khi sóc đen được 12 tháng tuổi, aflatoxin B1 (AFB1) được cho vào khẩu phần ăn với liều 40 μg/kg cơ thể/ngày trong 4 tháng và sau đó giảm liều cho đến suốt đời. Vật mang WHV có hay không dùng AFB1 có tỷ lệ cao các ổ tiền ung thư của các tế bào gan thoái hóa, các u tuyến tế bào gan và các carcinom tế bào gan xuất hiện từ 6-26 tháng sau khi bắt đầu thí nghiệm. Việc dùng AFB1 làm vật mang WHV xuất hiện UTTBG sớm một cách có ý nghĩa và tỷ lệ mắc UTTBG cao hơn khi so với vật mang WHV không dùng AFB1. Ở sóc đen không gây nhiễm WHV chỉ nhận AFB1 đơn thuần, không có u tuyến hoặc UTTBG (trừ các ổ tiền ung thư của các tế bào gan thoái hóa). Ở lô chứng không được xử lý, không thấy có tổn thương nào. Các kết quả đưa ra bằng chứng thuyết phục về một tác động hợp đồng sinh UTTBG của nhiễm hepadnavirut và AFB1 trong khẩu phần.

2.4.5. Sự sản xuất nitric oxide trong nhiễm hepadnavirut

Một cơ chế có khả năng sinh UTTBG khác kết hợp với nhiễm hepadnavirut đã được gợi ý qua các nghiên cứu về sự sản xuất nitric oxide (NO) trong bệnh gan mạn. Trong gan, sinh tổng hợp NO từ arginin được xúc tác bởi NO synthetase cảm ứng. Hoạt tính của enzym này có thể bị cảm ứng bởi nội độc tố, interferon-γ và các cytokine khác. Với một số điều kiện, NO có một tác động bảo vệ chống lại với tổn thương gan thực nghiệm, trong khi một số điều kiện khác, NO gan có thể góp phần vào việc hạ huyết áp trong sốc nhiễm khuẩn.

Sóc đen nhiễm WHV mạn tiết ra nhiều nitrat trong nước tiểu và nhiều nitrosodimethylamin (NDMA) hơn lô chứng không nhiễm. Nitrat và NDMA được

cho là có nguồn gốc từ tác nhân chuyển đảo thành hợp chất nitroso (NO) tạo nên trong quá trình chuyển đảo L-arginin thành NO. Bài tiết nitrat trong nước tiểu gia tăng cũng được báo cáo ở bệnh nhân nhiễm HBV mạn. Trong môi trường cấy tế bào gan sóc đen nguyên thủy, NO có thể được tổng hợp bởi nội độc tố và môi trường nuôi cấy tế bào gan của vật mang WHV mạn sản xuất nhiều NO và nitrosamin hơn tế bào gan ở lô chứng không nhiễm.

Dòng tế bào gan SV40 sóc đen chuyển dạng kháng nguyên T được chứng minh sản xuất NO trong đáp ứng với nội độc tố bằng con đường L-arginin-NO và sản xuất NDMA mới. NO phản ứng với O_2 để sản xuất NO_2, tồn tại cân bằng với N_2O_3 và N_2O_4. N_2O_3 và N_2O_4 là các tác nhân chuyển thành hợp chất nitroso (NO) mạnh có khả năng phản ứng với nước để tạo thành nitrit và nitrat, hoặc trong dung dịch trung tính, dialkinlamin tạo thành nitrosamin. NO có thể xem như một chất sinh ung thư gián tiếp bằng cách hình thành nitrosamin sinh UTTBG như NDMA, là một tác nhân kiềm hóa mạnh có khả năng sinh các đột biến điểm bằng guanin methyl hóa thành 7-methyl và O^6-methylguanin hoặc adenin thành 3-methyl-adenin.

NO có thể là chất gây đột biến trực tiếp. *In vitro*, NO có thể khử amin dexoynucleosit, deoxynucleotit, hoặc DNA toàn vẹn và tham dự vào các đột biến liên quan đến khử amin. Trên cơ sở các nghiên cứu tỷ lệ khử amin của guanin thành xanthin, các chuyển tiếp guanin/cytosin thành adenin/thymin dự báo đây có thể là một thể hay gặp của đột biến do NO gây ra. Adenosin bị khử amin thành hypoxanthin tạo nên các chuyển tiếp adenin/thymin thành guanin/cytosin trong khi lấy đi xanthin do khử amin của guanin sẽ gây khử purin và các dị hoán G*C thành G*A. Các dữ liệu *in vitro* này, cùng với việc NO gia tăng trong gan nhiễm hepadnavirut, gợi ý là NO có thể là nguyên nhân trong sự sinh UTTBG.

2.5. HOẠT TÍNH ANTI-WHV VÀ ĐỘC TÍNH CỦA CÁC THUỐC KHÁNG VIRUT

Sóc đen trưởng thành nhiễm WHV mạn thực nghiệm đã được dùng để đánh giá hoạt tính kháng virut và độc tính của thuốc điều trị nhiễm HBV. Các dấu ấn huyết thanh của nhiễm WHV (WHsAg, anti-WHc và anti-WHs) và nồng độ WHV DNA huyết thanh được đo trước điều trị với các thời khoảng 4, 12, hoặc 24 tuần và sau khi ngưng thuốc trong 12 hoặc 24 tuần. Sinh thiết gan qua da dưới hướng dẫn của siêu âm được thực hiện trước điều trị, lúc điều trị chấm dứt và trong thời gian theo dõi sau điều trị. Sinh thiết gan được xét nghiệm mô học về mức trầm trọng của VG và biểu hiện của các kháng nguyên WHc và WHs, và được định lượng axit nucleic WHV qua phân tích thấm tách Southern và Northern.

2.5.1. Trắc nghiệm hoạt tính kháng virut

Một loạt thuốc đã được trắc nghiệm hoạt tính kháng virut ở sóc đen bao gồm các chất tương tự nucleosit và các chất điều biến đáp ứng miễn dịch. Các chất tương tự

nucleosit đầu tiên được trắc nghiệm hoạt tính kháng virut *in vitro* chống lại HBV trong hệ tế bào 2.2.15 trước các nghiên cứu sóc đen. Thuốc được xếp loại trên cơ sở các chỉ số chọn lọc *in vitro* (SI, selection index).

Zidovudine (AZT) không có tính chọn lọc trong các tế bào 2.2.15 và không có tác dụng kháng virut ở sóc đen.

Ara-AMP có hoạt tính kháng virut trung bình *in vitro* và hoạt tính kháng virut quan trọng ở sóc đen *in vivo* với một liều 15 mg/kg/ngày. Các chất tương tự nucleosit khác có hoạt tính kháng HBV trung bình *in vitro* đã được chứng minh kháng virut *in vivo*.

3 TC (lamivudine), có SI *in vitro* cực kỳ cao, kháng virut mạnh ở sóc đen với liều 5 hoặc 15 mg/kg/ngày trong 28 ngày. Các thuốc khác được quan sát có hoạt tính ít hơn 3 TC ở sóc đen ngay cả với liều khá cao. Lamivudine làm giảm nồng độ WHV trong huyết thanh của sóc đen nhiễm WHV mạn bằng cách ức chế tổng hợp DNA virut. Tuy nhiên, sau 6-12 tháng, nồng độ WHV bắt đầu tăng trở lại về nồng độ trước điều trị. Ba biến dị WHV có các đột biến trong điểm hoạt động của gen DNA polymerase xuất hiện vào lúc này.

Adefovir, trước đây được biết với tên là PMEA (9-(2-phosphonylmethoxyethyl) adenyl) là chất tương tự adenin nucleotit có hoạt tính ức chế khá mạnh trên sự tổng hợp WHV DNA trong môi trường nuôi cấy tế bào gan nhiễm virut mạn. Nhưng cccDNA là một phân tử khá ổn định có vẻ không bị ảnh hưởng và truyền khá hiệu quả vào các tế bào gan đang phân chia.

Entecavir

Entecavir là chất tương tự nucleosit giống guanine đã được thử nghiệm trên động vật sóc đen. Cho 11 sóc đen uống mỗi ngày một liều duy nhất 0,5 mg/kg trong 8 tuần. Sau đó, cũng với liều trên, nhưng một tuần uống một liều trong 12 hoặc 34 tháng. 9/10 sóc đen được điều trị ít nhất 14 tháng có WHV không phát hiện được trong 44 tuần. WHV cccDNA và cả kháng nguyên lõi WHV trong các mẫu sinh thiết gan không còn phát hiện được ở tất cả con vật được khảo sát. Trong 5 sóc đen được điều trị trong 14 tháng, có 3 con có đáp ứng anti-HBV kéo dài, cho dù không có điều trị trong 21 tháng. 2 sóc đen có bùng phát DNA virut sau khi ngưng điều trị và chết vì UTTBG. Tất cả 5 sóc đen được điều trị trong 3 năm có WHV DNA giảm kéo dài suốt lúc điều trị và không có con nào chết vì UTTBG. Entecavir được dùng điều trị lâu dài có hiệu quả cao và dung nạp tốt ở các con vật được nghiên cứu. Entecavir có vẻ kéo dài sự sống và ngăn ngừa UTTBG.

Emtricitabine (FTC, Coviracil)

Emtricitabine là chất tương tự cytosin có tác dụng ức chế mạnh sao chép HBV và có tác dụng hợp đồng khi kết hợp với các thuốc điều trị HBV khác trong phòng

thí nghiệm. Ở sóc đen, với liều 3 mg/kg, tất cả con vật được điều trị đều giảm WHV DNA trong máu. Một tuần sau khi điều trị ngưng, Nồng độ WHV trở lại như khi trước điều trị, tương tự như LAM.

L-FMAU

L-FMAU (2'Fluoro-5-methyl-β-L-arabinofuranosyl uracil) đã được chứng minh có hiệu quả ở sóc đen nhiễm virut mạn thực nghiệm được điều trị với nhiều liều lượng khác nhau trong 4 tuần. Trong 7 ngày điều trị đầu tiên, WHV DNA huyết thanh giảm xuống 1000 lần và tất cả trừ khi dùng liều L-FMAU thấp, trở nên không phát hiện được sau đó trong đa số con vật.

Một nghiên cứu sau đó dùng L-FMAU với liều 10 mg/kg trong 12 tuần, virut không xuất hiện trở lại trong đa số sóc đen một khoảng thời gian dài sau khi ngưng thuốc. Bằng chứng phân tử nhiễm virut trong gan vẫn không được phát hiện từ tuần thứ 4 đến tuần thứ 12 sau khi điều trị và duy trì tình trạng này trong 36 tuần sau điều trị. Thuốc dung nạp tốt, đang còn trong giai đoạn thử nghiệm I/II.

Bảng 6-4. Các tác dụng kháng virut và gây độc của các tác nhân kháng virut trong sóc đen mang WHV mạn so với các kết quả in vitro và ở các bệnh nhân nhiễm HBV.

Thuốc	Chỉ số chọn lọc (tế bào 2.2.15)[a]	Sóc đen		Người	
		Độc tính	Hiệu quả	Độc tính	Hiệu quả
AZT	-	-	-	+	-
Thymosin	-	-	+	-	+
Ribavirin	5	+[b]	+	+[b]	+
Ara-AMP	5	-	++	+/-	++
FIAU	9	+++[c]	+++	+++[c]	+++
IFN-alpha	76	-	+	+/-	+
3TC	8900	-	++	-	+++

[a] Chỉ số chọn lọc (SI) được xác định bằng EC_{90} (nồng độ của thuốc qua đó 90% sự sản xuất HBV DNA bị ức chế) chia cho CC_{50} (nồng độ của thuốc gây nhiễm độc tế bào của 50% các tế bào 2.2.15

[b] Thiếu máu hồi phục. [c]. Nặng, nhiễm độc gan kéo dài

Ngưng điều trị thuốc tương tự nucleosit ở sóc đen, WHV DNA huyết thanh nhanh chóng trở lại mức độ trước điều trị. Với đa số thuốc, điều này xảy ra trong một hoặc hai tuần sau khi điều trị chấm dứt, nhưng với fialuridine (D-FIAU), nồng độ WHV DNA huyết thanh trở về mức độ trước điều trị chậm hơn 12 tuần.

Interferon α (IFN-α, rhuIFN α B/D) và thymosin-α-1 (TA1) là các chất điều biến miễn dịch đã được trắc nghiệm trong sóc đen. IFN-α dùng trong sóc đen có hoạt tính kháng virut mạnh *in vitro* (bảng 6-4) và *in vivo*. TA1 được cho với liều 90

$\mu g/m^2$ 2 lần/tuần tiêm dưới da có tác dụng kháng virut mạnh ở vật mang WHV mạn nhưng không có hoạt tính *in vitro*. Tuy nhiên, cũng như khi điều trị với các thuốc nucleosit, sau khi ngưng cả hai IFN-α và TA1, WHV DNA huyết thanh trở về mức gần với trước khi điều trị sau 12 tuần. Các thuốc này cũng không ảnh hưởng đến cccDNA trong nhân tế bào gan và cccDNA lại là DNA khuôn tổng hợp RNA tiền S và S, nên nồng độ HBsAg không giảm xuống.

2.5.2. Đánh giá độc tính của thuốc

Sóc đen cũng có ích trong đánh giá độc tính của nucleosit. Phần lớn các thuốc được thử nghiệm về hoạt tính kháng virut ở sóc đen đã được thấy là không độc khi điều trị khoảng 4-12 tuần. Carbocyclic 2'-deoxyguanosin (2'CDG) độc tính cao với liều thấp 0,06mg/kg/ngày. D-FIAU và các chất tương tự như 5-methyl (D-FMAU) và 5-ethyl (D-FEAU) cũng độc.

Độc tính của 2'CDG được thấy sớm sau khi dùng thuốc. D-FEAU và D-FIAU cho thấy một kiểu độc tính khác. D-FEAU không độc sau 10 ngày hoặc 4 tuần điều trị, nhưng sau 12 tuần điều trị tiếp tục với liều 0,2mg/kg/ngày, thuốc khá độc và điều trị sẽ gây tử vong cao.

Trong một thử nghiệm ban đầu về tính kháng virut của D-FIAU, dùng các liều 0,5 và 1,5 mg/kg/ngày được tiêm vào phúc mạc trong 4 tuần, không thấy có độc tính quan trọng nào, nhưng với liều 1,5 mg/kg/ngày, có hoạt tính kháng virut mạnh. Trong một nghiên cứu về D-FIAU 4 tuần ở bệnh nhân nhiễm HBV, không có độc tính quan trọng nào xảy ra, nhưng một nghiên cứu sau đó với thời gian dài hơn thì thấy có độc tính nặng nề nên nghiên cứu bị chấm dứt sớm. Các nghiên cứu độc tính tiền lâm sàng của D-FIAU được thực hiện bằng cách dùng các loài vật phòng thí nghiệm quy ước và được ghi nhận là không có độc tính. Vì độc chất học thực nghiệm đã được thực hiện trên loài vật có gan bình thường, vậy vai trò của nhiễm HBV trong gây độc gan ở các bệnh nhân này là thế nào, hiện vẫn chưa được nghiên cứu đầy đủ.

Một nghiên cứu tiếp theo trong đó D-FIAU được dùng cho cả sóc đen nhiễm WHV và không nhiễm với một liều 1,5mg/kg/ngày. Không có độc tính được thấy sau 4 tuần nhưng giảm trọng lượng trung bình được thấy sau 7 tuần ở cả 2 nhóm điều trị với D-FIAU có hoặc không có WHV(+). Từ 7 tuần về trước việc dùng thức ăn ở sóc đen được điều trị với D-FIAU bị giảm dần so với lô chứng. Toan biến dưỡng nặng phát triển ở sóc đen điều trị với D-FIAU và lactat huyết thanh tăng mạnh ở các bệnh nhân lâm sàng. Tổn thương gan trong các nhóm được điều trị D-FIAU cho thấy qua việc giảm fibinogen huyết thanh và tăng thời gian prothrombin.

Sóc đen được điều trị với D-FIAU phát triển thoái hóa mỡ vi nang ở gan giống một cách đáng chú ý với những gì thấy được ở bệnh nhân có độc tính D-FIAU. Phân nửa sóc đen điều trị với D-FIAU chết trong 12 tuần sau khi bắt đầu điều trị và các sóc đen còn lại chết trong 4 tuần đầu sau khi chấm dứt điều trị. Tỷ lệ sống sót phụ thuộc vào việc có hay không có nhiễm WHV mạn.

Ở người và sóc đen nhiễm độc D-FIAU, sự hòa nhập đáng kể của D-FIAU vào DNA tế bào gan đã được quan sát. Trong các nghiên cứu trên khỉ, chuột và chó điều trị với D-FIAU, sự hòa nhập của D-FIAU vào DNA tế bào được thấy trong cả 3 loài, nhưng không có loài nào trong số đó có độc tính D-FIAU. Ở chuột, gan có vẻ là một mục tiêu nhỏ cho hòa nhập D-FIAU sau một ngày, nhưng sau 77 ngày điều trị D-FIAU, DNA gan có một hàm lượng D-FIAU cao hơn bất cứ mô nào khác được nghiên cứu. Chuột điều trị với 255 hoặc 510 mg/kg D-FIAU từ 70 đến 100 ngày có mức độ D-FIAU hòa nhập vào DNA gan 10 lần cao hơn nồng độ được quan sát ở sóc đen được điều trị với D-FIAU. Chó điều trị trong 90 ngày với liều so sánh với liều dùng ở sóc đen, có nồng độ D-FIAU hòa nhập vào DNA gan tương tự với sóc đen. Tuy nhiên, ở chuột và chó, không có độc tính quan trọng nào liên quan với sự hòa nhập D-FIAU vào DNA

Độc tính D-FIAU ở người và sóc đen cùng với giảm mtDNA gan đáng kể. Sự giảm sút mtDNA gan được quan sát ở khỉ, chuột và chó lần lượt điều trị với D-FIAU, nhưng độc tính thấy ở người và sóc đen không xảy ra. Các kết quả này gợi ý rằng mtDNA giảm và sự hòa nhập của D-FIAU vào DNA tế bào có thể là các yếu tố quan trọng trong độc tính D-FIAU, nhưng các sự kiện này không thể đủ giải thích độc tính của D-FIAU trên cơ sở dược lực học so sánh hiện nay. Có lẽ các mục tiêu tế bào khác của D-FIAU cũng có thể bị dính líu.

Vì độc tính của D-FIAU không bị ảnh hưởng bởi nhiễm WHV, điều được kết luận là các khác biệt đặc hiệu loài trong độc tính của D-FIAU tồn tại một mặt giữa chuột lắc, chuột và chó và mặt khác là người và sóc đen. FIAC, một tiền chất của FIAU, D-FMAU và D-FEAU, tất cả đã được chứng minh có độc tính muộn đáng kể ở sóc đen tương tự những gì quan sát với D-FIAU. Sự giống nhau của các hội chứng nhiễm độc D-FIAU ở sóc đen và người cho thấy sóc đen là động vật thực nghiệm có giá trị trong nghiên cứu sinh bệnh học của nhiễm độc D-FIAU và trong đánh giá độc chất học tiền lâm sàng của các thuốc tương tự nucleosit.

3. TÓM TẮT

Do nuôi cấy HBV khó khăn, nhiều động vật đã được dùng trong nghiên cứu về chiến lược sao chép HBV và hiệu quả của các tác nhân kháng virut.

Vịt thực nghiệm đã cung cấp một mô hình nghiên cứu khá hiệu quả về các mục tiêu trên. Tuy nhiên, DHBV chỉ có 3 KĐM: S, C và P; thiếu KĐM X. Chính KĐM X được xem liên quan đến sự sinh UTTBG. Chính vì thế, ở vịt thực nghiệm không có UTTBG, nếu có thường là do các yếu tố sinh ung thư khác. Nhiều thuốc kháng virut đã được thực nghiệm trên vịt thực nghiệm và đã có nhiều thành công bước đầu trong ứng dụng điều trị.

Sóc đen thực nghiệm nhiễm HBV có giá trị trong nghiên cứu sinh bệnh học nhiễm hepadnavirut và trong bệnh sinh UTTBG. Sóc đen này cũng có thể có ích trong phát triển các thuốc kháng virut và các dạng mới của liệu pháp miễn dịch. Đặc biệt, sóc đen khá lý tưởng trong nghiên cứu tác động của điều trị kháng virut và miễn dịch trên hậu quả của nhiễm hepadnavirut và trên tuổi thọ. Tuổi thọ trung vị của sóc đen mang WHV mạn, gây nhiễm thực nghiệm độ 29 tháng và gần như tất cả đều phát triển UTTBG. Điều này giúp đánh giá các tác dụng của các can thiệp dự phòng hoặc điều trị mới và xác lập tính hiệu quả bằng cách dùng các thủ thuật thực nghiệm đối chứng trong động vật thích ứng với một khung thời gian hợp lý.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. **Luscombe CA, Locarnini SA**. Avihepadnaviridae. In Zuckerman AJ, Thomas HC, editors. Viral Hepatitis. 2nd ed. London. Churchill Livingstone; 1998: 115-26.
2. **Tennant BC**. Woodchuck hepadnviruses. In Zuckerman AJ, Thomas HC, editors. Viral Hepatitis. 2nd ed. London. Churchill Livingstone; 1998: 129-40.
3. **Fourel-G; Trepo-C; Bougueleret-L; Henglein-B; Ponzetto-A; Tiollais-P; Buendia-MA.** Frequent activation of N-*myc* genes by hepadnavirus insertion in woodchuck liver tumours. Comment in: Nature 1990 Sep 20;347(6290):230-2.
4. **Bannasch-P; Khoshkhou-NI; Hacker-HJ; Radaeva-S; Mrozek-M; Zillmann-U; Kopp-Schneider-A; Haberkorn-U; Elgas-M; Tolle-T; et-al.** Synergistic hepatocarcinogenic effect of hepadnaviral infection and dietary aflatoxin B1 in woodchucks. Cancer-Res. 1995 Aug 1; 55(15): 3318-30
5. **Nguyen-T; Brunson-D; Crespi-CL; Penman-BW; Wishnok-JS; Tannenbaum-SR**. DNA damage and mutation in human cells exposed to nitric oxide in vitro. Proc-Natl-Acad-Sci-U-S-A. 1992 Apr 1; 89: 3030-4.

6. **NCBI.**Hepadnaviridae.
http://www.nc../wgetorg?mode=Undef&id=10404&lvl=3&keep=1&srchmode=1&unloc

7. **Dandri M; Burda MR; Will H; Petersen J.** Increased hepatocyte turnover and inhibition of woodchuck hepatitis B virus replication by adefovir *in vitro* do not lead to reduction of the closed circular DNA. Hepatology 2000; 32:139-146.

8. **Zhou T; Saputelli J; Aldrich CE; Deslauriers M; Condreay LD; Mason WS.** Emergence of drug-resistant populations of WHV in Woodchucks treated with lamivudine. Antimicrob Agents Chemother 1999 Aug; 43 (8): 1947-1954.

9. **Garelik G.** Vaccine prevents liver cancer. United Press International. Monday December 8, 1997.

10. **Bruni R; D'Ugo E; Giuseppetti R; Argentini C; Rapicetta M.** Activation of the N-*myc2* oncogene by woodchuck hepatitis virus integration in the linked downstream b3n locus in woodchuck hepatocellular carcinoma. Virology 1999 May 10; 257 (2): 483-90.

11. **Baker R.** Oral entecavir shows promise for treatment of chronic hepatitis in humans. http://www.hivandhepatitis.com/hep_b/091900.html.

12. **Coviracil.** A potent antiviral nucleoside analogue. http://www.tripharm.com/hbv_coviracil.html.

13. **L-FMAU.** A potent antiviral pyrimidine nucleoside analogue. http://www.tripharm.com/lfmau.html.

Chương 7
DỊCH TỄ HỌC VIÊM GAN B

Trang

1. CÁC DẤU ẤN HUYẾT THANH CỦA NHIỄM HBV 162
2. PHÂN BỐ NHIỄM HBV TRÊN THẾ GIỚI 164
3. SỰ PHÂN VÙNG NHIỄM VIRUT VG B 165
3.1. Vùng dịch lưu hành cao 165
3.2. Vùng dịch lưu hành trung bình 166
3.3. Vùng dịch lưu hành thấp 166
4. CƠ CHẾ VÀ ĐƯỜNG TRUYỀN NHIỄM 167
4.1. Truyền qua máu hoặc dịch cơ thể nhiễm Virut 169
4.1.1. Nhiễm virut do tiếp xúc với máu hoặc dịch nhiễm virut 169
4.1.2. Tiếp xúc trực tiếp với máu qua kim tiêm nhiễm virut 169
4.2. Truyền do tiếp xúc tình dục 169
4.2.1. Sự truyền nhiễm HBV do tiếp xúc đồng tính 170
4.2.2. Sự truyền nhiễm HBV do sự tiếp xúc dị tính luyến ái 170
4.3. Truyền nhiễm chu sinh 170
4.4. Các đường truyền khác 171
4.4.1. Nhiễm HBV ở trẻ em 171
4.4.2. Vai trò của nước bọt 173
4.4.3. Nhiễm virut qua đường miệng 173
4.4.4. Vai trò của tinh dịch và dịch tiết âm đạo 173
4.4.5. Đường lây nhiễm qua da 174
4.4.6. Các kiểu lây nhiễm khác 174
4.4.7. Vai trò của côn trùng 174
4.4.8. Truyền nhiễm người-sang-người từ tổn thương da nhiễm virut 175
4.4.9. Nhiễm virut trong bệnh viện 175
4.4.10. Các yếu tố di truyền 176
4.4.11. Một số trường hợp khác 176
5. CÁC KIỂU TRUYỀN NHIỄM VG B THEO VÙNG 176
5.1. Các vùng dịch lưu hành cao 177
5.1.1. Ở các nước Đông và Đông Nam Á 177
5.1.2. Ở Châu Phi, Nam Mỹ, Trung Đông và các quần đảo Thái Bình Dương 177
5.2. Vùng dịch lưu hành trung bình 178
5.3. Vùng dịch lưu hành thấp 178
5.3.1. Truyền nhiễm ở trẻ sơ sinh 179
5.3.2. Truyền nhiễm ở thanh niên và người lớn 179
6. CÁC VẤN ĐỀ KHÁC LIÊN QUAN ĐẾN DỊCH TỄ HỌC NHIỄM HBV 180
6.1. Nhiễm HBV tồn tại 180
6.1.1. Nhiễm virut mạn HBeAg(+) 181
6.1.2. Nhiễm virut mạn HBeAg(-) 181
6.2. Các bệnh kết hợp 182
6.3. Rượu và nhiễm HBV 184
6.4. Aflatoxin và HBV 184
7. DỊCH TỄ HỌC CỦA NHIỄM VIRUT VG B Ở KHU VỰC CHÂU Á- THÁI BÌNH DƯƠNG 185

7.1. Các đặc trưng dịch tễ học của nhiễm HBV *185*
7.1.1. Phân bố tần số nhiễm *185*
7.1.2. Khác biệt do di dân *186*
7.1.3. Khác biệt chủng tộc *186*
7.1.4. Ảnh hưởng của can thiệp *186*
7.1.5. Phân bố theo tuổi *186*
7.1.6. Phân bố theo giới tính *187*
7.1.7. Tình trạng kinh tế xã hội và nghề nghiệp *187*
7.2. Các đường truyền nhiễm HBV *187*
7.2.1. Truyền nhiễm trong bào thai *187*
7.2.2. Truyền nhiễm chu sinh *188*
7.2.3. Truyền nhiễm theo chiều ngang *189*
7.3.Hiệu quả của tiêm phòng HBV *190*
7.3.1. Giảm tỷ lệ nhiễm HBV mạn tính *190*
7.3.2. Giảm tỷ lệ mắc UTTBG *190*
8. MỘT VÀI NÉT VỀ DỊCH TỄ HỌC CỦA VG B TẠI VIỆT NAM *190*
8.1. Tần suất *190*
8.1.1. Tần suất nhiễm HBsAg *190*
8.1.2. Tần suất nhiễm các dấu ấn khác *191*
8.1.3. Tần suất người mang HBsAg mạn *193*
8.1.4. Tần suất nhiễm HBV ở những người có nguy cơ *193*
8.1.5. Tần suất ở những người có bệnh gan *194*
8.2. Kiểu gen *194*
8.3. Truyền nhiễm chu sinh *195*
8.4. Các yếu tố chu sinh *195*
8.5. Nhận xét chung bệnh Vg ở Việt Nam *195*
9. TÓM TẮT *196*
TÀI LIỆU THAM KHẢO *196*

1. CÁC DẤU ẤN HUYẾT THANH CỦA NHIỄM HBV

Virut VG B (HBV) là tác nhân của tình trạng nhiễm và bệnh VG B, đồng thời là tác nhân hay gặp nhất trong VG virut mạn ở người. Virut lưu hành trong máu và truyền nhiễm cho những người phơi nhiễm với máu và các sản phẩm của máu. HBV cũng còn lây truyền qua đường tình dục và truyền từ mẹ sang con trong kỳ chu sinh. VG mạn do HBV có thể tiến triển đến xơ gan và chết vì suy gan. Nhiễm HBV mạn là nguyên nhân chủ yếu của ung thư tế bào gan (UTTBG). HBV đã được Cơ quan quốc tế nghiên cứu ung thư xem như tác nhân sinh ung thư cho người.

Sau đây là một số dấu ấn huyết thanh của nhiễm HBV được dùng để xác định đặc điểm tình trạng nhiễm hoặc mắc bệnh trong các nghiên cứu dịch tễ học (bảng 7-1).

HBsAg: Kháng nguyên bề mặt VG B hiện diện trong huyết thanh cho biết tình trạng hiện đang nhiễm virut. Tình trạng này có thể không có triệu chứng, nhất là ở

trẻ em. Tình trạng người mang HBV mạn được định nghĩa bằng sự tồn tại của HBsAg trong máu trên 6 tháng. Trong những người nhiễm HBV mạn, các mức sao chép virut rất khác biệt nhau.

HBeAg: Những người có virut đang sao chép thường có kháng nguyên e của VG B (HBeAg). HBeAg(+) thường làm cho bệnh gan nặng thêm và có tính gây nhiễm cao.

HBV DNA: Sự hiện diện của HBeAg trong huyết thanh thường đi kèm với HBV DNA, một chỉ thị khác của tình trạng sao chép và tính gây nhiễm của virut.

Anti-HBe: Ở người mang HBV mạn sao chép thấp thường có HBeAg(-) và anti-HBe(+) trong huyết thanh. Những người anti-HBe(+) có thể còn HBsAg(+) cả khi HBV DNA không còn phát hiện trong huyết thanh. Trong các trường hợp này, HBsAg thường là các hạt không gây nhiễm và có lẽ được sản xuất do DNA virut hội nhập trong bộ gen ký chủ.

Anti-HBs: Miễn dịch với HBV biểu thị qua sự hiện diện của kháng thể đối với HBsAg (anti-HBs). Anti-HBs được sản xuất do đáp ứng với tiêm chủng vacxin VG B hoặc do nhiễm HBV tự nhiên.

Anti-HBc: Khi nhiễm virut tự nhiên, kháng thể đối với kháng nguyên lõi của VG B (anti-HBc) được sản xuất. Anti-HBc được phát hiện trong nhiễm virut cấp cùng với HBsAg và tiếp tục tồn tại sau khi bệnh thuyên giảm. Ở những người có miễn dịch tự nhiên, anti-HBc thường hiện diện cùng với anti-HBs. Những người đã tiêm chủng, chưa từng nhiễm HBV, sẽ chỉ có anti-HBs(+). Sự xuất hiện anti-HBc ở một người đã tiêm chủng cho thấy có một nhiễm virut đột phá. Những người có anti-HBc trong khi không có HBsAg hoặc anti-HBs, là những người đã từng bị nhiễm HBV. Những người này có thể đã có miễn dịch hay nhiễm virut mạn mức độ thấp. Con của người mẹ HBV(+) có thể có kháng thể một cách thụ động. Vì thế, các dấu ấn huyết thanh ở trẻ dưới 6 tháng tuổi cần được xem xét thận trọng.

Thời gian từ khi nhiễm đến khi có các đáp ứng huyết thanh đầu tiên đối với HBV trong khoảng từ 2 đến 26 tuần. Cả HBsAg và HBeAg trở nên phát hiện được từ vài ngày đến 2 tuần trước khi ALT bắt đầu tăng và các triệu chứng (như vàng da, buồn nôn, mỏi mệt) xuất hiện. Kháng nguyên lõi VG B (HBcAg) không được phát hiện trong máu, nhưng kháng thể IgM đối với HBcAg (IgM anti-HBc) xuất hiện sớm sau HBsAg và HBeAg. HBV DNA được phát hiện bằng phương pháp PCR trước khi xuất hiện HBsAg và HBeAg và bằng các kỹ thuật lai vào lúc phát hiện các kháng nguyên này. Kháng thể đối với HBsAg (anti-HBs) xuất hiện từ nhiều ngày đến nhiều tháng sau khi HBsAg biến mất khỏi hệ tuần hoàn. Trong nhiễm virut cấp, khoảng thời gian từ khi biến mất HBsAg đến khi xuất hiện anti-HBs được gọi là thời kỳ cửa sổ.

Bảng 7-1. Các kiểu thường gặp của các dấu ấn huyết thanh trong nhiễm HBV

Tình trạng phơi nhiễm	HBs Ag	anti-HBs	anti-HBc	IgM anti-HBc	HBe Ag	anti-HBe
Thời kỳ ủ bệnh	+	-	-	-	+	-
Nhiễm virut cấp	+	-	+	+	+	-
Dưỡng bệnh/hồi phục	-	+	+	±	-	+
có miễn dịch	-	-	+	±	-	-
Thời kỳ cửa sổ	+	-	+	±	-	+
Tình trạng mang mạn	+	-	+	±	+	-
HBcAg(-)	-	+	-	-	-	-
Tình trạng mang mạn HBeAg(+)						
Tiêm chủng vacxin						

2. PHÂN BỐ NHIỄM HBV TRÊN THẾ GIỚI

Virut VG B là một tác nhân rất đa dạng về phương diện dịch tễ, có khả năng gây ra nhiễm virut cấp và mạn tính. Thể mạn tính là một ổ chứa ở người có khả năng lây truyền virut, gây VG mạn và UTTBG nguyên phát. Virut có khả năng truyền theo nhiều đường bao gồm tiếp xúc trực tiếp với máu và các sản phẩm của máu, hoạt động tình dục đồng giới hay khác giới và từ mẹ qua con trước, trong và sau lúc sinh và thời kỳ thơ ấu.

HBV lưu hành trên toàn thế giới. Người ta ước tính trên thế giới có hơn 50 triệu người nhiễm HBV mới xảy ra hàng năm và khoảng 1 triệu người chết hàng năm có thể liên quan đến các tác động của nhiễm virut này. Hơn phân nửa dân cư trên thế giới đã từng nhiễm HBV, dù tần suất chính xác khó dự đoán và rất khác nhau giữa các khu vực. Người ta đã tính có 45% dân sống trong vùng dịch lưu hành cao (≥ 8%), 43% trong vùng dịch trung bình (2-7%) và 12 % trong vùng dịch lưu hành thấp (<2%). Các nghiên cứu về người mang HBV mạn đã ước tính có từ 250 đến 350 triệu người hoặc độ 5% dân số toàn cầu (hình 7-1). Nhưng hiện nay, do vấn đề dân số tăng nhanh, đến cuối năm 2000, con số người mang HBV mạn được biết là 400 triệu người. Tần suất của anti-HBs cao hơn tần suất của người mang mạn (HBsAg(+)) trong tất cả các cộng đồng. Phân bố tần suất nhiễm HBV trên thế giới không đồng đều và được xếp loại từ dịch lưu hành rất cao ở trẻ em trong hầu hết các nước đang phát triển đến dịch lưu hành thấp ở các nước phát triển, chủ yếu ở người lớn với một số yếu tố nguy cơ như cách sống, chăm sóc y tế, hoặc nghề nghiệp.

HBV có 7 kiểu gen được đặt theo mẫu tự la tinh từ A đến G. Ở những người mang mạn, có sự phân bố địa lý không đều các típ phụ HBsAg. Phần lớn kháng

nguyên HBsAg chứa các quyết định *d* hoặc *y* và *w* hoặc *r*. Quyết định *d* thường gặp ở Mỹ, Bắc Âu, châu Á và châu Đại Dương, tuy quyết định *y* cũng có nhưng với tần số thấp hơn tại vùng này. Quyết định *d* đơn thuần không có *y*, được tìm thấy ở Nhật. Quyết định *y* (và hiếm hơn là *d*) được tìm thấy ở châu Phi và thổ dân Australia. Quyết định *y* cũng thường gặp ở Ấn độ và vùng Địa Trung Hải. Quyết định *w* chủ yếu ở châu Âu, Mỹ, châu Phi, Ấn Độ, Australia và châu Đại Dương. Quyết định *r* chủ yếu ở Nhật Bản, Trung Quốc và Đông Nam Á. Các kiểu phụ *adw*, *ady* và *adr* được gặp trong nhiều vùng trên thế giới. Kiểu phụ *ayr* hiếm gặp hơn, thường chỉ thấy ở vài cộng đồng nhỏ thuộc châu Đại Dương. Sự phân bố địa lý của các típ phụ có lẽ chỉ là hậu quả do sự di cư của cộng đồng người nhiễm virut.

3. SỰ PHÂN VÙNG NHIỄM VIRUT VG B

Sự phân bố tình trạng nhiễm virut thường được xác định bằng 3 mức độ dịch lưu hành rõ rệt. Sự khác biệt thể hiện ở tần suất nhiễm HBV, tỷ lệ nhiễm virut toàn bộ, độ tuổi nhiễm virut và cách truyền bệnh chủ yếu (hình 7-1).

3.1. VÙNG DỊCH LƯU HÀNH CAO

Trong vùng dịch lưu hành cao có ≥ 8% người nhiễm HBV mạn và trong huyết thanh của đa số người lớn (>70%) đã chứng tỏ có nhiễm virut trước đó. Những vùng này gồm đa số các nước châu Á, trong đó có Việt Nam (trừ Nhật và Ấn Độ), châu Phi, hầu hết vùng Trung Đông, vùng châu thổ Amazôn Nam Mỹ, hầu hết các nhóm quần đảo Thái Bình Dương và một số dân địa phương khác như người Ết-ki-mô, thổ dân châu Úc và dân Maori.

Trong các vùng dịch lưu hành như Đông Á, vùng Sahara Hạ ở châu Phi và lưu vực sông Amazon, tỷ lệ người mang HBV từ 8% đến 25% và tần suất anti-HBs từ 60% đến 85%. Vì thế, phơi nhiễm đối với HBV trong các vùng dịch lưu hành có thể đạt đến 100%.

Nhiễm HBV rất cao tại các quần đảo Thái Bình Dương. Tại Melanesia và sau đó tại Micronesia, chính Blumberg đã ghi nhận tỷ lệ nhiễm kháng nguyên Australia cao và từ đó có nhiều nghiên cứu về các hình thái khác nhau của VG B trong nhóm dân cư này. Nhìn chung, các nghiên cứu đều cho thấy tần suất HBsAg cao và tỷ lệ nhiễm toàn bộ đối với HBV thường hơn 80%. Biến đổi tần suất biểu hiện rõ ở các vùng dân cư kế cận, nam nhiều hơn nữ. Điều này cho thấy một bộ phận lớn dân cư các đảo Thái Bình Dương đã nhiễm virut theo đường tự nhiên.

Ở vùng dịch lưu hành cao, đa số nhiễm virut xảy ra ở trẻ dưới 1 tuổi và trẻ nhỏ, một tỷ lệ thấp bị nhiễm ở tuổi lớn hơn. Sự truyền nhiễm HBV xảy ra ngay cả trong thời kỳ chu sinh (truyền nhiễm theo chiều dọc) từ người mẹ nhiễm virut mạn đến

con cái, hoặc trong thời kỳ sau sinh (truyền nhiễm theo chiều ngang) từ người mẹ bị nhiễm virut, anh chị em, hoặc những cá nhân nhiễm virut mạn khác trong hoặc ngoài gia đình gây nhiễm cho trẻ dưới 1 tuổi và trẻ nhỏ. Nhiễm virut ở người lớn thường do tiêm chích, truyền máu, can thiệp y tế và hoạt động tình dục.

3.2. VÙNG DỊCH LƯU HÀNH TRUNG BÌNH

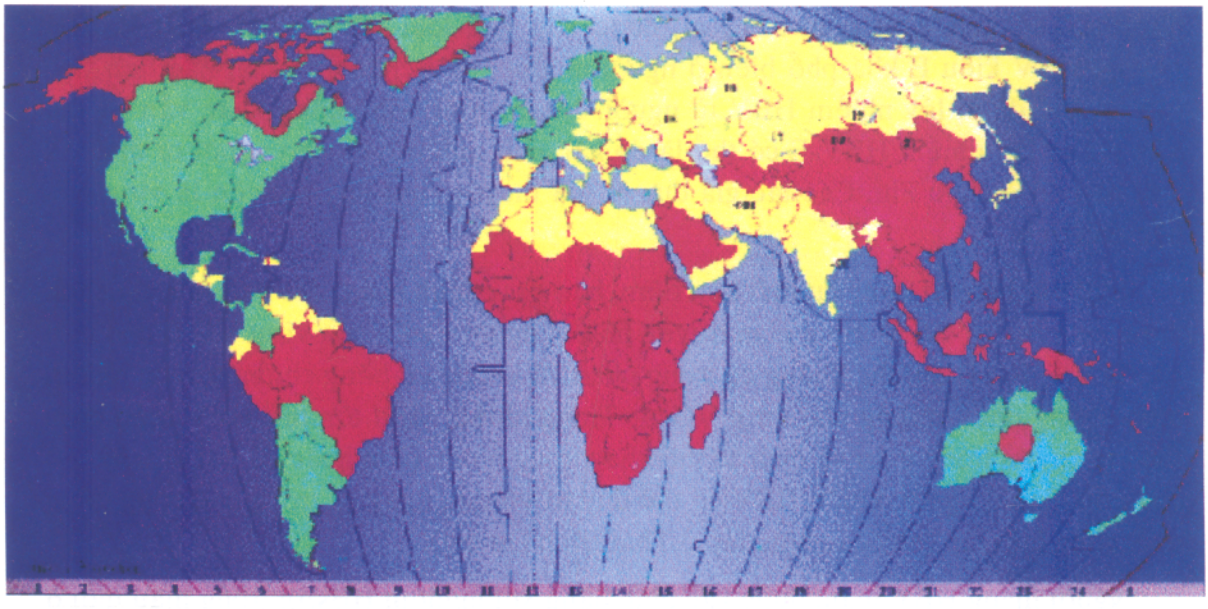
Trong vùng dịch lưu hành trung bình, tần suất của người nhiễm HBV mạn từ 2-7% và 20-50% người lớn đã từng nhiễm HBV. Những vùng này gồm Ấn Độ, một phần Trung Đông, miền Tây Á, Nhật, Đông nam châu Âu, và hầu hết miền Trung và Nam Mỹ. Cách truyền bệnh phức tạp hơn và truyền nhiễm xảy ra ở tất cả các nhóm tuổi (trẻ sơ sinh, trẻ em và người lớn), nhưng thời kỳ nhiễm bệnh chủ yếu có lẽ xảy ra ở trẻ nhỏ, tuổi thiếu niên và thanh niên.

Trong các vùng này, nguy cơ cuộc sống trung bình của những người nhiễm HBV được ước tính từ 20 đến 60%. Tần suất anti-HBs hoặc anti-HBc ở những người HBsAg(-) có nguy cơ trung bình hơi thấp vì hầu hết các phơi nhiễm xảy ra ở trẻ con. Những vùng này bao gồm 43% dân số toàn cầu.

3.3. VÙNG DỊCH LƯU HÀNH THẤP

Tần suất người mang HBV mạn dưới 2% và tần suất người lớn đã từng nhiễm virut dưới 20%. Những vùng này bao gồm Mỹ, Canada, Tây Âu, Úc, New Zealand. Nhiễm bệnh chủ yếu ở người lớn. Tuy nhiên, sự truyền nhiễm xảy ra thời kỳ chu sinh và thời thơ ấu cũng góp phần quan trọng vào tần suất người nhiễm HBV mạn.

Tại Tây Âu, tỷ lệ mới mắc hàng năm của VG B cấp khoảng 5 trong 100.000 người. Tần suất của HBsAg từ dưới 0.1% ở bắc Âu và 1% đến 5% ở nam châu Âu. Trung tâm Kiểm soát Bệnh tật và Dự phòng Mỹ (CDC) ước tính ở Mỹ có 140.000 đến 320.000 người mới nhiễm HBV mỗi năm. Nhiễm HBV mới gây ra 8.400 đến 19.000 trường hợp nhập viện hàng năm và 140 đến 320 chết vì VG kịch phát. Ở Mỹ, có từ 1 đến 1,25 triệu người mang mạn tính, nhiều người trong số họ di cư từ các vùng có tần suất cao và trung bình.



Hình 7-1. *Tần suất HBsAg toàn thế giới.*

Các vùng mầu đỏ là vùng dịch lưu hành cao ≥ 8%, vùng mầu vàng < 2% và vùng màu xanh có tần suất 2-7% dân số là người mang HBsAg.

Tần suất lưu hành HBV tương đối đồng nhất trong một vùng, một địa phương, cũng như một cộng đồng. Trong vùng dịch lưu hành cao, tần suất nhiễm virut khá đồng nhất, ngay cả tại vùng nông thôn. Biến động tần suất nhiễm virut rộng nhất xảy ra ở vùng dịch lưu hành trung bình, nơi mà chủng tộc và những yếu tố kinh tế, xã hội có thể dẫn đến khác biệt lớn trong nguy cơ nhiễm virut và trong những biến đổi về tỷ lệ nhiễm virut. Trong các vùng dịch lưu hành thấp vẫn tồn tại những nhóm người dân tộc hoặc chủng tộc khác có tỷ lệ nhiễm virut cao hơn so với cộng đồng chung. Đây là trường hợp của cư dân Ếs-ki-mô ở Alaska, Canada và Greenland; người Maori ở New Zealand, cũng như dân di cư từ những vùng dịch lưu hành trung bình và cao tới. Ở vùng này, nguy cơ có tính thống nhất chung nên việc tiêm chủng HBV khá đơn giản đã ngăn chặn hậu quả lâu dài như xơ gan và UTTBG.

4. CƠ CHẾ VÀ ĐƯỜNG TRUYỀN NHIỄM

Nguồn hoặc ổ chứa (reservoir) HBV người là chính con người. Không có ổ chứa quan trọng nào khác trên động vật. Tuy một vài loài linh trưởng có thể bị nhiễm tự nhiên, nhưng không có bằng chứng là nguồn truyền nhiễm virut cho người. Nếu một loài linh trưởng nào đó bị nhiễm tự nhiên, thì trên thực tế chúng cũng không có khả năng lây nhiễm người, vì sự truyền nhiễm cần đến sự tiếp xúc chặt chẽ. Tuy nhiên, theo một nghiên cứu gần đây, Takihashi và cs đã tìm thấy một con hắc tinh tinh nhiễm virut VG B trong đời sống hoang dã ở châu Phi. Phân tích chuỗi mã virut này

cho thấy bộ gen virut gồm 3212 nt, được xếp vào loại HBV người kiểu E. Thế nhưng, HBV kiểu E khá phổ biến ở người nhiễm HBV châu Phi, con hắc tinh tinh này có thể đã bị lây nhiễm HBV từ người. Nhưng một tình huống khác vẫn có thể xảy ra: sự lây nhiễm HBV-E có thể là do hắc tinh tinh truyền cho người từ thuở xa xưa nào đó ở châu Phi. Các tác giả đưa ra giả thuyết virut này nguyên là virut của hắc tinh tinh.

Một vài bề mặt dụng cụ như kim tiêm, bàn chải đánh răng, dao cạo râu, đồ chơi, dụng cụ y tế, có thể là trung gian truyền nhiễm người-người của virut VG B cho một số lớn BN. VG B thường không có trong phân và không có bằng chứng truyền nhiễm theo đường phân-miệng như virut VG A. Trong nhiễm virut tồn tại, HBV hiện diện thường xuyên trong máu và dịch cơ thể khác trong nhiều năm hoặc cả đời là những ổ chứa ổn định ở người, khiến HBV có thể duy trì vô tận, ngay cả trong các cộng đồng nhỏ, sống biệt lập (như các hòn đảo ở Thái Bình Dương).

Người mang HBV mạn, được xác định bằng xét nghiệm HBsAg trong máu mỗi 6 tháng, thường mang kéo dài vô định, tuy nhiên các nghiên cứu về sau cho thấy 1-2% trong số đó âm hóa virut hàng năm. Mức độ nhiễm của người mang HBV mạn thay đổi theo thời gian và được xác định bởi nồng độ HBV trong máu. Kháng nguyên e của HBV (HBeAg) đã được xem là một dấu ấn thường dùng để chỉ mức độ gây nhiễm, tuy việc định lượng HBV-DNA sẽ biểu thị tính gây nhiễm chính xác hơn. Trong giai đoạn nhiễm HBV mạn ban đầu đa số người nhiễm đều có HBeAg(+), nhưng sau đó bắt đầu mất HBeAg và giảm tính gây nhiễm khi hệ gen HBV hòa hợp vào DNA ký chủ. Tỷ lệ đặc hiệu theo tuổi của HBeAg(+) thay đổi tùy vùng dịch lưu hành, nhất là những vùng dịch lưu hành cao. Tại Đông Á, người lớn nhiễm HBV mạn có HBeAg(+) từ 30-40% (ở Indonesia, HBeAg(+) chiếm 21%), trong khi ở châu Phi và Trung Đông chỉ 5-20%. Những người nhiễm virut cấp là ổ chứa tạm thời vì có HBV với HBeAg(+)khá cao trong máu. Đây là nguồn truyền nhiễm quan trọng trong vùng dịch trung bình và thấp.

Sự hiện diện với nồng độ hạt Dane hoặc HBeAg cao trong máu liên quan đến sự lây bệnh từ người mẹ mang HBsAg mạn đến trẻ sơ sinh, từ NB mang virut đến nhân viên y tế do gặp tai nạn kim tiêm nhiễm virut, từ nhân viên y tế là người mang đến BN và giữa những bạn tình. Sự xuất hiện hạt Dane và HBeAg với nồng độ cao trong huyết thanh của BN trong thời kỳ ủ bệnh muộn của VG B cấp cho thấy đây là thời điểm BN gây lây nhiễm nhất. Sự truyền nhiễm thường gặp nhất từ người mẹ VG B cấp trong 3 tháng cuối của thai kỳ hoặc hai tháng đầu sau sinh phù hợp với phát hiện này.

Phơi nhiễm xuyên da niêm mạc với máu, truyền nhiễm qua đường tình dục và truyền nhiễm chu sinh có thể do màng niêm phơi nhiễm với máu người mẹ hoặc nước ối giải thích cho gần như tất cả những trường hợp nhiễm HBV ở người. Virut VG B được ước tính lây nhiễm hơn HIV khoảng 100 lần.

4.1. TRUYỀN QUA MÁU HOẶC DỊCH CƠ THỂ NHIỄM VIRUT

Truyền nhiễm HBV chủ yếu là từ máu hoặc từ huyết thanh của những người nhiễm virut. Những khảo sát về gây nhiễm virut ở hắc tinh tinh, HBV thường lưu hành ở mức độ 10^8 virion/ml ở con vật có HBeAg(+). Đánh giá trực tiếp mức độ HBV-DNA cho thấy độ 10^{10}/ml ở người HBeAg(+) và 10^1-10^7 ở người anti-HBe(+). Dịch cơ thể trực tiếp có nguồn gốc từ máu, như dịch tiết, dịch màng phổi, màng bụng và những dịch khác ở những khoang trong cơ thể, chứa nồng độ virut cao xấp xỉ nồng độ trong máu. Tinh dịch và nước bọt cũng được chứng minh có chứa HBV, nhưng nồng độ 10^3 lần thấp hơn trong huyết thanh của cùng BN. HBsAg và HBV-DNA cũng được phát hiện nhưng nồng độ thấp hơn những ở dịch khác của cơ thể như nước tiểu, phân và sữa, trừ khi các dịch này bị ô nhiễm với máu. Nồng độ virut thấp trong các dịch cơ thể cho thấy khả năng nhiễm bệnh theo con đường phơi nhiễm này thấp hơn, trừ khi tiếp xúc nhiều lần.

4.1.1. Nhiễm virut do tiếp xúc với máu hoặc dịch nhiễm virut

Đây là đường lây thường gặp nhất, cả ở vùng dịch lưu hành cao và thấp. Tiếp xúc trực tiếp với máu nhiễm virut do truyền máu hoặc từ huyết thanh được dùng như dung môi trong vacxin hay thuốc đã giúp nhận biết virut này như là một thể khác biệt với VG nhiễm khuẩn (VG A). Việc sàng lọc máu hoặc các chế phẩm máu để loại HBsAg và không dùng dung môi là huyết thanh cho vacxin hầu như đã loại bỏ nguyên nhân này ở các nước phát triển. Tuy nhiên, các BN nhận các yếu tố đông máu đậm đặc vẫn còn nguy cơ nhiễm virut do HBsAg ở mức độ thấp, không phát hiện được. Trong những quốc gia mà máu chưa được sàng lọc HBsAg hoặc sàng lọc không đúng mức, nguy cơ nhiễm HBV còn cao.

4.1.2. Tiếp xúc trực tiếp với máu qua kim tiêm nhiễm virut

Là con đường thường gặp nhất trong truyền nhiễm giữa những người nghiện ma túy dùng chung ống và kim tiêm, tỷ lệ nhiễm liên quan trực tiếp với thời gian nghiện thuốc. Kim nhiễm virut cũng gây nhiễm HBV trong nhiều hình thái khác như xâm mình, châm cứu, giữa những nhân viên y tế, nhân viên an ninh công cộng bị tai nạn kim tiêm và khi chữa bệnh trong những nước đang phát triển, nơi mà kim và ống tiêm được dùng lại chưa được sát trùng chu đáo. Lượng máu trung bình do kim tiêm đâm phải trong nghề nghiệp (độ 1 µl) với nồng độ HBV cao trong máu người cho có nguy cơ lây nhiễm virut khoảng 12-30%.

4.2. TRUYỀN DO TIẾP XÚC TÌNH DỤC

Đây là đường truyền nhiễm HBV đã được chứng minh và thường gặp ở các nước phát triển nhất là trong nhóm đồng tính luyến ái. Tuy nhiên, đường lây này không quan trọng bằng đường lây do phơi nhiễm với máu và dịch cơ thể ở các nước dịch lưu hành cao và trung bình.

4.2.1. Sự truyền nhiễm HBV do tiếp xúc đồng tính

Được biết từ năm 1970, khi các nghiên cứu trong nhiều thành phố châu Âu và Mỹ cho thấy tần suất nhiễm HBV ở người đồng tính cao hơn 80%, 10 đến 20 lần cao hơn so với cộng đồng chung người lớn. Các nghiên cứu chi tiết cho thấy yếu tố nguy cơ lớn nhất gồm có giao hợp qua đường hậu môn và số lượng nhiều bạn tình, cũng như các hoạt động hoặc các bệnh kèm theo gây tổn thương hậu môn hoặc tổn thương niêm mạc đường sinh dục.

4.2.2. Sự truyền nhiễm HBV do sự tiếp xúc dị tính luyến ái

Trong các nghiên cứu về mãi dâm, những người tiếp xúc sinh lý với người mang HBV mạn và những người chăm sóc ở các cơ sở điều trị bệnh truyền theo đường sinh dục có tần suất của các dấu ấn nhiễm HBV cao hơn 3 đến 5 lần trong cộng đồng. Trong nhóm này cũng như trong cộng đồng dân cư Mỹ, nguy cơ nhiễm HBV thường tỷ lệ thuận với số lượng bạn tình và với tình trạng nhiễm giang mai trước đó. Sự kết hợp chặt chẽ với giang mai có thể do tính chất gây loét của giang mai, giúp nhiễm HBV hiệu quả hơn. HBV cũng có thể là dấu ấn chỉ điểm cho những bệnh loét đường sinh dục mạn tính khác, hoặc cho việc tiếp xúc tình dục với người có nguy cơ cao. Các nghiên cứu gần đây ở Mỹ đã ghi nhận nhiễm HBV do tiếp xúc dị tính chiếm ít nhất 25% so với lây nhiễm do chích ma túy qua đường tĩnh mạch được ghi nhận ở người lớn.

Các nghiên cứu dự phòng sau tiếp xúc đối với những cặp vợ chồng nhiễm HBV cấp cho thấy độ 15-30% nhiễm HBV khi không có điều trị thích hợp và sự truyền nhiễm từ nam cho nữ cao gấp ba lần từ người nữ cho người nam. Từ những khảo sát này và từ những khảo sát ở những người đàn ông đồng tính, người ta ước tính nguy cơ truyền nhiễm HBV qua một lần tiếp xúc tình dục duy nhất không bảo vệ giữa người nhiễm virut và bạn tình độ 1-3%. Có nhiều bằng chứng cho thấy nhiễm HBV qua đường tình dục trong các nước phát triển quan trọng hơn những nước đang phát triển.

4.3. TRUYỀN NHIỄM CHU SINH

Truyền nhiễm từ mẹ nhiễm HBV cho đứa con trong thời kỳ chu sinh hoặc sau thời kỳ sơ sinh có lẽ chiếm một tỷ lệ lớn. Truyền nhiễm sơ sinh từ người mẹ mang HBsAg mạn và người mẹ VG B cấp trong 3 tháng cuối của thai kỳ, hoặc 2 tháng đầu sau sinh đã được ghi nhận ở Mỹ, cũng như ở các vùng dịch lưu hành cao và những em bé như thế dễ phát triển thành nhiễm HBV tồn tại. Ở Đài Loan, người ta đã ước tính 40-50% người mang HBsAg mạn nhiễm tiên phát trong thời kỳ chu sinh, chỉ có 5-10% có thể nhiễm trong bào thai, những trẻ khác có thể nhiễm vào lúc sổ nhau do phơi nhiễm với máu người mẹ nhiễm virut.

Một nhận xét khác lạ nhưng chưa được giải thích đầy đủ là truyền nhiễm chu sinh xảy ra thường ở châu Á hơn châu Phi. Steven và cs, trong một nghiên cứu theo dõi 158 trẻ sinh ra từ người mẹ HBsAg(+) ở Đài Loan, thấy rằng 32,3% nhiễm kháng nguyên máu lúc 6 tháng tuổi. Trong 47 trẻ mà mẹ có HBsAg và HBeAg(+), có 95,7% trẻ trở nên có kháng nguyên trong máu và 85,1% trở thành người mang HBV mạn. Trẻ mà mẹ HBeAg(-) cũng có thể nhiễm virut, nhưng đa số chỉ nhiễm virut thoáng qua. Phát hiện này có thể giúp giải thích sự khác nhau trong tỷ lệ truyền nhiễm chu sinh giữa châu Á và châu Phi vì người mẹ HBsAg(+) ở châu Á có khả năng HBeAg(+) nhiều hơn và có nồng độ HBV DNA cao hơn ở châu Phi. Tuy nhiên, ngay cả khi người mẹ ở châu Phi có HBeAg(+), các con của họ thường có HBsAg(+) khi được 6 tháng đến 1 tuổi; trong khi ở châu Á, các đứa con của bà mẹ HBeAg(+) có thể có HBsAg(+) khoảng 3 tháng sau sinh.

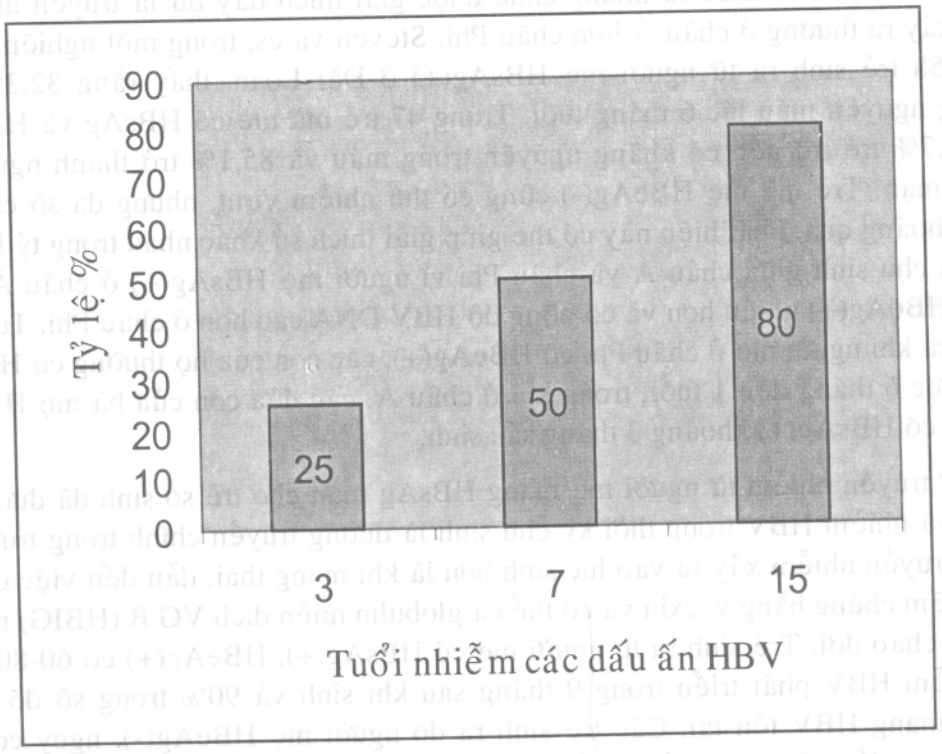
Sự truyền nhiễm từ người mẹ mang HBsAg mạn cho trẻ sơ sinh đã được chứng minh và nhiễm HBV trong thời kỳ chu sinh là đường truyền chính trong trường hợp này. Truyền nhiễm xảy ra vào lúc sinh hơn là khi mang thai, dẫn đến việc cần thiết phải tiêm chủng bằng vacxin và có thể cả globulin miễn dịch VG B (HBIG) ngay sau khi bé chào đời. Trẻ sinh ra từ người mẹ có HBsAg(+), HBeAg(+) có 60-80% nguy cơ nhiễm HBV phát triển trong 9 tháng sau khi sinh và 90% trong số đó trở nên người mang HBV tồn tại. Các trẻ sinh ra do người mẹ HBeAg(-), nguy cơ nhiễm trong năm đầu của cuộc sống thấp hơn (2-15. Truyền nhiễm HBV chu sinh thay đổi theo đặc tính dịch lưu hành và tần số HBeAg(+) ở những người mẹ mang HBV. Trên thế giới, truyền nhiễm chu sinh góp phần quan trọng (15-40%) vào số lượng người mang HBV trong cộng đồng.

4.4. CÁC ĐƯỜNG TRUYỀN KHÁC

4.4.1. Nhiễm HBV ở trẻ em

Nhiều trẻ không nhiễm HBV vào thời kỳ chu sinh, sẽ bị nhiễm vào vài tháng đầu tiên của đời sống, có lẽ do tiếp xúc chặt chẽ với người mẹ hoặc anh em bị nhiễm virut, tuy các con đường chính xác của sự truyền nhiễm này chưa được rõ. Sự tập trung những người mang trong gia đình cùng với người mẹ nhiễm virut, thích hợp với kiểu truyền nhiễm này. Sự hiện diện của HBsAg trong sữa mẹ cho thấy việc bú sữa mẹ có thể là con đường không thể loại trừ. Mẹ nhai thức ăn rồi mớm cho con cũng có thể gây nhiễm virut ở trẻ trong các cộng đồng này.

Trong khi nghiên cứu tại một xã nông thôn Senegal (hình 7-2), Feret và cs chứng minh tần suất nhiễm các dấu ấn HBV (anti-HBs, anti-HBc và/hoặc HBsAg) độ 25% lúc 3 tuổi và tăng nhanh sau 4 tuổi. Lúc 7 tuổi, tỷ lệ đã hoặc đang nhiễm HBV tăng lên khoảng 50%. Vào tuổi 15, khoảng 80% cộng đồng dương tính ít nhất với một dấu ấn của HBV. Từ đó các tác giả đề ra một chiến lược dự phòng khá hiệu quả là tiêm chủng vacxin HBV sớm cho trẻ.



***Hình 7-2**. Tình trạng nhiễm các dấu ấn HBV (anti-HBs, anti-HBc và/hoặc HBsAg) tại một làng ở Senégal theo Feret và cs.*

Các cơ chế cụ thể của tình trạng nhiễm virut sớm ở trẻ em châu Phi chưa được hiểu rõ và được cho là do biến dị địa phương. Whittle và cs nghiên cứu các kiểu nhiễm HBV ở trẻ em của 2 làng gần nhau ở Gambia và thấy các khác biệt quan trọng trong các tần suất đặc hiệu theo tuổi của các dấu ấn HBV giữa 2 làng. Tần suất nhiễm (xác định bằng anti-HBc và/hoặc HBsAg(+)) trong nhóm từ 2 đến 4 tuổi là 29% trong một làng và 68% trong làng kia ($p < 0,001$), khác biệt này tương tự với khác biệt thấy trong một khảo sát tần suất huyết thanh của chính các làng đó 5 năm trước, cho thấy đặc trưng ổn định của nhiễm HBV trong môi trường này. Làng có tần suất nhiễm virut cao hơn cũng có một tần suất người mang HBV mạn cao hơn, 38,2% so với 10,3% trong nhóm tuổi từ 6 tháng đến 4 tuổi. Nhưng tần suất của HBeAg ở người mang HBsAg(+) trong 2 làng, 81% so với 86%, tương tự trong nhóm cùng tuổi. Tuy nhiên, trong nhóm từ 15 đến 19 tuổi, 50% người mang HBV trong làng tần suất cao có HBeAg(+) so với 12,5% trong làng có tần suất thấp.

Mayans và cs. nghiên cứu yếu tố nguy cơ truyền nhiễm HBV ở một nhóm 973 trẻ em Gambia thấy trong nhóm từ 6 đến 11 tháng tuổi, tần suất dưới 10%. Tần suất nhiễm virut tăng dần theo tuổi và đạt tỷ lệ 32%. Trong đó: 10% là người mang HBV, 18% có bằng chứng nhiễm virut trước đó và 4% nhiễm virut cấp.

4.4.2. Vai trò của nước bọt

Nước bọt là một đường truyền nhiễm HBV cần được nghiên cứu, có thể gây nhiễm do những tiếp xúc thân mật không phải tình dục. Khảo sát trên hắc tinh tinh đã cho thấy nước bọt có thể gây nhiễm nếu có dây máu nhiễm HBV. Nhưng không truyền nhiễm khi niêm mạc đường tiêu hóa không bị tổn thương và nước bọt nhiễm HBV được phun khí dung vào mũi, khi uống nước có nhiễm HBV, hay khi chải răng. Tuy nhiên, truyền nhiễm có thể xảy ra qua vết cắn hoặc qua cơn được mớm từ người mẹ nhiễm virut. Trong một nghiên cứu quan sát ở Okinawa (Nhật), đường lây nhiễm HBV có khả năng nhất ở các nhà trẻ đã được nghĩ tới là do nước bọt.

Trong thực nghiệm, phun nước bọt nhiễm HBV vào mũi hoặc quệt quanh miệng không gây nhiễm cho hắc tinh tinh hoặc vượn. Vì thế, hôn hít không xem là phương tiện truyền nhiễm có ý nghĩa, nhưng vẫn có thể truyền nhiễm khi bị cắn.

4.4.3. Nhiễm virut qua đường miệng

Trong suốt những năm 1940, hơn 50 thử nghiệm truyền nhiễm VG huyết thanh vào người tình nguyện bằng phân người sau khi gây nhiễm thực nghiệm đã không thành công, cho thấy HBV không lây nhiễm theo phân trừ khi có xuất huyết đường tiêu hóa và vì thế phân người không thể là nguồn lây nhiễm HBV trong cộng đồng.

Gây nhiễm sau khi uống một lượng HBV đã được chứng minh tuy liều lượng virut cần cho việc gây nhiễm thành công qua đường uống cao hơn đường máu. Thực ra, sự gây nhiễm qua đường uống không xảy ra qua đường tiêu hóa, nhưng qua những tổn thương nhỏ thường có trong niêm mạc miệng, được chứng minh bằng thực nghiệm với hai con hắc tinh tinh (thất bại khi gây nhiễm bằng chất liệu đặt trực tiếp vào trong dạ dầy nhưng lại thành công khi phun khí dung vật liệu gây nhiễm vào miệng sau khi lợi của chúng được chà nhẹ bằng bàn chải đánh răng). Bằng chứng cho thấy có nhiễm HBV đường ruột là sự sinh anti-HBs. Kháng nguyên bề mặt và HBcAg không được phát hiện bằng miễn dịch huỳnh quang trong các tế bào của các mô, ngoại trừ gan, tuy nhiên cần có thêm những nghiên cứu để xác định bề mặt ruột hay là bề mặt niêm mạc khác chứa tế bào dễ nhiễm HBV. Tuy thức ăn và nước uống rõ ràng không phải là nguồn lây nhiễm HBV, HBsAg đã được phát hiện trong các con sò không được xử lý tốt thu hoạch từ nước ven biển có lẫn nước cống rãnh. Dù thế, các đợt dịch được công bố về VG liên quan đến sò lại không phải là VG B.

4.4.4. Vai trò của tinh dịch và dịch tiết âm đạo

Tinh dịch và dịch tiết âm đạo, chứa nồng độ virut bằng hoặc có phần cao hơn với nồng độ trong nước bọt, giữ một vai trò quan trọng trong truyền nhiễm HBV.

4.4.5. Đường lây nhiễm qua da

Trong nghiên cứu của Mayans và cs, các yếu tố nguy cơ nhiễm virut được khảo sát là sự hiện diện của rệp hoặc ve bét (tick) trên giường của trẻ, muỗi truyền sốt rét, các thương tổn da (molluscum contagiosum, vết loét nhiệt đới, vết thương, ghẻ ngứa, tinea corporis, và tinea capitis), xỏ lỗ tai, cắt bao qui đầu và nhà đông người (số người trên một giường). Không có yếu tố nguy cơ nào có ý nghĩa sau khi số liệu thống kê được chuẩn hóa theo tuổi, giới tính và địa phương. Sự biến đổi đáng kể trong tần suất người mang HBV theo địa lý được thấy từ nhà này sang nhà khác, giữa các khu vực trong cùng một làng và giữa các làng.

Tai nạn kim tiêm truyền HBV qua da trực tiếp có thể xảy ra với kim nhiễm máu và các sản phẩm máu hoặc xảy ra khi thẩm tách máu, xâm mình, xâu tai, châm cứu... Những vật liệu gây nhiễm tiếp xúc với da hở, hoặc niêm mạc như mắt cũng có thể được xem gây nhiễm virut. Vì sức đề kháng của HBV khá cao và ổn định, sự truyền nhiễm qua các bề mặt môi trường có thể tiếp xúc với niêm mạc hoặc da bị thương tổn, như bàn chải đánh răng, chai sữa, đồ chơi, các dụng cụ ăn, dao cạo râu, hoặc các bộ dụng cụ trong bệnh viện như máy hô hấp nhân tạo, nội soi, đồ thủy tinh trong phòng thí nghiệm và các dụng cụ khác có thể xảy ra.

4.4.6. Các kiểu lây nhiễm khác

Virut gây nhiễm qua niêm mạc do tai nạn bắn tóe máu và dịch ối đã được chứng minh, trong khi da còn nguyên vẹn được biết không gây nhiễm virut. Nhiều mẫu xét nghiệm cho thấy HBV có trên bề mặt các vật dụng trong phòng xét nghiệm, các đơn vị thẩm phân phúc mạc và vật dụng chữa răng sau khi điều trị cho người mang HBV. HBV đã được chứng minh có thể sống trên các bề mặt với nhiệt độ trong phòng trong trạng thái khô ít nhất một tuần.

Trong môi trường bệnh viện, một đợt truyền nhiễm HBV liên quan đến phiếu vi tính nhiễm máu là một thí dụ cá biệt cho vai trò của nhiễm virut không do can thiệp y tế. Một đợt dịch HBV lớn hơn ở những người tham dự môn chạy định hướng ở Thụy Điển, qua vết trầy của vận động viên tiếp xúc với những bụi cây thấp nhiễm máu, cho thấy khả năng lây lan ngoài môi trường bệnh viện. HBV cũng được tìm thấy ở những vết thương da và dịch xuất tiết từ vết thương ở những người mang mạn tính và những mẫu lấy trong nhà với người mang HBV cho thấy HBsAg trên một số bề mặt và vật dụng.

4.4.7. Vai trò của côn trùng

Nhiều tác giả đã đề cập đến vai trò của côn trùng trong truyền nhiễm HBV do dịch tễ học của VG B thường phân bố ở những nước nhiệt đới nghèo trùng hợp với sự phát triển của côn trùng. Các nghiên cứu cho thấy VG B không phải là bệnh do côn trùng truyền như theo cách hiểu cũ. Truyền nhiễm HBV do côn trùng, nếu xảy ra, do hai cách như sau:

- *Truyền nhiễm chủ động:* là khi virut nhân lên trong côn trùng và khả năng truyền nhiễm do cắn. Tuy nhiên, sao chép HBV chỉ có ở người và loài linh trưởng lớn, không sao chép trong các loài vật khác cũng như ở các loại côn trùng.

- *Truyền nhiễm thụ động:* Truyền nhiễm cơ học do HBV chuyển từ ruột lên miệng của côn trùng. Cách truyền nhiễm này hiện chưa có bằng chứng. Nếu có, cũng không hiệu quả.

Một số báo cáo đã đưa giả thuyết về loại muỗi có thể là véctơ sinh học cho nhiễm virut VG B. Khảo sát trong phòng thí nghiệm, HBsAg được tìm thấy lòng ruột của muỗi Culex ngay sau khi hút máu người HBsAg(+) và tồn tại ở đấy độ 10 ngày. Kháng nguyên biến mất rồi tái xuất hiện trong 3 tuần tại tuyến nước bọt. Kháng nguyên cũng được phát hiện ở khoang ruột và tuyến nước bọt của muỗi Culex đã chết sau 8 tuần. Tại New Guinea, tần suất HBsAg không liên quan với hoạt động của muỗi và độ cao, trong khi tần số kháng thể của arbovirut có tương quan mạnh mẽ với hai yếu tố này. Tuy nhiên, trong một nghiên cứu khác cho muỗi ăn thực nghiệm bằng máu nhiễm HBV, phát hiện thấy virut bị tiêu diệt trong 48 giờ. Chu kỳ hút máu của muỗi là 72 giờ, nên truyền nhiễm khó xảy ra. Các số liệu dịch tễ trong một số vùng nhiệt đới không tương quan giữa cường độ phơi nhiễm với muỗi và tần suất của nhiễm virut.

Ở loài tiết túc khác, như rệp giường (bedbug, Cimicidae) chứa virut tới 30 ngày sau một lần hút máu duy nhất và phân của rệp sau đó có HBV. Người ta đưa giả thuyết rằng các đứa trẻ sinh ra từ người mẹ mang HBV bị phơi nhiễm với virut qua các vết cắn của rệp hoặc dính phân rệp vào các vết thương mở. Giả thuyết rệp truyền nhiễm HBV đã được thử nghiệm ở Gambia. Tuy nhiên, một nghiên cứu có đối chứng với phương pháp loại trừ rệp trong nhiều làng đã thất bại trong việc làm giảm nguy cơ nhiễm HBV.

4.4.8. Truyền nhiễm người-sang-người từ tổn thương da nhiễm virut

Một con đường có khả năng truyền HBV giữa những đứa trẻ trong những nước đang phát triển là truyền nhiễm người-sang-người qua tổn thương da nhiễm virut. HBsAg đã được phát hiện trong các tổn thương tiết dịch của người mang HBV và những tổn thương chốc lở thường gặp ở những đứa trẻ nhỏ trong vùng này. Cắt bao qui đầu theo nghi lễ ở các nước Hồi giáo, xâm mình, rạch da để tiêm chủng cũng có khả năng nhiễm HBV. Ngủ chung giường và điều kiện sống đông đúc có thể làm tăng truyền nhiễm HBV.

4.4.9. Nhiễm virut trong bệnh viện

Nhân viên chăm sóc sức khỏe (NVCSSK) có nguy cơ nhiễm HBV hơn cộng đồng chung: Do NVCSSK phơi nhiễm thường xuyên với BN nhiễm virut. Các con đường

đặc hiệu của sự truyền nhiễm từ BN đến thầy thuốc và nha sĩ chưa được rõ, tuy nhiên có thể do phơi nhiễm trực tiếp đối với máu và huyết thanh (như phẫu thuật viên và nhân viên làm trong các đơn vị chạy thận nhân tạo) càng lớn, tần số nhiễm HBV càng cao. Hadler đã chứng minh ở các nước phát triển trên cơ sở tỷ lệ nhiễm nền thấp, nhân viên y tế có nguy cơ nhiễm HBV từ 2 đến 10 lần lớn hơn so với cộng đồng chung.

NVCSSK có thể truyền HBV cho BN: các thầy thuốc, phẫu thuật viện hoặc nha sĩ nhiễm virut mạn hoặc nhiễm virut cấp có thể truyền nhiễm HBV cho BN, tuy sự lây truyền này không thường xuyên xảy ra. Ở nước ta, nhiều tác giả cũng đã phát hiện con đường lây truyền thầy thuốc-NB. Tuy nhiên, theo chúng tôi, hiện vẫn cần nhiều công trình nghiên cứu sâu hơn để chứng minh vấn đề này.

4.4.10. Các yếu tố di truyền

Để giải thích sự biến đổi tần suất theo địa dư của người mang HBsAg mạn, người ta giả định sự hiện diện HBsAg không chỉ tùy thuộc cơ chế nhiễm HBV mà còn có một thiên hướng di truyền đối với nhiễm virut tồn tại qua nghiên cứu các gia đình trong đó tình trạng mang mạn tính có vẻ tập trung, với sự phân bố như một tính trạng của nhiễm sắc thể. Sự kết hợp giữa nhiễm virut tồn tại và một vài kiểu HLA đã được báo cáo. Bằng chứng cho thấy sau nhiễm HBV, các cư dân ở Thành phố New York gốc Trung quốc có nhiều khả năng trở thành người mang mạn hơn người da trắng. Có thể có một gen tăng độ nhiễm HBV được cho là hiếm ở dân cư vùng ôn đới hơn là ở vùng nhiệt đới. Hơn nữa, người ta còn cho là những người dễ cảm thụ di truyền thường không biểu lộ bệnh VG có triệu chứng mà chỉ là người mang HBV. Nhưng khảo sát cụm gia đình cho thấy trong một số trường hợp không có yếu tố di truyền do truyền nhiễm theo chiều dọc và truyền nhiễm chu sinh từ mẹ qua con. Tuy nhiên, người ta chấp nhận thành phần di truyền của ký chủ có thể ảnh hưởng đến đáp ứng của ký chủ đối với nhiều tác nhân virut khác nhau.

4.4.11. Một số trường hợp khác

Ức chế miễn dịch có thể liên quan đến tình trạng bệnh ban đầu nhẹ và nhiễm virut mạn dễ xảy ra ở người có miễn dịch yếu hoặc dễ dung nạp. Thí dụ, nhiễm HBV ở các BN thẩm tách máu thường trở nên mạn tính. Cuối cùng, tình trạng người mang HBsAg mạn thường xảy ra ở các BN mắc một số bệnh như hội chứng Down, phong thể loét, ung thư tế bào lympho... Tuy cơ chế dẫn đến nhiễm HBV tồn tại ở các bệnh nêu trên chưa rõ, nhưng có thể do đáp ứng miễn dịch bị biến đổi hoặc do không đủ khả năng thải loại virut.

5. CÁC KIỂU TRUYỀN NHIỄM VG B THEO VÙNG

Nhiễm HBV chủ yếu được thực hiện qua 3 con đường chính: đường máu, đường tình dục và truyền nhiễm chu sinh. Ngoài các con đường chính, nhiều tác giả đã xác

định được một số con đường khác, ít quan trọng hơn. Thế nhưng, nhiễm HBV rất khác biệt theo vùng địa lý, dân cư, chủng tộc...Chính vì thế, VG B được chia ra thành 3 vùng dịch lưu hành với 5 kiểu truyền nhiễm khác nhau.

Trong các vùng dịch lưu hành cao, có hai kiểu truyền nhiễm: kiểu đầu chủ yếu ở châu Á mà đa số nhiễm virut xảy ra trong thời gian chu sinh (trong đó có truyền nhiễm theo chiều dọc), trong khi kiểu thứ nhì chủ yếu ở châu Phi với nhiễm virut xảy ra ở trẻ nhỏ (truyền nhiễm theo chiều ngang). Hai kiểu truyền nhiễm khác ở trong các vùng dịch lưu hành trung bình và thấp.

5.1. VÙNG DỊCH LƯU HÀNH CAO

Bao gồm các vùng Đông Á, miền nam Sahara châu Phi, lưu vực sông Amazon và một số khu vực khác, tỷ lệ mang HBsAg từ 8-25% và tần suất anti-HBs từ 60-85%. Bởi thế, phơi nhiễm với HBV trong những vùng dịch lưu hành cao được đo bằng các chỉ số huyết thanh có thể lên đến 100%. HBV là dịch lưu hành trong những vùng này chiếm tới 45% dân số thế giới.

Ở vùng dịch lưu hành cao, lại có thể phân chia hai khu vực: Khu vực gồm các nước Đông và Đông Á, nơi mà truyền nhiễm chu sinh đóng góp đến hơn 40% tần suất người mang HBV mạn trong cộng đồng. Khu vực còn lại bao gồm các nước thuộc châu Phi, Nam Mỹ, Trung Đông và các quần đảo Thái Bình Dương nơi mà truyền nhiễm chủ yếu bắt đầu vào thời thơ ấu và tăng dần theo lứa tuổi.

5.1.1. Ở các nước Đông và Đông Nam Á

Truyền nhiễm HBV từ mẹ sang con trong thời gian chu sinh là yếu tố quan trọng của dịch tễ học của nhiễm HBV. Trong các nước này, 8-15% phụ nữ mang thai là người mang HBV và 35-50% trong số họ có HBeAg(+). Tỷ lệ HBeAg(+) cao làm tăng hiệu quả và tỷ lệ truyền nhiễm HBV từ người mẹ mang virut đến đứa con sơ sinh. Khoảng 3-5% trẻ em trở thành người mang HBV và khoảng 30-50% những trường hợp nhiễm virut mạn trong các nước này gây ra từ truyền nhiễm chu sinh.

5.1.2. Ở Châu Phi, Nam Mỹ, Trung Đông và các quần đảo Thái Bình Dương

Trong các vùng này, truyền nhiễm HBV chu sinh ít góp phần vào tần suất người mang HBV mà chủ yếu là truyền nhiễm sau sinh (truyền nhiễm theo chiều ngang) ở những đứa trẻ nhỏ. Phụ nữ có tỷ lệ mang HBV khoảng 10%, nhưng mang HBeAg(+) ít hơn, chỉ có 20%.

Ở trẻ em, chỉ có 1,5-2% trẻ nhiễm HBV mạn từ người mẹ trong thời gian chu sinh và chỉ 10-20% trường hợp nhiễm HBV mạn do truyền nhiễm chu sinh. Trong nhiều vùng, nhất là châu Phi, nhiễm HBV xảy ra với tốc độ cao ở trẻ nhỏ và 80-90% trở nên nhiễm virut vào tuổi thứ 10. Các nghiên cứu trong gia đình cho thấy nguy cơ

cao do truyền nhiễm sau sinh từ người mẹ và từ anh chị em nhiễm virut, nguy cơ ít hơn từ người cha hoặc những người khác. Nghiên cứu ở Jordan cho thấy kích cỡ gia đình liên quan trực tiếp với nguy cơ nhiễm virut và tình trạng kinh tế xã hội tỷ lệ nghịch với nhiễm virut.

Nhìn chung, tần suất nhiễm HBV ở vùng này được Chen và cs tổng kết như sau: khác biệt theo từng quốc gia, từng vùng trong một quốc gia, theo chủng tộc, tình trạng di dân, việc tiêm phòng, theo tuổi lúc nhiễm virut, giới tính và tình trạng nghề nghiệp và kinh tế xã hội.

5.2. VÙNG DỊCH LƯU HÀNH TRUNG BÌNH

Trong vùng này, thường song song tồn tại nhiều kiểu truyền nhiễm: chu sinh, tuổi nhỏ và người lớn, có nghĩa là cả lây truyền dọc và lây truyền ngang. Ở đây, phụ nữ chỉ có 2-7% mang HBV và thường có HBeAg(+) ít hơn 20%. Tuy nhiên chỉ có khoảng 10-20% người mang HBV có thể được xem nhiễm từ thời kỳ chu sinh. Truyền nhiễm giữa các trẻ liên quan đến tần suất nhiễm HBV đặc hiệu theo tuổi, trong khi truyền nhiễm ở người lớn thường xảy ra trong cùng một nhóm nguy cơ giống như các nước phát triển có dịch lưu hành thấp. Vài vùng dịch lưu hành trung bình, nhất là Brazil và các vùng Nam Mỹ nhiệt đới khác, có biến động lớn về tần suất HBV. Ở Brazil, Surinam và Trinidad, tần suất nhiễm virut có thể thay đổi theo giống nòi, cao nhất ở người gốc châu Á, trung bình ở người da đen hoặc người mestizo (người lai da trắng với người bản xứ) và thấp ở những người gốc châu Âu. Các nhóm thổ dân ở các địa phương này thường có tần suất HBV cao hơn, so với tần suất ở châu Á và châu Phi. Sự thay đổi tần suất theo địa phương có thể khá rộng (như Colombia và Brazil) và tình trạng kinh tế xã hội thường liên quan đến tần suất. Bởi thế, các nghiên cứu xác định kiểu truyền nhiễm và định ra chiến lược kiểm soát VG B trong các vùng này thường phức tạp hơn các vùng dịch lưu hành cao.

5.3. VÙNG DỊCH LƯU HÀNH THẤP

Ở những nước có tần suất lưu hành thấp (như Mỹ), đa số nhiễm virut (80–85%) xảy ra ở người lớn là những người phơi nhiễm với máu của người mang HBV mạn hoặc qua tiếp xúc tình dục. Một tỷ lệ thấp hơn (độ 60%) nhiễm virut mạn mắc phải ở người lớn. Theo CDC, 24% nhiễm virut mạn bị mắc phải ở thời kỳ chu sinh, 12% ở trẻ lớn và 8% tuổi vị thành niên.

Truyền nhiễm HBV trong vùng này đã được khảo sát rất nhiều, nhất là ở Mỹ. Tại Mỹ, dữ liệu từ các nghiên cứu tần suất huyết thanh và qua theo dõi các trường hợp VG cấp cho thông tin khá đầy đủ về kiểu truyền nhiễm. Tần suất nhiễm virut mạn của người lớn trung bình là 0,3%, với 0,08% ở người da trắng và 1,1% ở người da đen và 5% dân số trong cộng đồng đã có nhiễm HBV trước đây. Mỗi năm có

khoảng 300.000 trường hợp nhiễm virut mới và 20.000 đến 30.000 người trở thành người mang HBV với nguy cơ bệnh gan mạn và UTTBG. Tuy nhiên, theo CDC, từ giữa những năm 1980, tần suất người mang hàng năm đã giảm 50% do thay đổi cách ứng xử trong tiêm chích ma túy và người đồng tính nam đối với dịch AIDS. Năm 1992-1993, trong nghiên cứu Sentinel Counties do CDC tiến hành, yếu tố nguy cơ hay gặp là tiếp xúc tình dục dị tính với người VG B hoặc với nhiều bạn tình (41%), người tiêm chích ma túy (15%), tình dục đồng tính, tiếp xúc trong gia đình (2%) và với các nhân viên y tế (1%).

5.3.1. Truyền nhiễm ở trẻ sơ sinh

Tại Mỹ, theo thống kê ở trẻ sơ sinh, độ 22.000 trẻ được sinh ra bởi người mẹ mang HBV hàng năm và theo chương trình tiêm phòng VG quốc gia, 4.000 đến 6.000 trở thành người mang HBV do truyền nhiễm chu sinh. Truyền nhiễm chu sinh ước tính từ 15-20% người mang HBV mới, xảy ra chủ yếu ở các cộng đồng ít người, với người gốc châu Á hoặc người da đen nhiễm virut chu sinh lần lượt là 60% và 15%. Tuy thế, truyền nhiễm chu sinh ở Mỹ vẫn còn quan trọng và chương trình tiêm phòng vacxin đã là nền tảng của chương trình phòng HBV ở Mỹ và nhiều vùng dịch lưu hành thấp khác. Truyền nhiễm HBV ở trẻ em có tầm quan trọng trung bình ở Mỹ, với trẻ em dưới 15 tuổi được thống kê chỉ có 3% nhiễm virut HBV cấp trong năm 1988 và trẻ em dưới 10 tuổi chiếm 8% nhiễm virut cấp, nhưng nhiễm virut ở lứa tuổi này chiếm 36% số nhiễm virut mạn. Tuy nhiên, bệnh mạn tính do truyền nhiễm ở trẻ nhỏ nhiều lần cao hơn, những trẻ nhỏ hơn thì gần như sẽ trở thành người mang HBV. Con đường truyền nhiễm không được xác định rõ trong nhóm này. Những người di cư từ những vùng dịch lưu hành cao và gia đình của trẻ được nhận làm con nuôi từ những vùng này, tiếp xúc trong nhà với người mang HBV, đặc biệt là mẹ và anh chị em, là yếu tố nguy cơ quan trọng. Truyền nhiễm giữa những người châu Á di cư phức tạp hơn do tiếp xúc ngoài gia đình. Truyền nhiễm hiếm khi ghi nhận ở các trung tâm giữ trẻ ban ngày ở Mỹ ngoại trừ các trường hợp nhẹ khi có hành vi bạo lực như cắn xảy ra. Truyền nhiễm trong các trung tâm nuôi dạy trẻ chậm phát triển tâm thần đã giảm do việc cải thiện điều kiện vệ sinh và thực hiện chương trình tiêm chủng HBV.

5.3.2. Truyền nhiễm ở thanh niên và người lớn

Truyền nhiễm ở thanh niên và người lớn chiếm khoảng 95% trường hợp nhiễm virut cấp ở Mỹ và chiếm 70-75% của các trường hợp nhiễm virut mạn mới hàng năm. Thanh niên từ 15-39 tuổi chiếm 75% tất cả các trường hợp bệnh. Người lớn có thể có nguy cơ do cách sống (tiêm chích ma túy, hoạt động tình dục với nhiều bạn tình), nghề nghiệp (nhân viên y tế, công an), tiếp xúc với máu trong các khu vực điều trị (thẩm phân phúc mạc, người bệnh ưa chảy máu nhận các sản phẩm máu

người cho) và tiếp xúc thân mật trong gia đình có người mang HBV. Tại Mỹ, tiêm chích ma túy đường tĩnh mạch và tiếp xúc tình dục dị phái là các yếu tố nguy cơ quan trọng nhất và mỗi yếu tố nguy cơ góp phần truyền nhiễm HBV độ 25%. Tiếp xúc đồng giới và bệnh nghề nghiệp đã có phần giảm (<10% và 5%) do thay đổi thái độ tình dục và dùng vacxin ngừa VG B. Độ 30% trường hợp bệnh cấp tính không xác định được yếu tố nguy cơ.

Truyền nhiễm qua đường tình dục và tiếp xúc với máu qua việc tiêm chích ma túy còn là những con đường truyền nhiễm chủ yếu ở Mỹ và hầu hết các nước khác của châu Âu. Nguy cơ nhiễm virut ở những người trưởng thành cao hơn ở vài sắc tộc, bao gồm người da đen (hơn 2-4 lần) và người gốc Tây ban nha (hơn 1,5 lần), so với người da trắng. Mặt khác, tình trạng kinh tế xã hội thấp kém làm tăng nguy cơ nhiễm virut cả về tần suất và tỷ lệ mới mắc. Cũng như các bệnh truyền nhiễm qua đường tình dục và đường máu, HBV tỏ ra là bệnh của lớp người nghèo.

Đường truyền nhiễm khác ở người lớn đã có nhiều thay đổi. Truyền nhiễm bệnh viện ở vùng địa phương thấp này không còn tìm thấy có ý nghĩa thống kê trong khảo sát trường hợp đối chứng gần đây ở Mỹ, có lẽ do tiêu chuẩn sát khuẩn nghiêm ngặt những dụng cụ dính máu và việc dùng kim sử dụng một lần. Trong quá khứ, đợt dịch VG B thường xảy ra ở những BN và nhân viên y tế trong các đơn vị thẩm phân phúc mạc, nhưng con đường truyền nhiễm này đã giảm nhanh ở Mỹ.

6. CÁC VẤN ĐỀ KHÁC LIÊN QUAN ĐẾN DỊCH TỄ HỌC NHIỄM HBV

6.1. NHIỄM HBV TỒN TẠI

Nhiễm HBV mạn được định nghĩa là sự tồn tại của HBsAg trong huyết thanh trên 6 tháng. Định nghĩa này dựa trên cơ sở nghiên cứu các BN trong các đơn vị thẩm tách máu được theo dõi chuyển huyết thanh từ HBsAg âm thành dương tính. Có tới 90% số BN này tồn tại HBsAg quá 6 tháng được xem có khả năng còn HBsAg(+) suốt đời.

Yếu tố quyết định của tình trạng nhiễm HBV mạn là tuổi lúc phơi nhiễm. Các trẻ sinh ra từ mẹ có HBsAg và HBeAg(+), được gọi là phơi nhiễm với HBV trong thời kỳ chu sinh, có khả năng nhiễm virut mạn lên đến 90%. Khi phơi nhiễm từ 1 đến 5 tuổi, 25% đến 50% trẻ trở thành nhiễm virut mạn. Những đứa trẻ lớn hơn, khả năng trở thành mạn tính giảm xuống trong khoảng 5% đến 10%. Nguy cơ chuyển thành mạn tính ở người lớn phơi nhiễm HBV có thể còn thấp hơn. Theo dõi những người đàn ông phơi nhiễm với vacxin sốt vàng nhiễm HBV trong thế chiến thứ II, xác định tỷ lệ độ 6,3% người mang mạn tính sau 40 năm.

Các yếu tố khác cũng ảnh hưởng đến khả năng phát triển tình trạng nhiễm virut mạn. Những người bị tổn thương miễn dịch có nguy cơ cao nhất, bao gồm những

người bệnh thận giai đoạn cuối, bệnh phong u, ung thư máu hoặc các bệnh ung thư khác, nhất là khi được điều trị với thuốc ức chế miễn dịch. Các yếu tố di truyền cũng góp phần tạo ra nguy cơ mạn tính, tuy các nghiên cứu về các gen phức hợp phù hợp tổ chức chính lớp I và II hiện nay chưa kết luận được. Một báo cáo gần đây từ Gambia liên quan chặt chẽ đến một phân tử DR kháng nguyên bạch cầu người (HLA) có tác dụng bảo vệ chống lại tình trạng chuyển mạn tính. Thursz và cs thấy rằng HLA-DRBI* 1302 được tìm thấy ở độ 26% trẻ em và người lớn nhiễm HBV thoáng qua so với 16% ở trẻ em và 7,5% ở người lớn với nhiễm HBV mạn.

Liều lượng virut gây nhiễm và mức độ trầm trọng của bệnh ban đầu có vẻ liên quan đến khả năng nhiễm HBV mạn. Nhiễm virut tồn tại hay gặp sau VG không vàng da hơn là sau VG có vàng da. Những người sống sót sau VG kịch phát ít khi trở thành người nhiễm HBV mạn và người mang HBsAg mạn thường không có bệnh sử VG cấp. Nhiễm virut thực nghiệm với huyết thanh có nhiều nồng độ virut khác nhau cho thấy các liều lượng virut thấp thường có thời kỳ ủ bệnh dài, bệnh ban đầu nhẹ và dễ thành nhiễm virut mạn hơn so với khi gây nhiễm với liều lượng cao. Không có bằng chứng các kiểu phụ HBsAg có độc lực hoặc có thiên hướng khác nhau trong nhiễm virut mạn.

6.1.1. Nhiễm virut mạn HBeAg(+)

HBeAg là một protein virut sản xuất dư thừa khi sao chép HBV nguyên sinh. HBeAg không được lắp ráp vào virion nhưng được tiết và lưu thông trong máu. Trong nhiễm virut cấp, HBeAg xuất hiện đồng thời với HBsAg. Sự hiện diện của HBeAg thường kết hợp với HBV DNA, tính gây nhiễm, VG và tổn thương tế bào với nhiều mức độ khác nhau.

Trong nhiễm virut mạn có HBeAg(+), khoảng 10^{10} đến 10^{12} hạt virut được lưu hành trong hệ tuần hoàn. Mất HBeAg thường đi kèm VG bùng phát qua trung gian miễn dịch, biểu hiện với ALT tặng cao và hoại tử tế bào gan. Với sự phát triển anti-HBe sau đó, thường có sụt giảm đáng kể sao chép virut và giảm HBV DNA lưu thông xuống mức thấp hơn. Trong đa số người, quá trình này tạo nên một tình trạng nhiễm virut tiềm tàng với gan bình thường hoặc chỉ tổn thương gan tối thiểu. Chuyển huyết thanh HBeAg xảy ra tự nhiên với nhiều tỷ lệ khác nhau theo tuổi, với khoảng từ 15-23% mỗi năm, với tỷ lệ chuyển huyết thanh cao hơn trong lứa tuổi từ 20-35.

6.1.2. Nhiễm virut mạn HBeAg(-)

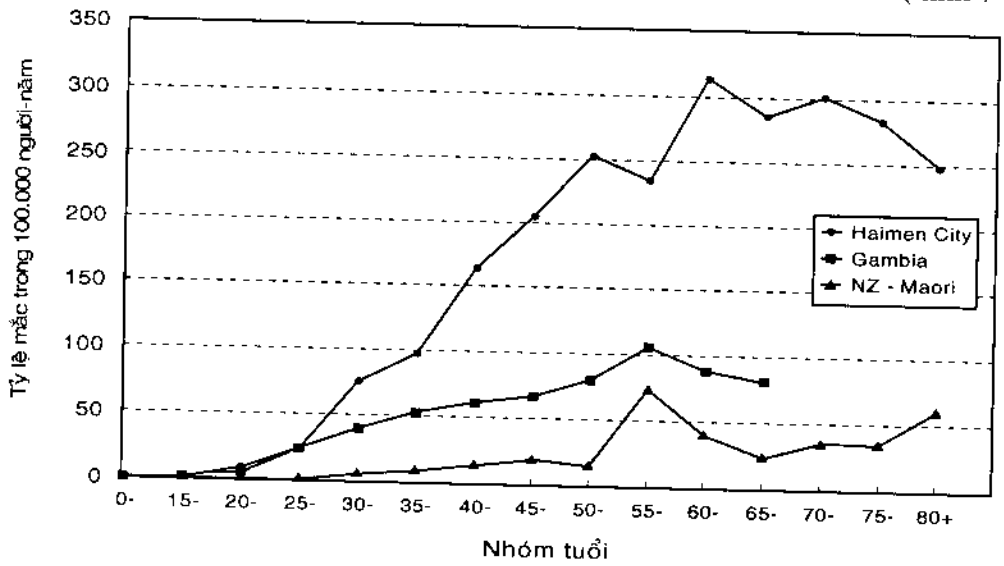
Ở một số BN, HBeAg mất đi là do phát triển của HBV đột biến không có khả năng tổng hợp kháng nguyên e. BN tiếp tục sao chép HBV (với bằng chứng có HBV DNA được phát hiện trong huyết thanh bằng các phương pháp tái tổ hợp) và tăng ALT sau chuyển huyết thanh. BN thường có một đột biến trong vùng tiền lõi (precore) của bộ gen, chủ yếu tại nucleotit (nt) 1896. Các BN nhiễm virut đột biến

tiền lõi thường có tiên lượng xấu với nguy cơ phát triển VG mạn tấn công cao hơn. Tuy nhiên, các đột biến tiền lõi cũng được gặp ở huyết thanh của người mang HBV không có triệu chứng với virut kiểu hoang dại. Một vài đột biến có thể có mặt ngay lúc bắt đầu nhiễm virut, trong khi các đột biến khác phát triển muộn hơn, có thể do chọn lọc miễn dịch.

6.2. CÁC BỆNH KẾT HỢP

VG B cấp thường có một tiến trình tự giới hạn, với đa số BN hồi phục hoàn toàn. VG kịch phát xảy ra từ 1-2% các trường hợp nhiễm cấp, nhưng gây tử vong hầu hết BN. Các bệnh trầm trọng kết hợp với nhiễm HBV mạn làm ảnh hưởng đến gan, trong đó một số bệnh ngoài gan gây nên do các phức hợp miễn dịch của kháng nguyên và kháng thể VG B. Các bệnh này gồm viêm vi cầu thận màng mạn (hoặc màng tăng sinh) và viêm đa động mạch.

VG mạn hoạt động có thể gây ra xơ gan, suy gan và tử vong. UTTBG cũng là một biến chứng thường gặp của nhiễm HBV mạn với 15 đến 100 lần cao hơn những người không mang HBV. Tuy nhiên, nguy cơ đối với người mang thay đổi tùy theo vùng như là hậu quả của các yếu tố hiện chưa biết rõ. Tỷ lệ tử vong UTTBG ở thành phố Haimen, Trung Quốc có thể được coi là cao nhất thế giới. Tại miền tây châu Phi, UTTBG là ung thư người lớn hay gặp nhất, nhưng tỷ lệ mới mắc ở Gambia (một trong số ít nước châu Phi có đăng ký báo cáo ung thư) thì thấp hơn Haimen nhiều. Thấp hơn nữa là tỷ lệ mới mắc ở nhóm dân tộc Maori ở New Zealand (hình 7-3).



Hình 7-3. *Tỷ lệ mắc UTTBG ở nam giới trong 3 cộng đồng có tần suất HBsAg tương tự.*

Biểu đồ cho thấy tỷ lệ mắc UTTBG đặc hiệu theo tuổi ở nam giới trong 3 cộng đồng khác biệt về mặt địa lý trong đó tần suất người mang HBV ở người lớn xấp xỉ bằng nhau (10% đến 15%).

Công trình cổ điển của Beasley và cs ở các nam nhân viên dân sự Đài Loan báo cáo một tỷ lệ mới mắc UTTBG là 495 trên 100000 người-năm ở những người HBsAg(+). Tỷ lệ mới mắc đỉnh là 927 trên 100.000 người-năm ở lứa tuổi 60-69. McMahon và cs nghiên cứu một tập hợp dựa trên cơ sở dân số người bản xứ Alaska thấy một tỷ lệ mới mắc UTTBG là 387 trên 100.000 người-năm ở người đàn ông mang HBV ở tất cả lứa tuổi với một đỉnh là 1.190 trên 100.000 người-năm ở nam giới trên 50 tuổi. Trong một nghiên cứu tương lai UTTBG ở người mang HBV thuộc thành phố Haimen, Trung Quốc, một tỷ lệ mới mắc UTTBG toàn bộ (đã chuẩn hóa theo tuổi) ở đàn ông là 729 trên 100.000 người-năm, từ thấp nhất 234 trên 100.000 ở đàn ông từ 20-29 tuổi đến 1.647 trên 100.000 đàn ông từ 60-69 tuổi. Điều chưa rõ là các khác biệt giữa các cộng đồng người mang HBV do các yếu tố ngoại sinh (như các khác biệt trong các chất sinh UTTBG trong môi trường khác) hoặc một nhóm khác biệt trong bệnh sử của nhiễm HBV mạn phụ thuộc vào các yếu tố nội sinh đối với ký chủ hoặc virut.

Beasley và cs thấy nguy cơ UTTBG ở người mang HBV kết hợp rất ý nghĩa với một chẩn đoán xơ gan ở BN HBeAg(+) lúc bắt đầu nghiên cứu (HBeAg là chỉ thị của sự sao chép virut hoạt động). Các nghiên cứu tương lai dựa trên lâm sàng tập trung chủ yếu trên BN xơ gan hoặc VG mạn hoạt động.

Bảng 7-2. Tỷ lệ mới mắc UTTBG cho 100.000 người dân.

Tác giả	Địa phương	Tỷ lệ mới mắc/ 100.000 người-năm (nam)	Tỷ lệ mới mắc đỉnh/100.000 người-năm (nam)	Tỷ lệ mới mắc thấp nhất /100.000 người-năm (nam)
Beasley và cs	Đài Loan	495	Lứa tuổi 60-69: 927	
McMahon và cs	Alaska	387	Trên 50 tuổi: 1.190	
London và cs	Haimen, TQ	729	Tuổi 60-69: 1.647	Tuổi 20-29: 234

Nguy cơ cuộc sống trung bình (lifetime risk) đặc hiệu cho người mang HBV ở những nước đã phát triển khó xác định ngoại trừ các nhóm sống cô lập (người bản địa Alaska) và các nghiên cứu dựa vào lâm sàng trong đó tỷ lệ mới mắc có thể tăng lên do sai số người thu nhận BN. Sherman và cs đã báo cáo tỷ lệ mới mắc UTTBG trong 1.069 người mang HBV ở Toronto với thời gian theo dõi trung bình là 26 tháng. Cộng đồng nghiên cứu gồm các người lớn thuộc nhóm dân châu Á. Những người tham dự được chọn trong số những người mang HBsAg đã biết từ các bác sĩ tiêu hóa, các bác sĩ gia đình. Kết quả cho thấy tỷ lệ mới mắc UTTBG là 657 trên 100.000 người-năm ở đàn ông và 122 trên 100.000 người-năm ở phụ nữ. Tỷ lệ này hơi cao

hơn các tỷ lệ được báo cáo ở người lớn bản xứ Alaska (488 trong 100.000 ở nam và 68 trong 100.000 ở nữ). Sự khác biệt này có thể do sai số người thu nhận BN và khác biệt trong cấu trúc tuổi của hai cộng đồng (các tỷ lệ đặc hiệu theo tuổi không được báo cáo), hoặc các khác biệt thực sự trong nguy cơ nền của UTTBG giữa người bản xứ Alaska và hậu duệ của người châu Á sống tại Bắc Mỹ.

Bảng 7-3. Tỷ lệ mới mắc UTTBG ở hai cộng đồng theo giới.

Tác giả	Cộng đồng	Tỷ lệ mới mắc/100.000 người-năm (nam)	Tỷ lệ mới mắc/100.000 người-năm (nữ)
Sherman và cs	Nhóm dân châu Á sống ở Toronto	657	122
McMahon và cs	Alaska	488	68

Nguy cơ UTTBG ở người mang virut có xơ gan còn cao hơn, nhưng khó dự đoán tỷ lệ chính xác. Đa số các nghiên cứu dựa trên lâm sàng; tuy nhiên, các BN được xếp vào các giai đoạn xơ gan của Child, các BN có α-fetoprotein cao vào lúc bắt đầu nghiên cứu thường không bị loại trừ. Điều này khiến cho nhiều BN có UTTBG dưới lâm sàng có thể bao gồm trong nghiên cứu làm cho việc ước tính tỷ lệ mắc UTTBG cao một cách giả tạo. BN xơ gan có thể chết vì suy gan nhưng cũng có thể có UTTBG nhỏ được phát hiện bằng các phương pháp chẩn đoán hình ảnh hoặc bằng tử thiết.

6.3. RƯỢU VÀ NHIỄM HBV

Rượu gây độc cho gan và có thể làm tăng tổn thương gan liên quan với nhiễm HBV. Nghiện rượu lâu ngày đã được chứng minh liên quan đến phát triển xơ gan. Những người nhiễm HBV mạn và những người nghiện rượu có nguy cơ xơ gan và UTTBG cao hơn trường hợp những người mang HBV không uống rượu hoặc người nghiện rượu nhưng không nhiễm HBV. Oshima và cs thấy những người cho máu có HBsAg(+) ở Nhật kết hợp nghiện rượu vừa hoặc nặng có nguy cơ phát triển UTTBG gấp 5-8 lần hơn người không uống rượu.

6.4. AFLATOXIN VÀ HBV

Phơi nhiễm với aflatoxin-B_1 (AFB_1) đã được chứng minh trong nhiều vùng có UTTBG với tỷ lệ tử vong cao. Kết quả nghiên cứu về cấu trúc gen trên người UTTBG đã phát hiện một điểm đột biến tại bazơ thứ 3 của codon 249 trong gen ức chế u p53. Dị hoán G thành T tại codon 249 đã được xem là một đột biến đặc hiệu gây nên bởi phản ứng 8,9-epoxide của AFB_1 với N-7 guanin trong DNA. Hai nghiên cứu đã cho thấy một tương tác mạnh của nhiễm HBV với phơi nhiễm AFB_1 và UTTBG. Ross và cs trong một nghiên cứu tương lai ở Thượng Hải, chứng minh các chất biến dưỡng của aflatoxin được bài tiết theo nước tiểu làm tăng nguy cơ UTTBG

độ 4 lần, nhiễm HBV mạn tăng nguy cơ độ 7 lần một cách độc lập, nhưng những người có cả chất biến dưỡng aflatoxin được bài tiết và đồng thời nhiễm HBV mạn có nguy cơ của UTTBG 60 lần cao hơn ở người không phơi nhiễm với AFB_1 hoặc không nhiễm HBV.

Có ít nhất 2 enzym liên can trong việc khử độc 8,9-epoxide của AFB1, là microsomal epoxide hydrolase (EPHX) và glucathione–S–Transferase (GST). Thể μ của GST là một trong nhiều kiểu đồng dạng của GST, nhưng có mặt với nồng độ cao trong tế bào gan. EPHX và GST μ (GSTM1) khá đa dạng trong cộng đồng người. Một nghiên cứu UTTBG trường hợp–đối chứng ở Thượng Hải cho thấy cả hai kiểu gen "đánh lạc hướng" của GSTM1 và các alen đột biến của EPHX làm tăng nguy cơ UTTBG. Nhiễm HBV mạn có một tác động nhân bội lên nguy cơ. Người HBsAg(+) có các kiểu gen GSTM1 và EPHX có nguy cơ tăng gấp 10 lần UTTBG so với những người HBsAg(-) có kiểu gen trên. Tuy nhiên, những người HBsAg(+) có các kiểu gen "đánh lạc hướng" (GSTM1-, EPHX[2]) có nguy cơ UTTBG gấp 135 lần.

Các yếu tố nội và ngoại sinh khác có thể làm tăng hoặc giảm nguy cơ bệnh gan mạn và UTTBG ở người nhiễm HBV. Các yếu tố này rất nhiều, bao gồm selenium, arsenic, thuốc lá, các tác nhân virut khác, đang được nghiên cứu.

7. DỊCH TỄ HỌC CỦA NHIỄM VIRUT VG B Ở KHU VỰC CHÂU Á - THÁI BÌNH DƯƠNG

Khu vực châu Á-Thái Bình Dương, cùng với châu Phi là nơi có tần suất dịch lưu hành cao. Tuy nhiên, giữa hai lục địa có nhiều khác biệt về mặt dịch tễ học như truyền nhiễm chu sinh (chiều dọc) là đặc điểm của vùng châu Á-Thái Bình Dương, truyền nhiễm ở tuổi trẻ em (chiều ngang) là đặc điểm của châu Phi. Bởi thế, cần phải tìm hiểu thêm về đặc điểm dịch tễ học VG B tại vùng châu Á-Thái Bình Dương.

Ở người Trung Quốc, có lẽ cũng phần nào tương tự như các nước khác ở vùng Đông và Đông Á, các tác giả ước tính nhiễm virut trong giai đoạn bào thai ít nhất là 10% và trong lúc sinh độ 40% và truyền nhiễm theo chiều ngang khác sau sinh có một vai trò tương đối nhỏ. Điều này được cho là trong hầu hết các nước vùng Viễn Đông, 5-12% phụ nữ sắp sinh nở có HBsAg(+), và 30-50% trong số họ có mức độ virut lưu thông cao do có HBeAg hoặc HBV-DNA. Ngược lại, những vùng dịch HBV lưu hành cao khác như Phi Châu, nơi mà nhiễm virut thường ở tuổi thơ ấu hơn là truyền nhiễm chu sinh thì chỉ dưới 20% người mẹ có HBsAg(+) có HBeAg(+).

7.1. CÁC ĐẶC TRƯNG DỊCH TỄ HỌC CỦA NHIỄM HBV

7.1.1. Phân bố tần số nhiễm

Tần suất nhiễm HBV trong vùng Châu Á Thái Bình Dương biến đổi khá rộng, thấp nhất (<1%) ở Australia và Newzealand, 1-5% ở Nhật Bản, Singapore, Ấn Độ

và Thái Lan, 6-10% ở Bangladesh, Indonesia và miền bắc Trung Quốc và cao nhất (trên 10%) ở Đài Loan, miền nam Trung Quốc, Triều Tiên, Phillipin, Melanesia, Micronesia, Polynesia và cả Việt Nam.

Có sự biến đổi rộng trong tần suất nhiễm HBV trong các vùng khác nhau của cùng một quốc gia. Thí dụ: tỷ lệ nhiễm HBV ở thiếu niên Đài Loan từ 12-42%. Có những làng dịch HBV địa phương cao một cách đặc biệt đã được báo cáo ở một số nước trong vùng Châu Á-Thái Bình Dương. Tần suất nhiễm HBV thường cao ở vùng nông thôn hơn thành thị và nhiều nguồn nhiễm đã được xác định, bao gồm nhiễm do thầy thuốc và qua đường tình dục.

7.1.2. Khác biệt do di dân

Những người Đài Loan cao tuổi sinh ra ở Trung Hoa lục địa có tỷ lệ nhiễm HBV mạn tính tương tự với những người ở các tỉnh của Trung Quốc, quê hương của họ. Người Do Thái sinh ở bắc châu Phi có tỷ lệ nhiễm HBV cao hơn người Do Thái sinh ở Liên Xô cũ và châu Âu. Các nghiên cứu liên quan đến di dân cho thấy tầm quan trọng của truyền nhiễm chu sinh hoặc truyền nhiễm ở tuổi ấu thơ trong sự phát triển VG B mạn tính.

7.1.3. Khác biệt chủng tộc

Có các báo cáo về các khác biệt chủng tộc trong tần suất nhiễm HBV. Các cư dân của con đường tơ lụa (Silk Road) khác biệt chủng tộc cũng có sự khác biệt về tần suất huyết thanh HBsAg với 6% ở người Uygur, 9% ở người Kazak và 12% ở người Hán. Những người gốc bản xứ ở Đài Loan có tần suất nhiễm HBV cao hơn khi so sánh với người Đài Loan gốc Phước Kiến, gốc Hakka và Trung Hoa lục địa. Các phân tích khác cho thấy ảnh hưởng quan trọng về chủng tộc của người mẹ hơn của người cha và cho thấy truyền nhiễm chu sinh có thể góp phần quan trọng vào sự khác biệt chủng tộc.

7.1.4. Ảnh hưởng của can thiệp

Có nhiều báo cáo về việc giảm tần suất nhiễm HBV sau khi thực thi các chương trình tiêm chủng HBV đại trà ở Nhật Bản và Đài Loan. Tỷ lệ người mang HBV giảm một cách ý nghĩa trong quần đảo Goto của Nagasaki chủ yếu là do các biện pháp làm giảm truyền nhiễm HBV theo chiều ngang vào thời thơ ấu. Tỷ lệ nhiễm HBV ở thiếu niên vùng Đài Bắc cũng đã giảm từ hơn 20% xuống 11%, đây cũng là do can thiệp vào con đường truyền nhiễm theo chiều ngang.

7.1.5. Phân bố theo tuổi

Các khác biệt khá rõ ràng trong lớp tuổi nhiễm HBV được báo cáo trong vùng châu Á-Thái Bình Dương. Nhiễm HBV lan rộng xảy ra ở trẻ dưới 1 tuổi và trẻ nhỏ ở những nước có tần suất HBV nền cao như miền nam Trung Quốc, Đài Loan và Việt Nam. Nhiễm HBV thường gặp hơn trong những nước có tần suất nhiễm nền thấp ở

tuổi thanh thiếu niên. Lứa tuổi có tần suất HBV ở mức cao thay đổi tùy theo nước có nguy cơ cao hay thấp. Tần suất đỉnh cao ở trẻ em thường gặp trong các vùng dịch lưu hành cao, nhưng tần suất tăng theo tuổi cho đến đỉnh ở tuổi trưởng thành ở các vùng có mức lưu hành thấp.

Tuổi nhiễm HBV càng trẻ, xác suất trở thành người mang mạn tính càng cao. Trong 2 nghiên cứu tương lai ở Đài Loan, 23% trẻ em trước tuổi học đường và chỉ 3% sinh viên đại học nhiễm mới bởi HBV trở thành mạn tính. Đỉnh tuổi nhiễm HBV mạn tính ở Đài Loan giảm xuống theo năm, cho thấy tập hợp các trẻ sinh ra trước thế chiến thứ hai có nguy cơ nhiễm HBV cao hơn những đứa trẻ sinh ra sau đó.

7.1.6. Phân bố theo giới tính

Trong những vùng dịch lưu hành cao, các bé gái và bé trai có tần suất nhiễm HBV ban đầu giống nhau, tuy nhiên sau đó có sự trội hơn ở nam giới về nhiễm virut mạn tính với những lý do còn chưa được nghiên cứu sâu. Ở Đài Loan tần suất nhiễm các dấu ấn HBV từ 62% ở trẻ nam và 65% ở trẻ nữ, có tần suất HBsAg huyết thanh tương ứng là 21% và 18%. Thành phần HBsAg huyết thanh dương tính trong số trẻ nhiễm các dấu ấn HBV là 34% ở trẻ trai và 27% ở trẻ gái. Khác biệt giới tính về sự tồn tại nhiễm HBV cần nghiên cứu sâu thêm.

Ở người lớn theo nhiều nghiên cứu thì tần suất nhiễm HBV ở giới nam thường cao hơn giới nữ, chủ yếu do quá trình lây nhiễm sau sinh và một số yếu tố khác chưa được nghiên cứu sâu. Ngoài ra, những nghiên cứu về hướng truyền nhiễm giữa các cặp vợ chồng thì thấy phía nữ truyền cho phía nam hiệu quả hơn, có thể do tỷ lệ HBeAg(+) của nữ, nhất là phụ nữ có thai cao hơn giới nam. Tại Đài Loan, 337 cặp vợ chồng được xét nghiệm các dấu ấn HBV, tần số HBV dương của chồng là 100% nếu vợ mang HBeAg. Ngược lại, tỷ số nhiễm HBV của vợ thì không cho thấy có liên quan với tình trạng mang HBsAg hoặc HBeAg của chồng.

7.1.7. Tình trạng kinh tế xã hội và nghề nghiệp

Một vài nhóm nghề, như nhân viên y tế xử lý máu, có nguy cơ nhiễm HBV cao hơn. Gái mại dâm trong nhiều nước được báo cáo có tần suất nhiễm HBV tăng cao nhưng tỷ lệ nhiễm HBV mạn tương tự so với cộng đồng chung, có thể do tình trạng HBV mạn phụ thuộc chủ yếu theo tuổi. Trẻ em sinh ra mà cha mẹ có tình trạng kinh tế xã hội thấp có tần suất nhiễm HBV cao hơn các trẻ có cha mẹ có mức sống kinh tế xã hội cao.

7.2. CÁC ĐƯỜNG TRUYỀN NHIỄM HBV

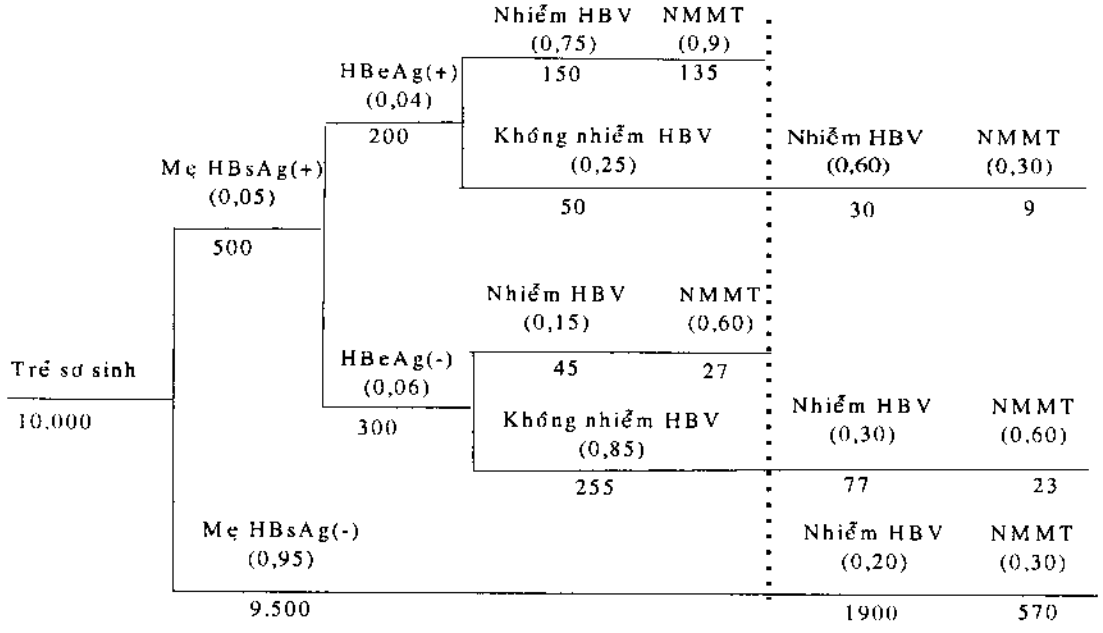
7.2.1. Truyền nhiễm trong bào thai

Nhiễm virut trong bào thai đã được nghiên cứu khá sâu. Máu người mẹ bị nhiễm virut thấm qua nhau, do những cơn co tử cung trong lúc mang thai và lúc tróc màng nhau, giữ một vai trò quan trọng trong truyền nhiễm trước khi sinh. Li và cs đã

chứng minh 4/48 (8%) thai nhi bị sảy từ người mẹ có HBsAg(+) ở tuổi thai 20-31 tuần có bằng chứng của nhiễm virut qua nhau.

7.2.2. Truyền nhiễm chu sinh

Truyền nhiễm chu sinh thường gặp ở các vùng dịch lưu hành cao. Một nghiên cứu tương lai ở Đài Loan, 40% (63/158) trẻ sinh ra từ người mẹ nhiễm HBV mạn tính bị nhiễm HBV và 80% các trẻ này trở thành nhiễm virut mạn tính. Nồng độ HBsAg ở mẹ càng cao, nguy cơ nhiễm virut càng lớn. Người mẹ mang HBeAg(+) tính đặc biệt gây nhiễm cho trẻ sơ sinh. HBeAg huyết thanh dương tính thường gia tăng nguy cơ nhiễm HBV. Trong khi 85% các trẻ sinh ra từ người mẹ HBeAg(+) trở thành nhiễm virut mạn tính, các trẻ sinh ra từ người mẹ HBeAg(-) chỉ có 31% nhiễm mạn. Tại Philippines, nguy cơ trẻ em mang HBsAg(+) ở người mẹ HBsAg(+) 20 lần nhiều hơn trẻ được sinh ra ở người mẹ HBsAg(-) (OR=18,9, KTC95%= từ 2,0 đến 86,6). Nguy cơ cao hơn nếu nếu người mẹ vừa mang HBsAg(+) vừa mang HBeAg(+) (OR=91,0, KTC95%=49,2-164,8). Truyền nhiễm theo chiều dọc chiếm khoảng 1/3 trường hợp HBsAg(+) ở trẻ dưới 1 tuổi.



Hình 7-4. *Nhiễm HBV ở trẻ dưới 5 tuổi trong một nghiên cứu thuần tập trẻ sơ sinh ở Trung Quốc.*

Vùng dịch lưu hành cao, có dấu ấn HBeAg khá cao trong cộng đồng. Trên biểu đồ, tỷ lệ nhiễm hay không nhiễm các dấu ấn HBV ở trên, số lượng bà mẹ hay trẻ được nghiên cứu ở dưới đường vẽ. NMMT= người mang mạn tính.

Lee và cs chứng minh ở người mẹ mang virut khỏe mạnh, HBsAg được phát hiện trong 33% mẫu dịch màng ối, 50% ở máu rốn, 71% ở sữa mẹ, 95.3% dịch hút dạ dầy trẻ sơ sinh. Có thể do trẻ nuốt dịch nhiễm virut trong lúc sinh.

Một nghiên cứu ở Trung Quốc cho thấy tuổi mẹ vào lúc sinh con càng lớn, nguy cơ trẻ sơ sinh nhiễm HBV càng thấp, điều này có thể giải thích bằng việc biến mất HBeAg (chuyển huyết thanh) tăng theo tuổi mẹ.

Các vùng có tỷ lệ nhiễm virut chu sinh cao được xác định là do phụ nữ, có khả năng nhiễm virut từ lúc tuổi nhỏ, tồn tại HBeAg(+) và có thể truyền nhiễm khá hiệu quả cho trẻ mới sinh. Tuy nhiên phụ nữ trong các vùng khác của thế giới, đặc biệt là châu Phi và Nam Mỹ nhiệt đới cũng mắc bệnh lúc tuổi nhỏ nhưng lại có HBeAg(+) ít hơn khi họ đến tuổi mang thai. Lý do phụ nữ châu Á có tỷ lệ HBeAg(+) cao chưa được biết rõ. Nhiều giải thích đã được đưa ra: do tố bẩm di truyền, khoảng cách các lần sinh ảnh hưởng đến sự thải trừ HBeAg, hoặc chính nhiễm virut sau sinh dẫn đến sự tồn tại HBeAg.

7.2.3. Truyền nhiễm theo chiều ngang

Nhiễm virut sau sinh: Beasley và Hwang đã báo cáo 105 trẻ sinh từ mẹ HBsAg(+) và được tiêm HBIG ngay sau sinh và trong một vài trường hợp vào tháng thứ 3 và tháng thứ 6, kết quả cho thấy 38,1% trẻ em bị nhiễm virut trung bình 17,5 tháng. Kết quả theo dõi tiếp diễn cho thấy tỷ lệ mới mắc hàng năm là 26.0% và cao nhất (57,1%) ở trẻ mà mẹ có HBeAg(+), trung bình (20,4%) ở trẻ mà mẹ cả hai HBeAg và anti-HBe đều âm tính và thấp nhất (11,3%) ở trẻ mà mẹ có anti-HBe(+). Điều này cho thấy nhiễm HBV sau sinh cũng là một vấn đề quan trọng, với cơ chế truyền nhiễm theo chiều ngang, do sự tiếp xúc gần gũi và nuôi dưỡng của người mẹ (bú sữa, mớm cơm...) cho đứa con những tháng đầu cuộc sống.

Nhiễm virut thời thơ ấu: ở Đài Loan, Beasley báo cáo trong 1110 trẻ trước tuổi đến trường, được theo dõi trung bình 2,1 năm, tỷ lệ mới nhiễm HBV hàng năm là 5%. Tổng cộng 98 trẻ đã nhiễm HBV trong khảo sát, 23% trở thành người mang HBsAg mạn và tình trạng tồn tại HBsAg liên quan với tuổi. Nguy cơ trở thành người mang HBV nhiều nhất ở những người nhiễm sớm nhất. Cũng tại Đài Loan, một nghiên cứu tương lai cho thấy các trẻ em tuổi tiền học đường có tỷ lệ mắc hàng năm là 5%. Tỷ lệ nhiễm HBV ở trẻ tiền học đường liên quan với số lần tiêm chích trước đây một cách ý nghĩa. Người ta đã ước tính 30-50% nhiễm virut xảy ra trong quan hệ gia đình và tầm quan trọng của truyền nhiễm HBV trong gia đình đã được chứng minh trong các nghiên cứu ở Đài Loan và Philippines. Nguy cơ nhiễm virut cao liên quan với những trẻ em tiếp xúc với anh chị em hoặc người cha có HBsAg(+). Tuy nhiên nguy cơ cao hơn khi đứa trẻ có người mẹ HBsAg(+).

Nhiễm HBV ở người lớn: truyền nhiễm luyến ái khác giới là con đường hay gặp nhất của nhiễm HBV cấp ở người lớn tại Đài Loan và truyền nhiễm đồng giới cũng được ghi nhận như một đường nhiễm HBV quan trọng ở một số quốc gia khu vực châu Á-Thái Bình Dương. Truyền nhiễm HBV do thầy thuốc qua truyền máu, thấm tách máu, can thiệp phẫu thuật, châm cứu và các tai nạn kim tiêm cũng đã được ghi nhận. Tiêm chích ma túy có vai trò đặc biệt quan trọng trong nguy cơ nhiễm HBV gia tăng ở vùng này. Tại Philippines, hai kiểu tần suất đặc thù theo tuổi được thấy: đỉnh sớm ở trẻ 3-4 tuổi và đỉnh muộn ở người 30-40 tuổi cho thấy có nhiều kiểu truyền nhiễm. Ở người lớn tuổi, truyền nhiễm ngang trong gia đình và sự truyền nhiễm ngoài gia đình có thể có vai trò quan trọng như nhau.

7.3. HIỆU QUẢ CỦA TIÊM PHÒNG HBV

7.3.1. Giảm tỷ lệ nhiễm HBV mạn tính

Tuy việc can thiệp nhằm hạn chế các đường truyền nhiễm có thể giảm tần suất nhiễm HBV, biện pháp sức khoẻ công cộng hiệu quả nhất nhằm kiểm soát HBV là tiêm phòng cộng đồng. Chương trình tiêm chủng HBV cộng đồng từ năm 1984 ở Đài Loan đã làm giảm tần suất HBV khá hiệu quả; tỷ lệ nhiễm HBV mạn ở trẻ 6 tuổi giảm từ 10% trước 1984 xuống dưới 1% sau 1990. Cộng đồng không chủng ngừa cũng được bảo vệ một phần do miễn dịch cộng đồng tăng cao.

Tại Việt Nam và một số quốc gia trong khu vực, tuy chưa có những nghiên cứu định lượng ở quy mô cộng đồng lớn, song có những nghiên cứu đánh giá hiệu quả tiêm phòng vacxin HBV ở diện hẹp cho thấy hiệu lực bảo vệ của vacxin đạt cao (từ 60% đến trên 90%). Việc đưa vacxin VG B vào chương trình tiêm chủng mở rộng áp dụng cho trẻ sơ sinh sẽ làm giảm đáng kể tỷ suất nhiễm HBV mạn ở những lớp tuổi lớn hơn.

7.3.2. Giảm tỷ lệ mắc UTTBG

Tần suất nhiễm HBV mạn và tỷ lệ mắc UTTBG ở trẻ em Đài Loan đã giảm xuống khá ý nghĩa từ khi có chương trình tiêm chủng HBV phổ thông. Tỷ lệ mắc UTTBG cho 100.000 trẻ 6-9 tuổi giảm từ 0,52 cho những trẻ sinh ra trước 1984 xuống 0,13 cho những trẻ sinh sau 1984.

8. MỘT VÀI NÉT VỀ DỊCH TỄ HỌC CỦA VG B TẠI VIỆT NAM

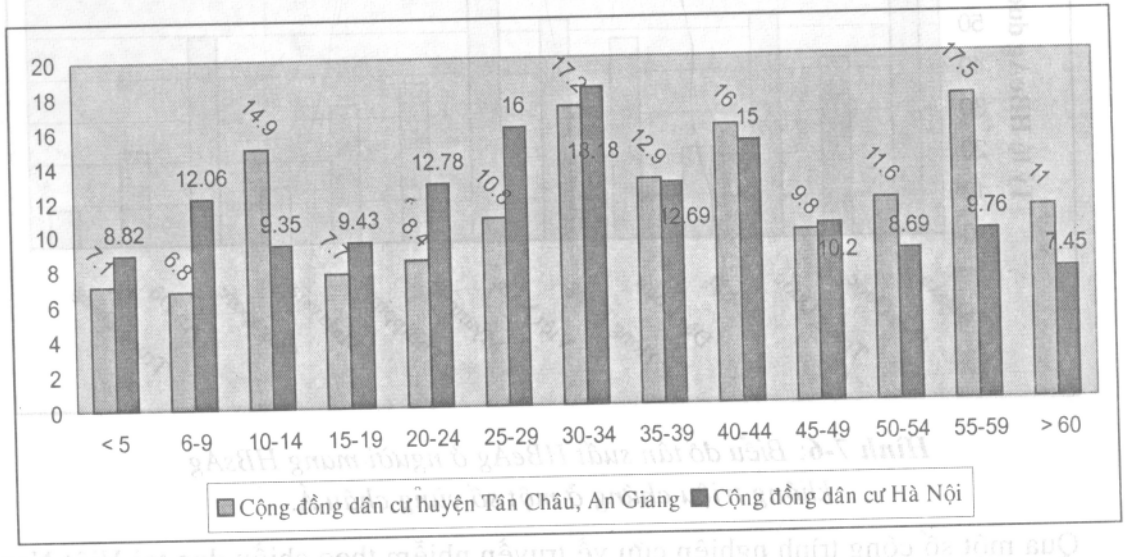
8.1. TẦN SUẤT

8.1.1. Tần suất nhiễm HBsAg

Tại Việt Nam, rất nhiều công trình về tần suất VG B cho thấy Việt Nam ở vào vùng dịch lưu hành cao: tại Hà Nội, theo Hoàng Thủy Nguyên và cs, Trần Thị Chính và cs, Phan Thị Phi Phi và cs, tần suất nhiễm HBsAg của người lớn bình thường lần

lượt là 15-26%, 14,4% và 13,9%. Tại TP. Hồ Chí Minh, theo Trần Văn Bé và Bửu Mật, thì tần suất này là 9,3%. Trương Thị Xuân Liên với tần xuất 11,3%, chia ra các nhóm tuổi như sau: < 15 tuổi, 7,8%; 16-25, 12,9%; 26-35, 13%; 36-45, 13,6% và > 46, 7,4%. Các địa phương khác cũng có nhiều báo cáo về tần suất mang dấu ấn HBsAg: 21,28% tại Tiền Giang, 16,74% tại Lâm Đồng, 17,68% tại Bình Thuận, 30,25% tại Nha Trang...

Ở qui mô nghiên cứu cộng đồng, đã có hai công trình khảo sát tần suất mang HBsAg bằng các biện pháp nghiên cứu dịch tễ học. Công trình của Lê Vũ Anh được tiến hành năm 1988 tại cộng đồng dân cư Hà Nội bằng phương pháp lấy mẫu ngẫu nhiên phân tầng trên 1.304 người, HBsAg(+) là 148, tần suất mang HBsAg là 11,35 ± 0,02% . Công trình của Châu Hữu Hầu tiến hành ở một huyện vùng đồng bằng sông Cửu Long bằng phương pháp lấy mẫu ngẫu nhiên theo cụm với 1.801 mẫu, tần suất mang HBsAg chiếm 11 ± 2%. Các kết quả này cũng phù hợp với công trình của Chaudhary về tần suất người Việt Nam mang HBsAg định cư tại Montréal là 11,7%. Nếu tính sự hiện diện đồng thời của cả ba dấu ấn (HBsAg, anti-HBs, anti-HBc), thì trong nghiên cứu cộng đồng của Châu Hữu Hầu, tỷ lệ này là 64,4 ± 9,8%.



Hình 7-5. *Biểu đồ tần suất người mang HBsAg theo lứa tuổi ở 2 cộng đồng dân cư: Hà Nội và huyện Tân Châu, An Giang.*

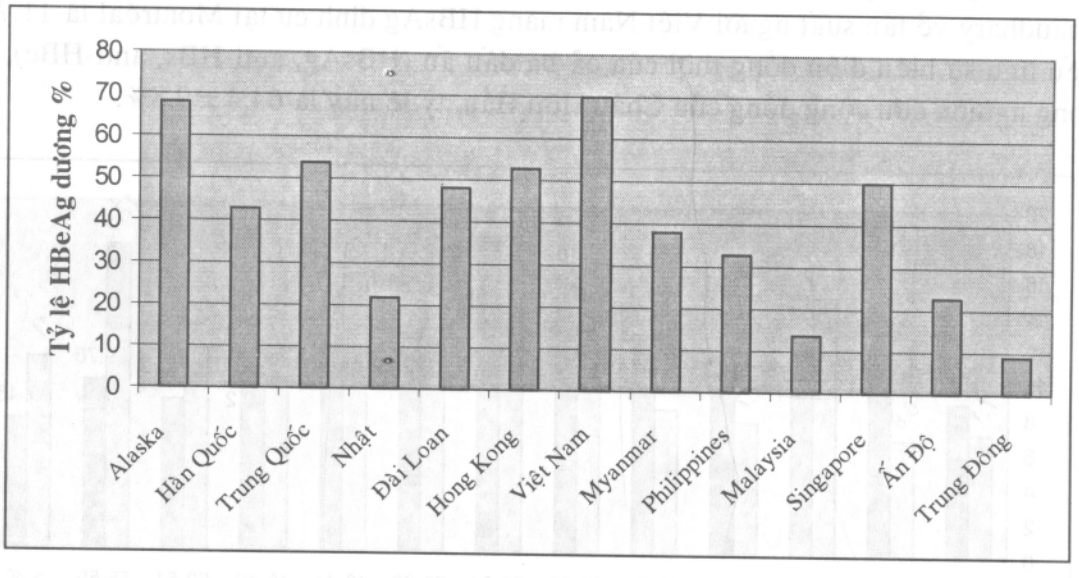
8.1.2. Tần suất nhiễm các dấu ấn khác

HBeAg có trách nhiệm khá lớn khiến trẻ sơ sinh trở thành người mang mạn tính. Về tần suất HBeAg tại Việt Nam, tuy có nhiều báo cáo khác nhau nhưng đều thống nhất là thuộc vào loại cao nhất. Trong khu vực Đông Nam Á, điều này có nghĩa là một đứa trẻ có mẹ nhiễm HBV với HBeAg(+) có rất nhiều khả năng trở thành người mang HBV mạn.

Bảng 7-4: Tỷ lệ HBeAg ở người mang HBsAg theo một số công trình ở Việt Nam.

Địa phương	Đối tượng	Xét nghiệm	Tỷ lệ HBeAg %	Tác giả
BV Thống nhất TP. HCM	Người bình thường HBsAg(+)	Hepanostika HBeAg, Organon Teknika	17,88	Lã Thị Nhẫn
Viện 108	Bà mẹ đến khám thai	SPRIA tại Viện 108	22,5	Đinh Thị Bình và cs
Huyện Tân Châu, An Giang	Người mang HBV mạn	SPRIA tại Viện 108	43,2 ± 0,7	Châu Hữu Hầu

Tuy nhiên, Chen đã đưa ra một số liệu về dấu ấn HBeAg/HBsAg ở Việt Nam khá cao, khoảng 70%, không biết tác giả đã dựa vào nguồn thông tin nào. Theo chúng tôi, tỷ lệ này thay đổi nhiều có lẽ tùy theo địa phương được điều tra cũng như loại kỹ thuật xét nghiệm được dùng.



***Hình 7-6**: Biểu đồ tần suất HBeAg ở người mang HBsAg không triệu chứng ở một số vùng châu Á.*

Qua một số công trình nghiên cứu về truyền nhiễm theo chiều dọc tại Việt Nam cho thấy mức độ lây nhiễm như sau:

Đinh Thị Bình: nếu mẹ có HBsAg và HBeAg(+), tỷ lệ máu rốn của trẻ sơ sinh sẽ có HBsAg(+) 60,8%; so với bà mẹ chỉ có HBsAg(+), tỷ lệ này là 15,4%.

Đỗ Trung Phấn: các bà mẹ có HBsAg và HBeAg(+) lây truyền HBV cho trẻ sơ sinh 67,1% sau 12 tháng tuổi so với bà mẹ chỉ có HBsAg(+) với tỷ lệ 14,6%. Nguy cơ mang HBsAg ở nhóm trẻ 12 tháng tuổi sinh ra từ mẹ HBsAg và HBeAg(+) cao gấp 16,6 lần so với trẻ sinh ra từ mẹ HBsAg(+) và HBeAg(-).

Các nghiên cứu nêu trên đã cho thấy tỷ lệ lây nhiễm HBV theo chiều dọc ở nước ta khá cao, góp phần quan trọng làm tăng tần suất nhiễm HBV và VG trong cộng đồng. Một chiến lược phòng chống hiệu quả trước tiên phải là phòng chống truyền nhiễm theo chiều dọc bằng cách tiêm chủng sớm cho tất cả trẻ sơ sinh có mẹ HBsAg(+), nhất là khi mẹ vừa có HBsAg và HBeAg(+). Tiếp sau đó để phòng nhiễm theo chiều ngang bằng cách đưa tiêm chủng VG B vào chương trình tiêm chủng mở rộng cho toàn bộ trẻ em dưới 1 tuổi trên phạm vi cả nước ta.

Dấu ấn anti-HBs: thay đổi từ 30,89% đến 37% trong cộng đồng.

Dấu ấn anti-HBc: thay đổi từ 54% đến 75% trong cộng đồng.

Các dấu ấn khác: khảo sát người có ít nhất một trong 3 dấu ấn HBsAg +anti-HBs +anti-HBc trong cộng đồng cho thấy có tỷ lệ khoảng 64,4%.

Đa nhiễm virut VG: trong một nghiên cứu trên 685 BN VG điều trị tại Viện Y học lâm sàng các bệnh nhiệt đới, Trịnh Thị Ngọc và cs cho biết có tới 20% BN VG đa nhiễm từ 2 loại virut trở lên, trong đó đối với VG mạn tỷ lệ đa nhiễm virut VG lên tới 25%. Trong nghiên cứu cộng đồng của Châu Hữu Hầu, 3/7 người nhiễm anti-HCV có dấu ấn HBsAg(+), chiếm tỷ lệ 42,8%.

8.1.3. Tần suất người mang HBsAg mạn

Một số tác giả đã tìm hiểu tỷ lệ VG mạn, đã xét nghiệm lần 2 sau 6 tháng, kết quả cho thấy tỷ lệ chuyển mạn trong những người có HBsAg(+) ở nước ta rất cao và có sự chênh lệch giữa các nhóm đối tượng. Tuy nhiên, tỷ lệ người mang HBV mạn chung ở cộng đồng thì xấp xỉ như nhau

Bảng 7-5. Tỷ lệ người mang HBsAg mạn trong một số nghiên cứu ở Việt Nam.

Tác giả	HBV mạn/Tổng số HBsAg(+)	Tỷ lệ%	Tỷ lệ người mang HBV mạn trong cộng đồng	Ghi chú
Trần Thị Chính[6]	17/29	58	9,7	Sau một năm
Nguyễn Kim Nữ Hiếu[1]	31/34	91,2		RIA
Lê Vũ Anh[13]	113/148	76,4	8,7	ELISA
Châu Hữu Hầu[14]	155/176	88,1	9,7	ELISA

8.1.4. Tần suất nhiễm HBV ở những người có nguy cơ

Nhân viên y tế

Ở nước ta, nhiều công trình đã được công bố cho thấy không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa nhân viên y tế và cộng đồng chung về tỷ lệ mang HBsAg. Tuy nhiên, nhóm nhân viên y tế tại khoa nhiễm E và khoa hồi sức Trung tâm bệnh viện nhiệt đới có tỷ lệ nhiễm khá cao 26,3%.

Tiêm chích ma túy

Thường có tỷ lệ người mang HBsAg cao từ 14,8% đến 37,96%.

Người cho máu

Người cho máu trước đây khi mới bắt đầu áp dụng kỹ thuật sàng lọc có tỷ lệ nhiễm HBsAg từ 13,6% đến 18%. Hiện nay, số liệu này đã giảm xuống rất thấp do đã sàng lọc người cho máu có nghĩa là khi họ có HBsAg họ sẽ không được cho máu nữa. Bởi thế, nhóm người cho máu hiện nay về mặt lý thuyết là những người HBsAg(-). Tuy nhiên, vẫn có một tỷ lệ dù cực thấp người cho máu mang HBV do sai sót của kỹ thuật sàng lọc hoặc rơi vào giai đoạn cửa sổ khi xét nghiệm sàng lọc.

8.1.5. Tần suất ở những người có bệnh gan

Bảng 7-6. Tỷ lệ người VG virut cấp có HBsAg(+)

Tác giả	HBsAg+/Tổng số	Tỷ lệ %	Ghi chú
Nguyễn Thu Vân[29]	325/747	43,5	ELISA
Châu Hữu Hầu[14]	12/32	37,5	ELISA
Trương Xuân Liên[32]	60/143	41,9	ELISA
Trịnh Thị Ngọc	341/685	49,7	ELISA

Bảng 7-7. Tỷ lệ BN xơ gan có HBsAg(+)

Tác giả	HBsAg+/Tổng số	Tỷ lệ	Ghi chú
Nguyễn Thu Vân[29]	40/81	49,38	ELISA
Trương Xuân Liên[32]	11/23	47,8	ELISA
Lê Thị Kim Dung[34]	54/94	57,4	ELISA
Trịnh Thị Ngọc	64/73	87,6	ELISA

Bảng 7-8. Tỷ lệ BN ung thư gan nhiễm HBsAg

Tác giả	HBsAg+/Tổng số	Tỷ lệ	Ghi chú
Nguyễn Thu Vân[29]	45/78	57,6	ELISA
Trương Xuân Liên[32]	100/125	80,0	ELISA
Nguyễn Ngọc Kha[34]		70,2	ELISA

8.2. KIỂU GEN

Trong một công trình nghiên cứu hợp tác với các tác giả Nhật, Trịnh Thị Ngọc và cs đã khảo sát các phụ týp của HBV qua huyết thanh của 118 người mang HBV của Hà Nội và TP. Hồ Chí Minh. Kết quả cho thấy phụ týp có các quyết định ayw gặp cao nhất (60% các trường hợp). Sau đó là các phụ týp adr (17%) và adw (8%). Tỷ lệ còn lại rơi vào các phụ týp adyw, adwr và ay không điển hình.

Những kết quả nghiên cứu sinh học phân tử HBV đầu tiên ở nước ta cho thấy các phụ týp phân lập ở Việt Nam khá khác biệt so với các phân lập từ các quốc gia

trong khu vực. Điều này có ảnh hưởng sâu sắc đến bản đồ dịch tễ học phân tử HBV cũng như chiến lược sản xuất vacxin phòng VG B cho người Việt Nam.

8.3. TRUYỀN NHIỄM CHU SINH

Trần Thị Lợi ở TP. Hồ Chí Minh, đã nghiên cứu 35 trẻ sơ sinh có mẹ HBsAg(+) và 25 trẻ có mẹ HBsAg(-). Sau một năm theo dõi, những trẻ có mẹ HBsAg(-) đều không phát hiện HBsAg trong máu, trong khi đó, 35 trẻ có mẹ HBsAg(+) thì đến 6 tháng tuổi có 14 em HBsAg(+), chiếm tỷ lệ 40% lây truyền từ mẹ sang con nếu con không được bảo vệ. Theo tác giả, thời điểm lây truyền chủ yếu là trong và sau khi sinh. Tình trạng HBsAg(+) còn duy trì đến khi trẻ được 12 tháng và theo nghiên cứu này thì 100% trẻ sơ sinh bị nhiễm HBsAg đều trở thành người mang HBsAg mạn.

8.4. CÁC YẾU TỐ NGUY CƠ

Giới tính:

Trong công trình của Châu Hữu Hầu, nguy cơ nhiễm HBsAg ở nam cao gần gấp đôi nữ, với tỷ suất chênh là 1,7 (KTC95% từ 1,26-2,33), có ý nghĩa thống kê với $p < 0,001$. Theo Trần Minh Phụng, nam có tỷ lệ mang HBsAg là 20,96%, nữ 13,44%. Lê Quang Hồng với nam 15,92%, nữ 11,25%. Nguyễn Khắc Thọ với nam 21,3%, nữ 15%. Tuy nhiên trong nghiên cứu cộng đồng của Lê Vũ Anh tại Hà Nội thì không có sự khác biệt có ý nghĩa trong tỷ lệ mang HBsAg giữa nam và nữ với các tỷ lệ lần lượt là 12,5% và 10,13%.

Dân tộc

Trong nghiên cứu ở An Giang, Châu Hữu Hầu đã thử tìm hiểu tình trạng nhiễm HBsAg ở hai nhóm dân tộc có một số tập quán, phong tục khác nhau: cộng đồng người Chăm với tỷ lệ là 8,5% (12/141) so với cộng đồng người Việt với tỷ lệ là 12,8% (187/1461). Tuy nhiên, tỷ lệ nhiễm HBsAg giữa hai cộng đồng không khác biệt có ý nghĩa thống kê.

8.5. NHẬN XÉT CHUNG VỀ VGB Ở VIỆT NAM

Tần suất người mang HBsAg trong cộng đồng dân cư dao động từ 8% đến 25%, trung bình vào khoảng 11%, thấp ở lứa tuổi dưới 24 và trên 60. Tần suất người mang HBV mạn khoảng 9%. Như thế nước ta được xếp vào vùng dịch lưu hành cao. Dấu ấn anti-HBc(+) từ 54-75%, chứng tỏ cộng đồng đã nhiễm virut trước đây khá cao. Thế nhưng dấu ấn anti-HBs (miễn dịch bảo vệ tự nhiên) chỉ có 30-37%. Mức độ mang ít nhất một trong 3 dấu ấn của HBV khoảng 65%.

Nam thường mắc cao hơn nữ một cách có ý nghĩa thống kê. Đây là điều khiến chúng ta nên cân nhắc để tránh các sai sót có thể có khi bàn đến một tần suất nhiễm HBV trong một cộng đồng. Nếu tần suất mang HBsAg ở một cơ quan mà nữ chiếm số đông sẽ có xu hướng thấp hơn tần suất ở cơ quan có nhiều nam.

Với những điều tra hiện nay không thấy có sự khác biệt về tần suất mang giữa nhân viên y tế và cộng đồng chung, có lẽ do tần suất nền ở cộng đồng cao, đa số người nhiễm HBV từ lúc còn nhỏ, hoặc ngay từ lúc mới sinh. Để có thể tìm ra sự chênh lệch, mà theo lý thuyết là có, giữa tần suất nhiễm HBV của nhóm nhân viên y tế với cộng đồng chung, cần có các nghiên cứu tỉ mỉ hơn, trong đó nhiều dấu ấn HBV cùng được xét nghiệm trên các nhóm nhân viên y tế có nguy cơ nhiễm khác nhau, đặc biệt chú ý đến các nhóm có nguy cơ cao hơn và với số lượng được nghiên cứu đủ lớn. Những nghiên cứu này là rất cần thiết để đặt cơ sở khoa học và thực tiễn cho việc xác định nguy cơ bệnh nghề nghiệp có liên quan tới HBV.

Tỷ lệ người VG B mạn có dấu ấn HBeAg khá cao từ 18 đến 43%, tùy theo tác giả, nhưng có lẽ phụ thuộc nhiều vào xét nghiệm được dùng. Người mẹ mang HBsAg có 40% khả năng truyền HBV cho con trong giai đoạn chu sinh và nếu có thêm cả HBeAg(+) thì khả năng truyền nhiễm dọc là trên 90%.

9. TÓM TẮT

Nhiễm HBV là dịch lưu hành cao ở nhiều nước châu Á-Thái Bình Dương và góp phần đáng kể vào tỷ lệ tử vong do bệnh gan mạn tính, xơ gan và UTTBG trong các nước này. Tiêm phòng vacxin HBV cho thấy hiệu quả làm giảm tỷ lệ nhiễm HBV mạn tính và tỷ lệ tử vong UTTBG ở trẻ được tiêm chủng. Điều trị hiệu quả nhiễm HBV mạn tính làm giảm tỷ lệ nhiễm, mắc và chết do VG, xơ gan và UTTBG đã trở thành vấn đề sức khỏe cộng đồng khẩn cấp trong đa số các nước vùng Châu Á Thái Bình Dương, trong đó có Việt Nam.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. **Evans AA; London WT.** Epidemiology of hepatitis B. In Zuckerman AJ, Thomas HC, editors. Viral Hepatitis. 2nd ed. London. Churchill Livingstone; 1998: 77-105.

2. **Hadler S.C.& Margolis H.S.** Epidemiology of Hepatitis B Virus Infection. Hepatitis B Vaccines in Clinical Pratice. 1993:141-157.

3. **Shapiro CN.** Epidemiology of viral hepatitis. The amirican Association for the Study of liver Diseases. Postgraduate Course. Viral Hepatitis A to F: An Update. Nov.11-12, 1994:1-12.

4. **Robinson W.S.** Hepatitis B virus and hepatitis delta virus. Principles and practice of infectious disease. 3rd edition. Churchill Livingstone Inc. 1990, volume 1.204-1231.

5. **Woodfield G.** Viral hepatitis in South Pacific: Proceedings of the International Symposium on Viral Hepatitis and Liver Disease. Tokyo, May 10-14. 1993. Viral Hepatitis and Liver disease. 1994:387-389.

6. **Trần Thị Chính, Phan Thị Phi Phi, Trương Mộng Trang.** Một số nghiên cứu về người lành mang HBsAg. Nội Khoa, Số 2, 1993, 37-40.

7. **Phan Thị Phi Phi, Trần Thị Chính, Trương Mộng Trang**...Góp phần nghiên cứu UTTBG nguyên phát ở Việt Nam. Tần suất HBsAg trong huyết thanh người lành và người bị UTTBG. Y Học Việt Nam,1993, 1 (171), 26-30.

8. **Trần Văn Bé, Bửu Mật**. Sản xuất bộ kít ELISA dùng phát hiện kháng nguyên bề mặt (HBsAg) của VG siêu vi B tại Trung tâm truyền máu huyết học TP. HCM. Y học Việt Nam, Số 1 (176), 1994, 30-32.

9. **Trần Minh Phụng, Nguyễn Tấn Tranh, Võ Thị Mười Hai...** Bước đầu khảo sát viêm gan siêu vi B các đối tượng tự nguyện ở cơ quan xí nghiệp và nhân dân trong tỉnh Tiền Giang. Sinh hoạt khoa học bệnh lý học viêm gan, xơ gan và ung thư gan, Trung tâm Đào tạo, Bồi dưỡng cán bộ y tế TP. HCM, 1995.

10. **Hoàng Công Long.** Tỷ lệ HBsAg trong những nhóm người khác nhau ở tỉnh Lâm Đồng. Vệ sinh phòng dịch, Hội VSPD Việt Nam, tập IV, số 3 (16), phụ bản 1994, 111.

11. **Lê Khắc Thọ, Lê Văn Quân**. Tỷ lệ mang HBsAg trong nhóm người bình thường tại Bình Thuận. Vệ sinh Phòng dịch, tập IV, số 3 (16), phụ bản 1994, 11.

12. **Phùng Thị Thanh Yên, Nguyễn Thị Thuyên, Nguyễn Thị Rồi, Cao Thị Minh Nguyệt.** Tình hình nhiễm virut viêm gan B ở các nhóm nghiên cứu khác nhau tại Nha Trang, Khánh Hòa. Vệ Sinh Phòng Dịch, tập IV, số 2 (27), phụ bản, 1996, tr 36.

13. **Lê Vũ Anh**. Bước đầu đánh giá tình trạng mang và mang kéo dài virut viêm gan B trên quần thể dân cư vùng Hà Nội. Luận An PTS khoa học y dược, Hà Nội. 1995.

14. **Châu Hữu Hầu.** Nghiên cứu một số đặc điểm dịch tễ học nhiễm virut viêm gan trong cộng đồng dân cư tại huyện Tân Châu, Tỉnh An Giang. Luận An PTS khoa học y dược. Học viện Quân Y. Hà Nội. 1995.

15. **Yeoh EK; Young B**. Hepatitis B vaccination: Overview of clinical studies in the Far East. Hepatitis B Vaccines in Clinical Pratice. 1993:229-241.

16. **WHO.** Viral hepatitis. Report of a WHO scientific Group. 1973. 512: 8.

17. **Sohier R.; Lamelin J.P.; Trepo C.** Hépatites virales. Encyclopédie médico-chirurgicale . Paris 8065 F^{10}. 1991.

18. **Domingo E; Lansang MA; Ramirez B; Arguillas M; Vinculado F; Cavinta L; Montejo M.** Viral hepatitis in the Philippines: a perspective. Proceedings of the International Symposium on Viral Hepatitis and Liver Disease. Tokyo, May 10-14. 1993. Viral Hepatitis and Liver disease. 1994:400-402.

19. **Hoàng Công Long**. Kết quảđiều tra huyết thanh học virut viêm gan B tại tỉnh Lâm Đồng từ 7/1992 đến 7/1995. Vệ sinh phòng dịch, tập VI, số 2 (27), phụ bản, 19956, tr 37.

20. **Viên Chinh Chiến, Nguyễn Thị Thế Trâm, Đinh Sĩ Hiền, Phạm Ngọc Cảnh và cs.** Bước đầu nhận xét về tình trạng nhiễm virut viêm gan B ở nhân viên y tế tại một số bệnh viện. Vệ sinh phòng dịch, tập V, 4 (23), 1995, 133-137.

21. **Hadler S.C.** Hepatitis B virus infection and health care workers. International conference on prospects for eradication of hepatitis B virus. Geneva 23-24 Feb., 1989, Vaccine, Vol. 8, Sup, 1990, 24-28.

22. **Chen CC, Wang LY, Yu MW**. Epidemiology of hepatitis B virus infection in the Asia-Pacific region. J Gastroenterology and hepatology (2000), 1S9Suppl): E3-E6.

23. **Takahashi K, Brotman B, Usuda S, Mishiro S, Prince AM**. HBV: Implication for an Origin of HBV. Virology 2000, Feb 1; 267 (1): 58-64.

24. **Trần Thị Lợi.** Lây truyền virut viêm gan B từ mẹ sang con. Khả năng dự phòng. Luận Án PTS khoa học y dược. Trường DHY Dược. TP. HCM. 1995.

25. **Đỗ Trung Phấn, Vũ Thị Tường Vân, Phạm Song, Nguyễn Xuân Quang, Cao Thị Thanh Thủy**. Mối liên quan giữa HBeAg và khả năng lây truyền của virut viêm gan B (HBV) từ mẹ sang con. Y học thực hành, số 7/1996, tr 12-14.

26. **Đinh Thị Bình, Vũ Băng Đình, Nguyễn Anh Tuấn, Nguyễn Kim Nữ Hiếu**. Nhiễm virut viêm gan B (HBV) ở các bà mẹ có thai và vai trò của các dấu ấn HBV trong đường lây này. Y học thực hành, số 9/1996, tr 24-26.

27. **Nguyễn Kim Nữ Hiếu, Nguyễn Anh Tuấn**. Khảo sát biến động markers viêm gan B bằng kỹ thuật miễn dịch phóng xạ trê những người mang HBsAg mạn tính không có biểu hiện lâm sàng. Công trình nghiên cứu T học quân sự, HVQY, số 3, 1944, tr 52-55.

28. **Nguyễn Thu Vân.** Tinh khiết kháng nguyên bề mặt virut viêm gan B (HBsAg) cho việc điều chế bộ sinh phẩm micro-ELISA (thử nghiệm miễn dịch men) dùng để chẩn đoán HBsAg trong huyết thanh/huyết tương người. Luận án PTS KHYD. Hà Nội. 1991.

29. **Sherman M.** The epidemiology of hepatitis B in Canada. Http://www.hepnet.com/update.html

30. **Margolis HS.** Testimony before the US House of Representatives Committee on Government Reform subcommittee on criminal Justice, drug policy, and human resources. May 18, 1999. http://www.cdc.gov/ncidod/ disease/hepatitis/margolis.htm

31. **Lê Thị Kim Dung**. Khảo sát tỷ lệ HBsAg trên BN xơ gan. Hội nghị khoa học tiêu hóa toàn quốc lần 7 tại Cần Thơ 14-15/6/2001, tr 70-75.

32. **Nguyễn Ngọc Kha**. Tình hình mang HBsAg ở BN ung thư gan nguyên phát điều trị tại bệnh viện 175. Hội nghị khoa học tiêu hóa toàn quốc lần 7 tại Cần Thơ 14-15/6/2001, tr 82.

33. **Lê Quang Hồng, Nguyễn Thị Huyền, Nguyễn Thị Viễn và cs**. Những số liệu bước đầu trong công tác điều tra những người có yếu tố nguy cơ cao đối với ung thư gan trong ngành Bưu Điện. Y học Việt Nam, 1 (171), 1993, tr 20-25.

34. **Robert' HBV page.** The Hepatitis B genome. http://www.globalserve.net/~harlequin/HBV/genome.htm.

35. **Trịnh Thị Ngọc**. Tình trạng nhiễm các virut viêm gan A, B, C, D, E ở các BN viêm gan virut tại một số tỉnh phía Bắc. Luận án Tiến sĩ y học. Hà Nội, 2001.

36. **Trịnh Thị Ngọc, Phạm Song, Đào Đình Đức, Nataka Susumu và cs**. Nhiễm trùng do viêm gan virut B và C trong nhóm dân chúng có nguy cơ thấp và cao ở TP. Hồ Chí Minh và Hà Nội. Báo cáo đế tài KY-01-09: "Nghiên cứu các biện pháp giám sát và dự phòng viêm gan virut ở Việt Nam" (Chủ nhiệm GS. Phạm Song). Hà Nội, 1995, tr 50-59.

37. **Lã thị Nhẫn.** Nghiên cứu nhiễm virut viêm gan B và virus viêm gan C trên một số nhóm người ở miền Nam Việt Nam để góp phần ùm nguồn cho máu. Luận án PTS khoa học y dược. Trường ĐHY Hà Nội. 1995.

38. **Trương Xuân Liên.** Tình hình nhiễm virut viêm gan C tại TP Hồ Chí Minh. Luận án PTSKHYD, Hà Nội, 1994.

Chương 8

CÁC KHÍA CẠNH ĐÁP ỨNG MIỄN DỊCH TRONG NHIỄM HBV

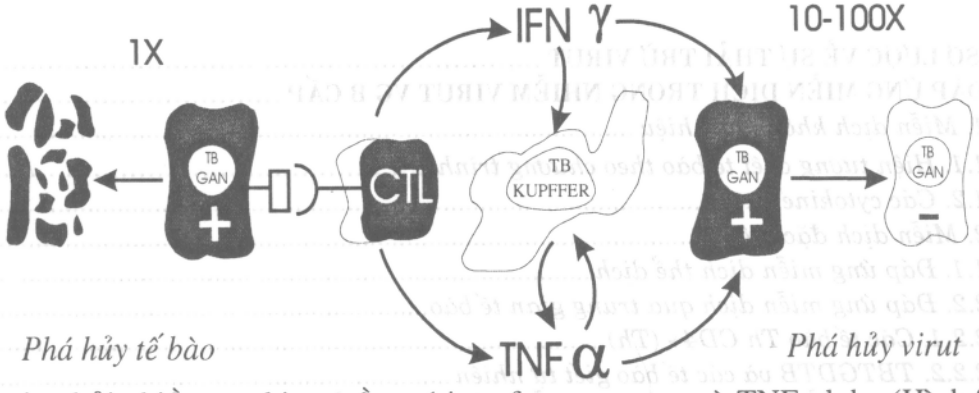
Trang

1. SƠ LƯỢC VỀ SỰ THẢI TRỪ VIRUT *199*
2. ĐÁP ỨNG MIỄN DỊCH TRONG NHIỄM VIRUT VG B CẤP *201*
2.1. Miễn dịch không đặc hiệu *201*
2.1.1. Hiện tượng chết tế bào theo chương trình *201*
2.1.2. Các cytokine *202*
2.2. Miễn dịch đặc hiệu *202*
2.1.1. Đáp ứng miễn dịch thể dịch *202*
2.2.2. Đáp ứng miễn dịch qua trung gian tế bào *203*
2.2.2.1. Các tế bào Th CD4+ (Th) *203*
2.2.2.2. TBTGDTB và các tế bào giết tự nhiên *206*
3. ĐÁP ỨNG MIỄN DỊCH TRONG NHIỄM HBV MẠN TỒN TẠI *208*
3.1. Các yếu tố virus *208*
3.1.1. Cảm ứng của dung nạp *208*
3.1.2.Sự trốn tránh đáp ứng miễn dịch bằng ức chế sự phân giải TBTGĐTB của các tế bào gan nhiễm virut *209*
3.1.3. Tạo ra các chủng HBV có độc lực cao như HBe(-) của HBV *209*
3.1.4. Sự hoà nhập HBV *211*
3.1.5. Các yếu tố khác *211*
3.2. Các yếu tố ký chủ *212*
3.2.1. Tính mẫn cảm di truyền *212*
3.2.2. Sự sản xuất thiếu hụt của interferon *212*
3.2.3. Đáp ứng thiếu hụt đối với interferon *213*
3.2.4. Kháng thể đối với các kháng nguyên nucleocapsit *213*
3.2.5. Các bất thường của chức năng tế bào lympho *214*
3.2.6. Các yếu tố huyết thanh *215*
3.2.7. Đáp ứng kháng kiểu gen cá thể (iditype) *215*
3.2.8. Các yếu tố giới tính và kích tố *215*
3.2.9. Các yếu tố khác *216*
4. TÓM TẮT *216*
TÀI LIỆU THAM KHẢO *217*

1. SƠ LƯỢC VỀ SỰ THẢI TRỪ VIRUT

Gần đây các thí nghiệm trên chuột chuyển gen đã chứng minh lympho T gây độc tế bào (TBTGĐTB) không thải trừ virut bằng cách giết tất cả các tế bào gan nhiễm virut. Đáng chú ý là các quan sát dùng chuột con chuyển gen chứa bộ gen HBV nguyên vẹn và do đó không chỉ sản xuất các sản phẩm gen virut mà còn sản xuất các virion tiết vào huyết thanh. Tuy nhiên, các con chuột này dung nạp tất cả các

kháng nguyên virut và không chứng tỏ có bệnh lý ở gan hoặc ở các cơ quan khác. Nhưng khi truyền thụ động TBTGĐTB đặc hiệu kháng nguyên bề mặt HBV sẽ gây VG cấp, nhưng là VG tự giới hạn. Ngay sau khi truyền TBTGĐTB và kéo dài nhiều tuần sau (tuy không phải thường xuyên như thế), các sản phẩm phiên mã HBV không còn phát hiện trong gan nữa, các sản phẩm gen HBV biến mất khỏi các tế bào gan và huyết thanh. Các tác dụng này xảy ra ở mức độ sau phiên mã và được



trung gian bởi nhiều cytokine, gồm có interferon gamma và TNF-alpha (Hình 8-1).

Hình 8-1. *Mô hình thải trừ HBV khỏi tế bào gan nhiễm virut.*

TBTGĐTB nhận biết kháng nguyên virut biểu hiện trên tế bào gan, trực tiếp phá hủy một phần nhỏ (1X) tế bào gan nhiễm virut. Tuy nhiên, sự phóng thích các cytokine như interferon-γ và TNF-α, với sự khuếch đại tín hiệu bởi tế bào Kupffer, phá hủy HBV phần lớn (10-100X) mà không gây độc tế bào. Do lượng TBTGĐTB đặc hiệu cho HBV chỉ có khoảng 10^8, không đủ để loại trừ virut vì trong VG B thường toàn bộ tế bào gan bị nhiễm (khoảng 10^{11} tế bào), tỉ số TBTGĐTB/tế bào gan bị nhiễm là 1/1000.

Bởi thế, ở người nhiễm virut, đáp ứng miễn dịch ký chủ có khả năng thải trừ HBV ở các tế bào gan ký chủ nhiễm virut mà không phá hủy chúng. Các kết quả này giải thích tại sao sóc đất nhiễm virut thực nghiệm có thể thải trừ virut và vẫn sống, dù nhiễm virut toàn bộ các tế bào gan. Một hiện tượng tương tự cũng xảy ra ở người. Đây có thể là một cơ chế bảo vệ quan trọng cho ký chủ, giúp BN nhiễm HBV tránh khỏi tình trạng VG kịch phát trong đa số trường hợp. Mặt khác, một đáp ứng miễn dịch chỉ hiệu quả một phần có thể không thải trừ hoàn toàn virut, nhưng cũng giảm biểu hiện kháng nguyên virut làm giảm tạm thời đáp ứng miễn dịch. Khi đáp ứng miễn dịch suy giảm, các bộ gen virut còn lại có thể hồi phục tình trạng nhiễm virut hoạt động và lại gợi ra ký ức đáp ứng miễn dịch. Hiệu quả này có thể cho phép virut tồn tại và có thể giải thích các chu kỳ hoạt động xen giữa các thời kỳ im lặng gặp ở nhiều người VG B mạn.

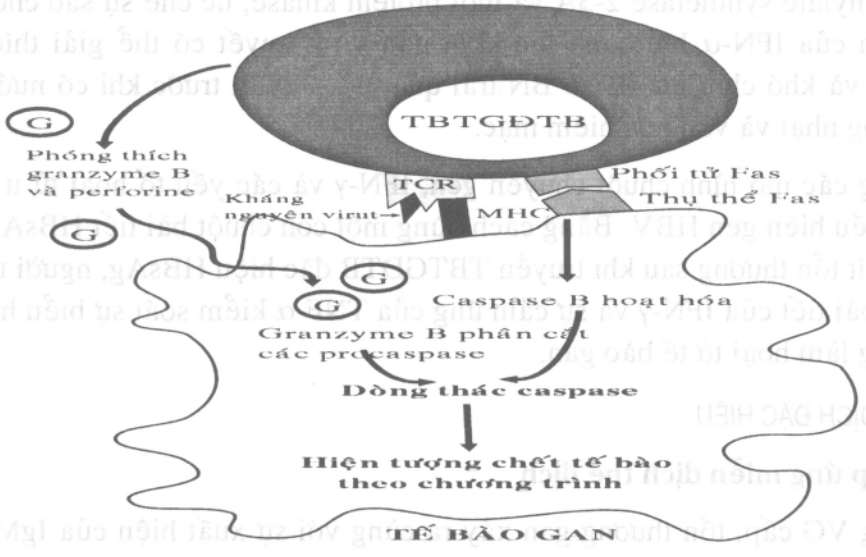
Khả năng của cytokine làm ngưng biểu hiện và sao chép gen HBV làm tăng hi vọng các chất này có thể dùng trong tương lai để chữa lành nhiễm HBV mạn mà không gây ra tổn thương gan nghiêm trọng.

2. ĐÁP ỨNG MIỄN DỊCH TRONG NHIỄM VIRUT VG B CẤP

Nhiều tác giả đã chứng minh bản thân HBV không trực tiếp gây bệnh tế bào với hai bằng chứng: sự tồn tại của một tình trạng virut huyết trong giai đoạn tiền triệu của nhiễm virut cấp và các người mang HBsAg mạn có sao chép HBV cao mà không có tổn thương gan[1,2]. Kết luận này đã được xác định qua các nghiên cứu trong các tế bào nuôi cấy được chuyển nhiễm và trong động vật thực nghiệm. Sự hồi phục sau nhiễm HBV tùy thuộc vào hoạt tính hòa nhập của các hệ miễn dịch tế bào và thể dịch và mạng lưới cytokin của BN. Trong nhiễm virut cấp, sự cảm ứng của nhánh tế bào miễn dịch có thể nhận biết và phá hủy tế bào gan nhiễm HBV. Đáp ứng thể dịch (kháng thể) đối với các biểu vị trên vỏ ngoài lipit-protein virut, được cho là có trách nhiệm miễn dịch bảo vệ chống lại tái nhiễm. Nhiều loại tế bào tham dự vào đáp ứng miễn dịch trong nhiễm HBV cấp.

2.1. MIỄN DỊCH KHÔNG ĐẶC HIỆU

2.1.1. Hiện tượng chết tế bào theo chương trình



Hình 8-2. Cơ chế của hiện tượng chết tế bào theo chương trình. G, granzyme; TCR, thụ thể của TBTGĐTB; MHC, PHPHTCC.

Khi HBV xâm nhập cơ thể qua hàng rào đầu tiên là da và niêm mạc, virut lại gặp hàng rào hóa học của máu và dịch gian bào như lysozyme, protein C, các thành phần của bổ thể, interferon... Sau đó là các tế bào có nhiệm vụ thực bào tế bào nhiễm virut. Hiện tượng chết tế bào theo chương trình là cơ chế sinh lý bình thường

của cơ thể giúp thay thế và tái tạo tế bào. Khi các tế bào gan già đi hoặc có bất thường sẽ khởi phát tín hiệu gây chết tế bào theo chương trình. Các tế bào chết sẽ bị tế bào Kupffer thực bào và thay bằng các tế bào mới. Các tế bào gan nhiễm HBV sẽ trở nên bất thường và chết theo chương trình. Tuy nhiên, HBV có thể tiết ra các protein để kháng lại hiện tượng chết tế bào hàng loạt này để tiếp tục sao chép và trở thành mạn tính.

Hiện tượng chết tế bào theo chương trình được thực hiện do các TBTGĐTB. Khi thụ thể của TBTGĐTB nhận diện được các kháng nguyên virut trình diện trên phức hợp phù hợp tổ chức chính (PHPHTCC) sẽ làm phối tử Fas trên bề mặt TBTGĐTB gắn kết với thụ thể Fas trên bề mặt tế bào gan. Sau khi gắn kết, các TBTGĐTB phóng thích các chất gây độc tế bào có chứa granzyme và perferorine. Perforine tạo các lỗ nhỏ trên bề mặt tế bào gan giúp granzyme xâm nhập tế bào để hoạt hóa liên tiếp hệ thống men caspase khởi phát hiện tượng chết tế bào hàng loạt.

2.1.2. Các cytokine

Các tế bào nhiễm virut tiết IFN-α, tác động qua các thụ thể bề mặt tế bào gây nên một số đáp ứng kháng virut. IFN làm tăng sự biểu hiện của các phân tử PHPHTCC lớp I, phơi nhiễm kháng nguyên virut đối với hệ miễn dịch qua các thụ thể tế bào T trên $CD8^+$TBTGĐTB. Cũng thế, IFN gây biểu hiện các protein như oligo adenylate synthetase 2-5A và một protein kinase, ức chế sự sao chép virut. Sự hiện diện của IFN-α lưu hành lúc khởi đầu virut huyết có thể giải thích cho tình trạng sốt và khó chịu mà đa số BN trải qua từ 2-3 tuần trước khi có nước tiểu đen, phân trắng nhạt và vàng da niêm mạc.

Trong các mô hình chuột chuyển gen, IFN-γ và các yếu tố hoại tử u α (TNF-α) ức chế biểu hiện gen HBV. Bằng cách dùng một con chuột bài tiết HBsAg từ gan và chịu một ít tổn thương sau khi truyền TBTGĐTB đặc hiệu HBsAg, người ta đã chứng minh sự bài tiết của IFN-γ và sự cảm ứng của TNF-α kiểm soát sự biểu hiện HBsAg mà không làm hoại tử tế bào gan.

2.2. MIỄN DỊCH ĐẶC HIỆU

2.2.1. Đáp ứng miễn dịch thể dịch

Trong VG cấp, tổn thương gan xảy ra cùng với sự xuất hiện của IgM anti-HBc, gợi ý là VG liên quan với nhiễm HBV do sự phân giải miễn dịch của tế bào gan nhiễm virut, một giai đoạn ít cần thiết cho quá trình hồi phục. Sự giải thích hiện nay cho là do đáp ứng tế bào hơn là đáp ứng thể dịch trong sự phân giải tế bào gan nhiễm virut. Tuy nhiên, sự phân giải qua trung gian kháng thể vẫn chưa thể loại trừ. Phù hợp với vai trò miễn dịch dịch thể tác động qua hoạt hóa bổ thể được minh chứng do biến dưỡng C1q và C3 tăng lên trong HBV cấp.

Các kháng thể trung hòa virut được điều đến các biểu vị trên vỏ ngoài của virut. Các số liệu gần đây cho thấy vùng aa 21-47 thuộc vùng tiền S1 của protein lớn, không có trong các protein trung bình và nhỏ, là vùng ưa nước bị myristil hóa, khả năng gắn kết vào màng của tế bào gan và có lẽ liên quan đến sự hấp phụ virut.

Các kháng thể tìm thấy trong huyết thanh thời kỳ dưỡng bệnh chủ yếu gắn vào các biểu vị của vùng mã hóa gen HBs, vùng đầu tận cùng có nhóm carboxy hiện diện trong tất cả protein vỏ ngoài. Một vùng ưa nước của polypeptit này, aa 124-147, tạo hai vòng xuyên qua các cầu nối disulfua nội phân tử và đây là vùng gắn kết cho đa số (hơn 80%) dung lượng gắn kết kháng nguyên của huyết thanh thời kỳ dưỡng bệnh. Dùng các kháng thể đơn clon gắn vào vùng aa 124-137 sẽ ngăn ngừa nhiễm virut ở hắc tinh tinh. Các kháng thể đối với vùng này, cũng như đối với các biểu vị khác trên polypeptit mã hoá gen S, hiện diện trong huyết thanh của BN hồi phục sau nhiễm HBV và trong những người bình thường được tiêm chủng với vacxin HBs có nguồn gốc từ huyết tương và vacxin sản xuất từ DNA tái tổ hợp.

BN hồi phục sau nhiễm HBV hoặc sau tiêm chủng được bảo vệ khỏi các nhiễm virut. Hiện còn nhiều tranh luận về tầm quan trọng của các kháng thể đối với các polypeptit mang pre-S2 và pre-S1 trung bình và nhỏ. Trong nhiễm virut tự nhiên, các kháng thể đối với pre-S1 và pre-S2 xuất hiện trước kháng thể đối với vùng HBs. Nếu vùng pre-S1 được cho là quan trọng trong việc gắn kết HBV vào các tế bào gan, các kháng thể đối với vùng này sẽ trung hòa virut và qua đó, sự hiện diện của chúng có thể quan trọng trong việc ngăn chặn HBV vào trong các tế bào gan không nhiễm. Vì thế, trở ngại trong sản xuất kháng thể kháng vỏ ngoài có thể dẫn đến nhiễm HBV kéo dài, như trường hợp BN không có γ-globulin huyết, là những người thường phát triển nhiễm HBV mạn sau khi phơi nhiễm.

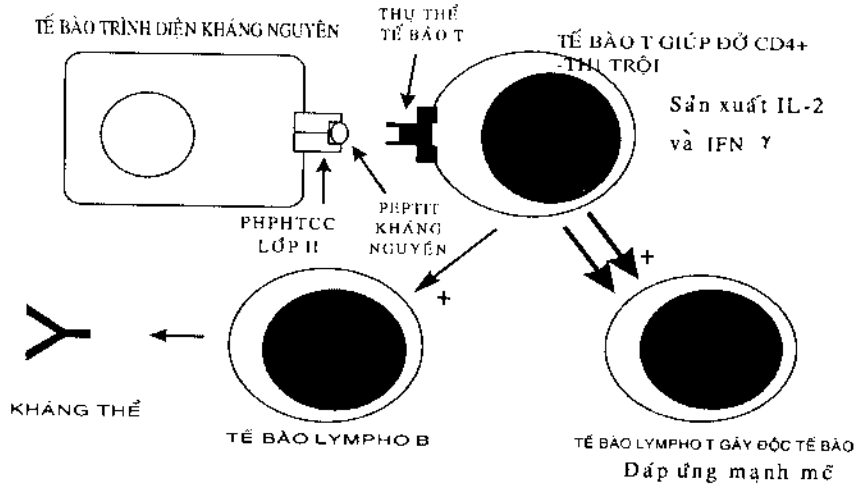
Khả năng của cytokine làm ngưng biểu hiện và sao chép gen HBV làm tăng hi vọng các chất này có thể dùng trong tương lai để chữa lành nhiễm HBV mạn mà không gây ra tổn thương gan nghiêm trọng[2].

2.2.2. Đáp ứng miễn dịch qua trung gian tế bào

2.2.2.1. Các tế bào Th CD4+ (Th)

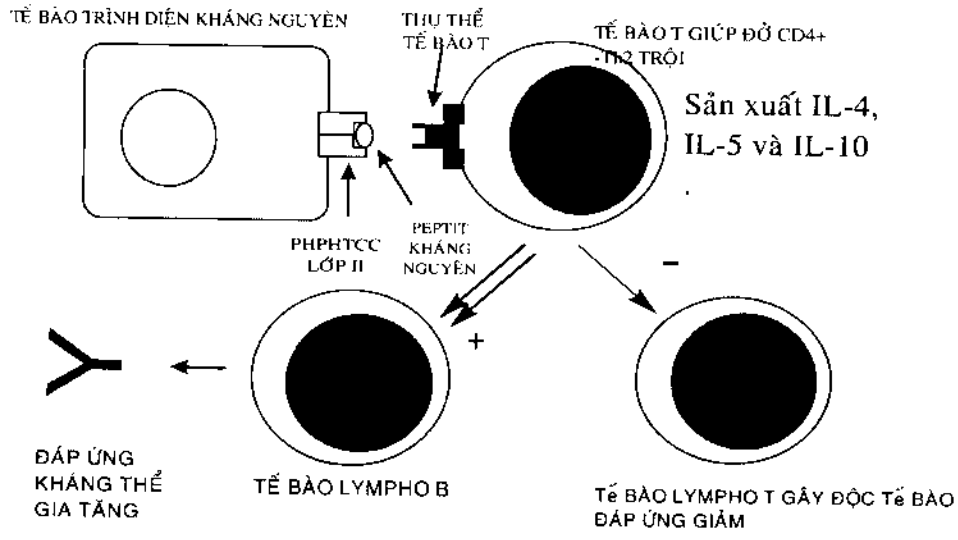
Các kháng nguyên tan trong nước bị bắt giữ bởi các tế bào trình diện kháng nguyên (APC). Các kháng nguyên bị tiêu hóa thành các mảnh peptit có chiều dài từ 10 đến 20 aa, và các mảnh này gắn vào glycoprotein phức hợp phù hợp tổ chức chính (PHPHTCC) lớp II nằm trong thể thực bào hoặc thể nhân với nhiều ái lực khác nhau. Các phức hợp peptit/PHPHTCC được chuyển lên bề mặt tế bào nơi chúng có thể tương tác với các thụ thể tế bào T của Th. Tương tác này được gắn kết với các phân tử đồng kích thích như B7 và ICAM-1 với các phối tử tương ứng của

chúng, sau đó các tế bào CD4 sẽ được mẫn cảm sơ bộ và tăng sinh. Nếu không có các tín hiệu đồng kích thích, tế bào Th có thể được cho là vô ứng (Hình 8-2, 8-3, 8-4)



Hình 8-3. *Các sản phẩm PHPHTCC lớp II và các đáp ứng tế bào T trong VG B cấp.*

Trong VG cấp, hiệu quả của sự trình diện kháng nguyên được xác định bằng ái lực của peptit lõi HBV đối với các protein PHPHTCC lớp II của BN. Đáp ứng CD4 ưu thế là các tế bào Th1 sản xuất IL2 và IFN-γ và gây ra một đáp ứng TBTGĐTB mạnh mẽ.



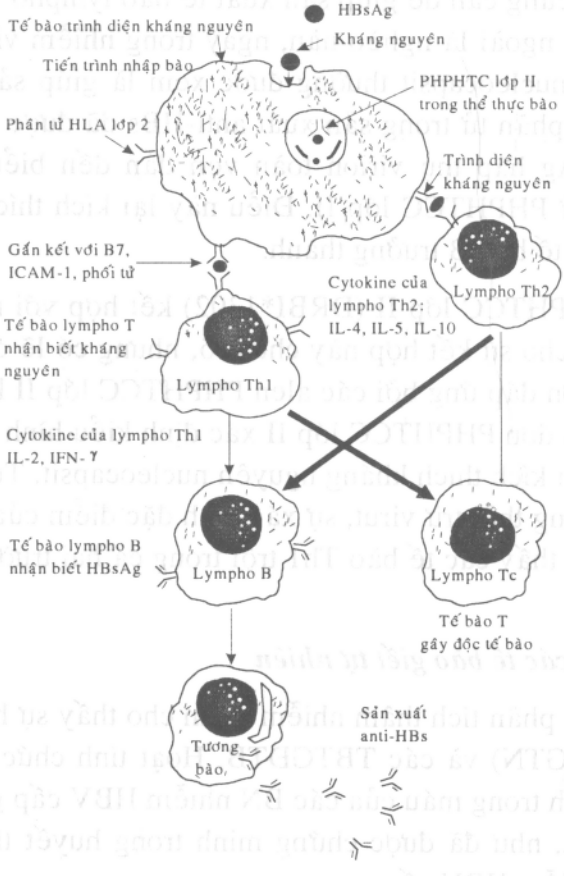
Hình 8-4. *Các sản phẩm PHPHTCC lớp II và các đáp ứng tế bào T trong VG B cấp.*

Sự trình diện kháng nguyên gây cảm ứng của các tế bào đáp ứng trội Th2 sản xuất IL-4, IL-5, và IL-10 và các đáp ứng thể dịch mạnh mẽ.

Các tế bào Th được xếp loại trên cơ sở của các cytokine mà chúng tiết ra sau khi có kích thích. Các tế bào Th1 tiết IL2 và interferon γ, gây hoạt hóa và tăng sinh của các TBTGĐTB. Các tế bào Th2 tiết IL4, IL5 và IL10 giúp đỡ các tế bào sản xuất kháng thể và ức chế cảm ứng TBTGĐTB.

Trong nhiễm HBV cấp, có đáp ứng Th giới hạn PHPHTCC lớp II mạnh mẽ đối với các kháng nguyên nucleocapsit của HBV. Ngược lại, các đáp ứng Th đối với kháng nguyên vỏ ngoài HBsAg trên thực tế không phát hiện được. Các đáp ứng của tế bào Th đối với các protein X và polymerase không được ghi nhận đầy đủ.

Các tế bào lympho Th nhận biết một số các biểu vị peptit ở các kháng nguyên nucleocapsit. Các chuỗi mã aa giữa các vị trí 1 và 20, 50 và 69 có thể được nhận biết bởi đa số những người nhiễm HBV, bất kể kiểu PHPHTCC lớp II nào.



Hình 8-5. *Đáp ứng miễn dịch do sự xâm nhập của virut VG B.*

Cơ chế đáp ứng tế bào Th gây thải trừ virut chưa được ghi nhận đầy đủ. Tuy nhiên, cơ chế này có thể được suy ra do giống nhau với các hệ miễn dịch khác. Các đáp ứng TBTGĐTB tùy thuộc vào đáp ứng Th qua sự bài tiết cytokine. TBTGĐTB được kích thích bởi các cytokine được Th1 bài tiết, đặc biệt là IL2 và IFN-γ. Trong

nhiễm HBV cấp, các đáp ứng TBTGĐTB khá mạnh, đa clon và phối hợp với các đáp ứng Th1, trong khi nhiễm virut mạn tính, TBTGĐTB gần như không phát hiện được.

Kháng nguyên virut bị bắt giữ và bị tiêu hóa thành các mảnh peptid bởi các tế bào trình diện kháng nguyên (tế bào gan..). Các mảnh peptid này gắn vào glycoprotein PHPHTCC lớp II ở trong thể thực bào và được chuyển lên bề mặt tế bào để có thể tương tác với thụ thể của tế bào Th cùng với các phân tử đồng kích thích như B7, ICAM-1 và các phối tử của chúng. Sau đó các tế bào CD4 được mẫn cảm và tăng sinh. Tế bào Th1 tiết ra cytokin IL-2 và IFN-γ có tác dụng mạnh lên TBTGĐTB, nhưng tác dụng kém lên tế bào lympho B. Ngược lại, tế bào Th2 tiết ra IL-4, Il-5, Il-10 lại tác động mạnh lên tế bào lympho B sản xuất các kháng thể, nhưng lại tác động kém lên TBTGĐTB.

Các đáp ứng Th cũng cần để giúp sản xuất tế bào lympho T của anti-HBs. Khi đáp ứng Th đối với vỏ ngoài là nghèo nàn, ngay trong nhiễm virut cấp tự giới hạn, đáp ứng Th đặc hiệu nucleocapsit thường được xem là giúp sản xuất anti-HBs. Ở chuột, sự giúp đỡ liên phân tử trong sản xuất anti-HBs đã được chứng minh. Các tế bào B đặc hiệu HBsAg hấp thụ virion toàn vẹn dẫn đến biểu hiện nucleocapsit peptit trên các phân tử PHPHTCC lớp II. Điều này lại kích thích các tế bào T đặc hiệu nucleocapsit giúp tế bào B trưởng thành.

Một vài alen PHPHTCC lớp II (DRBI*1302) kết hợp với nhiễm virut cấp sau khi hồi phục. Cơ chế cho sự kết hợp này chưa rõ, nhưng có lẽ đáp ứng Th gây nên bởi DRBI*1302 cao hơn đáp ứng bởi các alen PHPHTCC lớp II khác. Thử nghiệm ở chuột đã cho thấy kiểu đơn PHPHTCC lớp II xác định kiểu hình Th1/Th2 của các tế bào Th đáp ứng đối với kích thích kháng nguyên nucleocapsit. Tuy một đáp ứng Th1 trội được cho là làm tăng thải trừ virut, sự xác định đặc điểm của các tế bào lympho từ các mẫu gan đã cho thấy các tế bào Th1 trội trong cả hai trường hợp nhiễm HBV cấp và mạn tính.

2.2.2.2. TBTGĐTB và các tế bào giết tự nhiên

Ở các BN VG cấp, phân tích thâm nhiễm viêm cho thấy sự hiện diện của các tế bào giết tự nhiên (TBGTN) và các TBTGĐTB. Hoạt tính chức năng TBGTN tăng lên đã được chứng minh trong máu của các BN nhiễm HBV cấp giai đoạn sớm và có lẽ cảm ứng bởi IFN-α, như đã được chứng minh trong huyết thanh giai đoạn tiền triệu ở hắc tinh tinh nhiễm HBV cấp.

Các kháng nguyên virut hiện diện trên bề mặt của tế bào gan, có lẽ các kháng nguyên này và peptit virut kết hợp với glycoprotein PHPHTCC lớp I làm tế bào thành mục tiêu cho sự phân giải TBTGĐTB và kháng thể. Thường các tế bào gan lành mạnh biểu hiện rất ít glycoprotein PHPHTCC lớp I nhưng trong giai đoạn ban

đầu của nhiễm HBV cấp, sau khi sản xuất IFN-α, biểu hiện PHPHTCC trên tế bào gan tăng lên cùng với sự gia tăng ALT được cho là do phân giải tế bào gan.

Nghiên cứu đáp ứng TBTGĐTB đối với HBV trong nhiễm HBV cấp và mạn tính đã bị hạn chế vì HBV không thể tăng trưởng trong môi trường nuôi cấy. Các thí nghiệm ban đầu dùng các tế bào gan tự thân như các đích TBTGĐTB gợi ý là TBTGĐTB hiện diện trong cả nhiễm virut cấp và mạn tính, là PHPHTCC lớp I bị hạn chế và đặc hiệu cho HBcAg. Tuy nhiên tính đặc hiệu của các đáp ứng này được xác định bằng ức chế các đáp ứng bởi các kháng thể anti-HBc và anti-HBe. Sự hiểu biết hiện nay về các tương tác giữa peptit PHPHTCC và thụ thể tế bào T (TCR) cho thấy một kháng thể đặc hiệu kháng nguyên khó mà ức chế các đáp ứng TBTGĐTB đối với cùng kháng nguyên. Khi HBeAg được biểu lộ trên màng tế bào, có thể là các kháng thể anti-HBc và anti-HBe ức chế các tương tác PHPHTCC/TCR. Bởi thế, tuy các quan sát sự hiện diện của TBTGĐTB có thể chính xác, không có kết luận nào có thể được phác họa về tính đặc hiệu của kháng nguyên trong các thử nghiệm này.

Các kỹ thuật mới gần đây được coi là các kỹ thuật dùng để nghiên cứu đáp ứng TBTGĐTB. Các đích tế bào lympho đẩy peptit có thể được dùng xác định sự hiện diện và tính đặc hiệu của TBTGĐTB, được tái kích thích *in vitro* trong độ 3 tuần. Trở ngại chính của các thử nghiệm này là không có bằng chứng rõ ràng về các peptit gây ra một đáp ứng *in vitro,* là các peptit biểu hiện trong các đường nứt lớp I *in vivo*. Vấn đề này một phần được nhắm vào qua cách dùng các tế bào đích đã được chuyển nhiễm với plasmid biểu hiện các kháng nguyên HBV. Tuy nhiên, các peptit có nguồn gốc từ HBV có thể được nạp vào đường nứt PHPHTCC lớp I qua cơ chế tự nhiên.

Dùng các đích đẩy peptit, Chisari và Ferrari đã chứng minh trong nhiễm HBV cấp, đáp ứng TBTGĐTB là đa clon và đa đặc hiệu. Trong nhiễm HBV mạn, đáp ứng TBTGĐTB yếu và có một kho thụ thể dành cho kháng nguyên hạn chế. Ngược lại với các phát hiện ở các thực nghiệm được mô tả trước đây, biểu vị TBTGĐTB thường gặp tương đối nhiều trong HBsAg và các kháng nguyên polymerase hơn trong HBcAg. Sự giải thích cho hiện tượng này chưa đầy đủ, nhưng có 2 khả năng đã được đưa ra:

- HBsAg ngoại sinh, có một lượng thừa lớn trong nhiễm HBV, gây các đáp ứng TBTGĐTB hạn chế PHPHTCC lớp I qua một lộ trình chưa rõ.

- HBsAg và HBV polymerase có một tỉ lệ lớn các vùng kỵ nước giàu khả năng gắn kết PHPHTCC lớp I.

HBV được biết nhiều như tình trạng nhiễm virut không gây bệnh tế bào mà trong đó các tổn thương tế bào gan lại là hậu quả của đáp ứng miễn dịch. Giả thuyết này được củng cố bằng các sự kiện như:

• Các BN có mức sao chép virut cao thường có các bệnh gan tối thiểu.

• Bệnh gan nặng xảy ra ở các BN có tình trạng sao chép virut không phát hiện được và có các đáp ứng tế bào T mạnh đối với kháng nguyên HBV.

Các thí nghiệm với chuột chuyển gen cho thấy không có các biểu hiện của các kháng nguyên HBV cũng như các quá trình sao chép nào gây bệnh tế bào một cách trực tiếp.

Ngoại lệ xảy ra ở một chủng chuột biểu hiện quá mức HBsAg. Các tế bào gan trong chủng này khá nhạy với nồng độ sinh lý của IFN-γ và cuối cùng không thể bài tiết HBsAg dẫn đến hoại tử tế bào. Vai trò của đáp ứng miễn dịch đối với các kháng nguyên mã hóa HBV trong bệnh sinh của tổn thương tế bào gan chưa được xác định vì không có động vật thực nghiệm thích hợp. Chuột chuyển gen vỏ ngoài HBV được dùng để chứng minh các kháng nguyên mã hóa vỏ ngoài biểu hiện ở bề mặt tế bào gan dưới dạng được nhận biết bởi TBTGĐTB CD8+, giới hạn PHPHTCC lớp I đặc hiệu đối với biểu vị tế bào T trội bên trong polypeptit vỏ ngoài lớn và bởi các kháng thể đặc hiệu vỏ ngoài. Cả hai tương tác dẫn đến hiện tượng chết tế bào gan in vivo, cho thấy bằng chứng trực tiếp tổn thương tế bào gan nhiễm HBV là do trung gian miễn dịch. Tăng liều lượng của TBTGĐTB làm tăng mức độ trầm trọng của VG cho đến khi bệnh cảnh điển hình của nhiễm HBV kịch phát xảy ra.

3. ĐÁP ỨNG MIỄN DỊCH TRONG NHIỄM HBV MẠN TỒN TẠI

Nhiều nghiên cứu cho thấy tỷ lệ người mang HBV mạn cao hơn hẳn người nhiễm virut có VG cấp có thể liên quan nhiều đến yếu tố đặc hiệu virut và yếu tố ký chủ.

3.1. CÁC YẾU TỐ VIRUS

3.1.1. Cảm ứng của dung nạp

HBeAg có thể giữ một vai trò quan trọng trong sự phát triển nhiễm VG B mạn ở các trẻ sinh ra từ các bà mẹ HBeAg(+). Đa số các trẻ sinh ra từ một người mẹ HBeAg(+) trở nên nhiễm HBV và khoảng 90% trong số này phát triển tình trạng mang mạn tính. Người ta đã chứng minh là HBeAg đi qua nhau thai, một nghiên cứu gần đây (dùng mô hình chuột chuyển gen) đã chứng minh phơi nhiễm trong tử cung với HBeAg gây dung nạp tế bào T của chuột sơ sinh đối với HBeAg và HBcAg trong thế hệ con không chuyển gen của chuột cái chuyển gen biểu hiện HBeAg. Sự dung nạp miễn dịch có thể giữ vai trò quan trọng trong sự phát triển tình trạng mang mạn tính ở trẻ sơ sinh.

HBeAg bằng một số cách nào đó đã làm giảm đáp ứng TBTGĐTB đối với tế bào gan nhiễm virut (có lẽ qua cảm ứng dung nạp miễn dịch đối với các peptit có nguồn gốc từ nucleocapsit) và vì thế giảm mức độ VG, giảm nhẹ nguy cơ chết của

vật chủ và loại trừ virut (cả hai đều bất lợi đối với virut). Một vật chủ khỏe mạnh nhiễm virut tồn tại có nhiều khả năng lan truyền virut cho các cá thể khác hơn là một vật chủ bệnh hoạn với bệnh gan nặng. Khi dung nạp đối với nucleocapsit bị mất đi, như lúc chuyển huyết thanh từ HBeAg thành anti-HBe, tình trạng viêm và tổn thương gan tăng lên cho đến khi virut bị thải loại.

Ngoài việc bài tiết các protein nucleocapsit hòa tan vào huyết thanh, virut cũng bài tiết các HBsAg dư thừa vào máu. Các HBsAg dư thừa này có thể được thấy trong huyết thanh qua kính hiển vi điện tử là các hạt cỡ 22 nm. Các hạt này có thể có ích lợi sinh học cho virut, như chúng sẽ "làm trệch hướng" kháng thể của HBsAg (anti-HBs) khỏi các hạt virut toàn vẹn và vì thế giảm cơ hội trung hòa virut bằng các kháng thể này. Các nghiên cứu gần đây đã chứng minh ở chuột dùng một lượng lớn anti-HBs đơn dòng có thể vượt qua tác dụng làm trệch hướng kháng thể của các hạt HBsAg và có thể làm ngừng sao chép HBV ở các người mang HBV mạn không có γ-globulin máu, do làm ngừng nhiễm virut vào tế bào gan đang tái sinh bằng cách trung hòa virut trong khoảng gian bào.

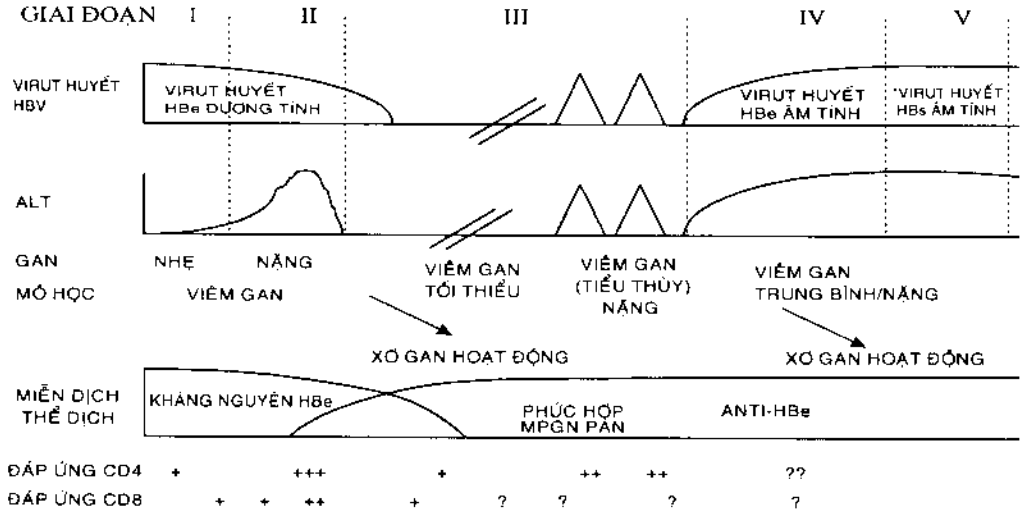
3.1.2. Sự trốn tránh đáp ứng miễn dịch bằng ức chế sự phân giải TBTGĐTB của các tế bào gan nhiễm virut

Khi nhân đôi, hepadnavirut có tính đột biến khá cao do sai sót của men sao chép ngược. Hiện tượng đột biến có thể xảy ra ở vị trí liên kết với kháng thể trung hòa, hoặc trên kháng nguyên bề mặt, hoặc ở các peptit được nhận diện bởi các TBTGĐTB. Cơ chế của sự sao chép HBV liên quan tới một men phiên mã ngược, dẫn đến tính không đồng nhất di truyền, tạo nên các á chủng, mà theo lý thuyết không còn được nhận diện bởi Th, TBTGĐTB, hoặc kháng thể. Hai BN HLA-A2 đã được mô tả trong đó một biểu vị HLA-A2 trong HBcAg (aa18-27) chứa các thay thế aa không gây ra đáp ứng TBTGĐTB thường gặp. Điều này xác định đột biến thoát TBTGĐTB về mặt lý thuyết, nhưng tầm quan trọng của phát hiện này khó cân nhắc khi đáp ứng TBTGĐTB lại có tính đa đặc hiệu. Có lẽ trong khung cảnh đáp ứng TBTGĐTB yếu và giới hạn, được thấy trong nhiễm HBV mạn, là cơ chế của hậu quả sinh học. Vài biểu vị TBTGĐTB đã được ghi nhận đối với HBV xuất hiện từ các vùng bảo tồn cao của virut, có các vai trò quan trọng trong sao chép virut. Thí dụ biểu vị hạn chế HLA-Aw68/A31 tại vị trí aa 141 đến 151 của HBcAg ở một định vị nhân và một điểm tạo vỏ của bộ gen.

3.1.3. Tạo ra các chủng HBV có độc lực cao như biến dị HBe(-) của HBV

Một đột biến ở vùng precore của KĐM nucleocapsit tạo nên một codon kết thúc ngăn chặn HBeAg dịch mã. Virut đột biến này xuất hiện sau chuyển huyết thanh từ HBeAg thành anti-HBe ở nhiều BN sống quanh vùng Địa Trung Hải và Viễn Đông.

Tuy chuyển huyết thanh thường kèm theo với sự sao chép virut được kiểm soát, trong nhiều trường hợp khi có đột biến precore, sao chép virut thường tiếp tục và VG tiến triển nhiều hơn. Đây có thể do một đột biến thoát dưới sức ép chọn lọc của anti-HBe. Tuy nhiên, hiện nay virut với đột biến precore đã được xác định có thể tìm thấy ở BN mà sự sao chép HBV đã được kiểm soát. Sự xác định chuỗi mã DNA của các thể phân lập ở BN sau chuyển huyết thanh HBeAg phát hiện nhiều đột biến trong các quyết định kháng nguyên của vùng lõi liên quan với tình trạng virut huyết tồn tại, cho thấy đột biến precore đơn thuần không đủ tránh né đáp ứng miễn dịch.



Hình 8-6. *Phát triển tự nhiên của nhiễm HBV tồn tại.*

Đáp ứng TBTGĐTB yếu trong VG B mạn. Sự phân giải TBTGĐTB yếu trong tế bào gan nhiễm HBV giúp virut tồn tại. Trong giai đoạn HBeAg(+) (I), phân giải tế bào ít. Phân giải tế bào tăng lên trong chuyển huyết thanh HBeAg/anti-HBe (II). Sau một thời kỳ "nhiễm virut huyết được kiểm soát" (III), sau thải trừ HBeAg, khi HBV DNA hiện diện với số lượng rất nhỏ (chỉ phát hiện bằng PCR) và ALT bình thường, virut HBeAg(-) xuất hiện, HBV DNA trở nên dương tính mạnh và ALT lại tăng lên (IV). Trong nhiễm HBV giai đoạn cuối (V), HBsAg có thể biến mất và anti-HBs xuất hiện. Trong một số trường hợp, HBV DNA còn dương tính do tồn tại các biến dị HBsAg.

Một giải thích khác cho tần suất gia tăng của virut đột biến precore là đột biến ở precore ổn định cấu trúc thân–vòng trong tiền bộ gen virut, tác dụng như một tín hiệu đóng gói và cũng là nguồn gốc sao chép. Sự thay thế cặp bazơ có thể giúp virut sao chép mà cuối cùng đưa đến ưu thế của đột biến này. Các thí nghiệm *in vitro* đã không cho thấy bất cứ lợi ích sao chép nào của đột biến precore một cách thuyết phục. Các BN được ghép tạng nhiễm HBV, bị nhiễm với đột biến precore, khi bị ức

chế miễn dịch nặng lâu dài, biểu lộ sự tái xuất hiện của virut kiểu nguyên sinh có lẽ do sức ép chọn lọc miễn dịch.

3.1.4. Sự hòa nhập HBV

Ngày nay đã rõ là HBV DNA hòa nhập vào bộ gen tế bào gan qua nối đồng hóa trị trong nhiễm virut mạn. Sự bài tiết liên tục của protein vỏ ngoài (HBsAg) trong khi không có sao chép virut có lẽ miêu tả giai đoạn DNA virut hòa nhập vào DNA chủ, khiến cho một vài gen virut được sao chép và dịch mã mặc dù bản thân chúng là DNA của tế bào gan. Sự hòa nhập này có thể liên quan (khá muộn trong nhiễm virut) đến tình trạng chuyển dạng ác tính của tế bào gan. Các tế bào chứa các chuỗi mã hòa nhập tránh né các quá trình thải loại miễn dịch và có lẽ tránh né đến nỗi không biểu hiện các kháng nguyên HBc và HBe (được cho là các đích của các TBTGĐTB). Vì điểm ưu tiên hòa nhập bộ gen virut ở trong vùng gen khởi đầu của gen lõi HBV, đơn vị phiên mã này bị hủy hoại trong quá trình hòa nhập và vì thế không có kháng nguyên nucleocapsit nào được sản xuất. Tuy nhiên, HBsAg tiếp tục được biểu hiện trong các tế bào này vì gen nguyên vẹn trong chuỗi mã virut hòa nhập. Vì TBTGĐTB không nhận diện được tế bào bị nhiễm virut, sự hòa nhập virut sẽ gây ra tình trạng nhiễm virut tồn tại. Hòa nhập HBV có thể tùy thuộc vào thời gian nhiễm virut và thường gặp nếu nhiễm virut từ 2 năm trở lên. Các nghiên cứu loại trừ nhiễm HBV bằng điều trị interferon đã cho thấy các BN nhiễm virut mạn nhiều năm, những BN có HBV DNA hòa nhập, có ít khả năng thải trừ HBsAg hơn các BN mới có tình trạng nhiễm mạn tính và chưa có hòa nhập. Ở những người không còn sao chép virut (HBV DNA, HBV DNA polymerase và HBeAg đều âm tính) và không có bệnh gan, nhiễm virut tái hoạt (có lẽ từ HBV hòa nhập) có thể được gặp khi điều trị ức chế miễn dịch hoặc có rối loạn chức năng miễn dịch mắc phải.

3.1.5. Các yếu tố khác

• Một số protein của virut có đặc tính kháng lại hiện tượng chết tế bào hàng loạt, ức chế các phản ứng miễn dịch, can thiệp vào tác dụng của các cytokine.

• Do virut tràn ngập quá nhiều mà các TBTGĐTB không đủ số lượng và cũng không đủ sức để khống chế.

• HBV còn được tìm thấy ở ngoài gan như các tế bào đơn nhân máu ngoại vi và ở tủy xương. Các lympho bào nhiễm HBV được xem là nguồn dự trữ virut ngoài gan làm tình trạng nhiễm virut kéo dài hoặc gây tái nhiễm sau ghép gan. HBV còn có thể ở các cơ quan khác như não, thận... là nơi TBTGĐTB khó xâm nhập do cấu trúc hàng rào vi mạch khá bền chặt.

3.2. CÁC YẾU TỐ KÝ CHỦ

3.2.1. Tính mẫn cảm di truyền

Các nghiên cứu trên trẻ sinh đôi ở Trung Quốc cho thấy hậu quả nhiễm HBV được xác định phần nào qua kiểu gen vật chủ.

Một số các nghiên cứu kết hợp bệnh đã chẩn đoán các hiện tượng đa hình ảnh hưởng đến tính mẫn cảm đối với nhiễm HBV tồn tại. Các alen PHPHTCC lớp I DRBI* 1302, DRBI*02 và DRBI*04 có sự đề kháng đối với nhiễm HBV tồn tại, trong khi alen DRBI*07 mẫn cảm với tình trạng nhiễm HBV tồn tại. Người ta cho rằng tính dị hợp tử tại locus PHPHTCC lớp II giảm tính mẫn cảm đối với nhiễm HBV tồn tại.

Mannose gắn kết protein (MBP) là một lectin huyết thanh phụ thuộc calcium liên quan trong hiện tượng opsonin hóa và cố định bổ thể. Có 4 biến dị alen của protein này: một kiểu nguyên sinh và các biến dị alen tại các vị trí aa 52, 54 và 57. Mỗi biến dị kết hợp với sự khiếm khuyết chức năng MBP và tính mẫn cảm trong nhiễm khuẩn sinh mủ tăng lên. Hai bằng chứng cho thấy tính đa hình này có thể liên quan đến hậu quả của HBV. Đầu tiên là suy giảm chức năng opsonin gặp ở BN nhiễm HBV mạn và thứ nhì là protein bề mặt trung bình của HBV có một chuỗi bên carbohydrat có mannose tận cùng. Một nghiên cứu trường hợp đối chứng ở các BN châu Âu xác nhận sự kết hợp giữa biến dị codon alen 52 và nhiễm HBV tồn tại.

Gần đây, một kết hợp của alen TNF-alpha-2 với nhiễm HBV tồn tại đã được mô tả. Điều này có thể giải thích sự kết hợp nhiễm HBV tồn tại với sốt rét thể não nặng cũng do kết hợp với sự hiện diện của alen TNF-alpha-2.

3.2.2. Sự sản xuất thiếu hụt của interferon

Sự sản xuất interferon-α ở giai đoạn đầu nhiễm HBV cấp được cho là quan trọng trong cơ chế lành bệnh. Trong nhiễm HBV cấp, interferon-α có trách nhiệm khởi động gia tăng kháng nguyên PHPHTCC lớp I biểu hiện trên màng tế bào gan và hoạt hóa 2', 5'-oligo-adenylate synthetase (2,5–OAS), endonuclease và protein kinase, gây ra một tình trạng kháng virut hiệu quả bên trong gan. Tuy nhiên, ở những người nhiễm HBV mạn, có bằng chứng interferon hoạt hóa bất thường các tế bào gan, 2,5–OAS chỉ tăng rất ít và các protein PHPHTCC lớp I có rất thấp trên các tế bào gan nhiễm virut. Hơn nữa, các nghiên cứu về các TBĐNMNV lấy từ các BN nhiễm HBV cấp và mạn tính đã phát hiện interferon-α sản xuất dưới mức bình thường. Có lẽ việc giảm sản xuất interferon góp phần trực tiếp vào nhiễm HBV. Ức chế sản xuất interferon trong các tế bào biểu hiện vùng lõi của HBV đã được chứng minh. Tuy nhiên, sự giảm sản xuất interferon cũng thấy ở các tế bào lympho ở các BN nhiễm HBV cấp trong thời kỳ lui bệnh, do đó sự thiếu hụt interferon không thể là nguyên nhân của đa số trường hợp nhiễm HBV tồn tại. Các nghiên cứu điều trị

interferon-α cũng chỉ thải trừ HBV trong độ 1/3 BN được điều trị. Nếu sự tồn tại của nhiễm virut là do thiếu hụt sản xuất interferon bởi bạch cầu đơn nhân máu ngoại vi, thì tỉ lệ chuyển huyết thanh cao phải cao hơn nhiều sau khi điều trị interferon-α.

3.2.3. Đáp ứng thiếu hụt đối với interferon

Trong các BN VG B mạn từ trung bình đến nặng, có một sự gia tăng khiếm khuyết trong biểu hiện PHPHTCC lớp I và hoạt hóa enzyme 2,5-OAS. Các đáp ứng bất thường đối với interferon hình như mắc phải do hậu quả nhiễm HBV trực tiếp. Gây nhiễm *in vitro* HBV vào các tế bào trong môi trường nuôi cấy làm chúng không đáp ứng một cách đặc hiệu với interferon; chúng còn mẫn cảm với sự phân giải bởi virut Sindbis và cảm ứng PHPHTCC lớp I không xảy ra. Sự biểu lộ PHPHTCC lớp I được coi là quan trọng trong việc nhận biết và loại trừ tế bào gan nhiễm HBV bằng các TBTGĐTB và biểu hiện PHPHTCC giảm cùng với sự hoạt hóa 2,5-OAS giảm, có thể làm tăng khả năng nhiễm HBV tồn tại.

Đáp ứng tế bào bất thường đối với interferon có lẽ phụ thuộc trực tiếp vào chính virut, nhưng cơ chế chính xác vẫn chưa rõ ràng. Một giả thuyết cho rằng do sự hiện diện của một chuỗi mã nucleotit ngắn tại nơi bắt đầu của gen lõi virut. Chuỗi mã nucleotit của vùng này khá đồng dạng với một chuỗi mã đồng thuận bên trong bộ gen ký chủ ngược dòng với gen được cảm ứng bởi interferon của các tế bào loài có vú. Thông tin thứ phát tạo nên bởi IFN gắn vào điểm này và sự hiện diện của nhiều chuỗi mã đồng thuận tương tự trên HBV DNA thể bổ sung hoặc hòa nhập cạnh tranh với thông tin này. Một cơ chế cạnh tranh khác là do enzym sao chép HBV (HBV DNA polymerase). Nghiên cứu đã chứng minh tế bào chuyển nhiễm với gen HBV DNA polymerase sản xuất protein polymerase và trở nên không đáp ứng với tác dụng của interferon-α. Trong nghiên cứu, chuyển nhiễm với các gen HBV khác không ảnh hưởng đến đáp ứng tế bào với interferon.

3.2.4. Kháng thể đối với các kháng nguyên nucleocapsit

Dấu ấn miễn dịch đầu tiên do vật chủ tạo ra là kháng thể IgM đối với protein lõi (anti-HBc), xuất hiện một thời gian ngắn sau khi HBsAg được phát hiện trong huyết thanh. Anti-HBc không phải là kháng thể trung hòa và các nồng độ anti-HBc cao khi không có HBsAg và anti-HBs có thể cho thấy HBV đang sao chép trong gan và các hạt HBV gây nhiễm hiện diện trong huyết thanh. Các TBTGĐTB nhạy cảm với các peptit HBV có nguồn gốc từ nucleocapsit biểu hiện trên màng tế bào gan nhận biết và phá hủy các tế bào gan nhiễm HBV. Tuy nhiên, anti-HBc và anti-HBe đã được chứng minh ngăn chặn sự giết TBTGĐTB của tế bào gan nhiễm HBV. Tác dụng ngăn chặn có thể là kết quả của một cản trở không gian làm chậm phản ứng thủy lực do các nhóm lân cận ở cùng phân tử, nếu các biểu vị của tế bào B và TBTGĐTB được biểu lộ gần nhau trên màng tế bào.

Anti-HBc lưu hành có thể điều biến sự phân giải qua trung gian tế bào T của tế bào nhiễm virut và có thể là cơ chế tồn tại virut tương tự với nhiễm sởi mạn tính của hệ thống thần kinh trung ương. Phù hợp với giả thuyết nêu trên khi quan sát một số BN người lớn tiến triển từ nhiễm virut cấp đến mạn sản xuất anti-HBc trước khi thải trừ virut, tiêm anti-HBc và anti-HBe đơn dòng với virut sẽ tạo nên tình trạng nhiễm virut kéo dài. Pignatelli và cs thấy rằng các kháng nguyên nucleocapsit (HBcAg, HBeAg) hiện diện trên màng của các tế bào gan nhiễm HBV ở người mang mạn tính. Trong thực nghiệm gây độc tế bào tự thân, các tác giả thấy các TBTGĐTB nhạy cảm với nucleocapsit VG B hiện diện ở người mang HBV mạn có HBeAg(+) và các tế bào T này có thể bị phong tỏa bởi anti-HBc và anti-HBe đơn dòng. Chủng ngừa thụ động hắc tinh tinh với các kháng thể anti-HBc và anti-HBe đơn dòng không tạo bảo vệ chống nhiễm HBV nhưng trong cả hai trường hợp đều dẫn đến tình trạng VG kéo dài bất thường có lẽ do sự điều biến của HBcAg và HBeAg phô bày trên màng tế bào gan. Anti-HBc nồng độ cao trong hệ tuần hoàn của BN HBeAg(+) có lẽ điều biến protein trước tạo HBeAg, kháng nguyên đích quan trọng đối với các TBTGĐTB gây tổn thương gan ở người mang mạn. Các số liệu này chứng minh giả thuyết cho rằng truyền thụ động IgG anti-HBc qua nhau thai là một yếu tố chính khởi động sự phát triển nhiễm HBV tồn tại ở trẻ sơ sinh nhiễm từ người mẹ mang HBV mạn.

Ở các đứa trẻ sinh ra từ người mẹ HBeAg(+), 90% trở nên nhiễm virut và hơn 90% trong số đó phát triển nhiễm virut mạn. Điều này được cho là sự chuyên chở chủ động IgG anti-HBc qua các thụ thể Fc nhau thai góp phần vào tình trạng tồn tại của tế bào nhiễm HBV trong gan của trẻ, cùng với sự chưa trưởng thành của hệ miễn dịch trẻ sơ sinh gây nhiễm virut mạn. Các kháng thể IgG đã được chứng minh điều biến protein virut khỏi màng tế bào bị nhiễm, một tiến trình sẽ ngăn trở sự nhận biết bởi các kháng thể có khả năng phân giải. Thông thường, các biểu vị nhận biết bởi các kháng thể và các TBTGĐTB là khác nhau. Trong trường hợp các tế bào gan nhiễm HBV, anti-HBc và anti-HBe sẽ ức chế tế bào T phân giải tế bào gan nhiễm virut, cho thấy các biểu vị được nhận biết bởi các kháng thể này và các TBTGĐTB là tương tự, hoặc biểu lộ gần nhau trên màng tế bào. Các nghiên cứu sau đó cũng chứng minh anti-HBc và anti-HBe đơn dòng của chuột, khi tiêm vào hắc tinh tinh cùng với vật cấy nhiễm HBV, tạo nên một nhiễm virut kéo dài từ 12 đến 18 tháng.

3.2.5. Các bất thường của chức năng tế bào lympho

Chức năng của tế bào lympho được cho là khá phức tạp trong nhiễm HBV mạn. Nhiều nghiên cứu đo lường chức năng tế bào ức chế trong nhiễm HBV cấp lẫn mạn tính đã được thực hiện. Tuy các kết quả chưa chắc chắn, có thể có một khiếm khuyết trong chức năng tế bào ức chế trong nhiễm HBV cấp và mạn tính so với nhóm chứng. Các nghiên cứu về tỉ lệ CD4/CD8 cho thấy giảm trong nhiễm HBV cấp và

mạn tính. Các phát hiện này cho thấy một thay đổi trong chức năng tế bào lympho tạo ra bởi virut ở cả BN nhiễm virut cấp và mạn tính, nhưng không có chiều hướng khiến BN diễn tiến đến tình trạng tồn tại HBV.

Ở BN nhiễm HBV mạn có bệnh gan, sự sản xuất IL1 bởi TBĐNMNV cũng tăng lên và tương quan với độ trầm trọng của xơ gan. Tuy nhiên, khi xơ gan xảy ra, sản xuất IL1 sẽ giảm nhiều so với người bình thường có lẽ do một chất ức chế huyết thanh được tìm thấy ở những trường hợp bệnh tiến triển. Khiếm khuyết này không đặc hiệu ở bệnh gan do HBV. Sự sản xuất IL bình thường ở người mang HBV không có bệnh gan.

Thiếu hụt bài tiết của kháng thể tế bào lympho B trong nhiễm HBV mạn cũng được mô tả và được cho là do đáp ứng sinh lý của tế bào lympho B bài tiết anti-HBs đối với sự sản xuất HBsAg lưu hành quá thừa thải. Các bất thường của tế bào lympho khác nhau liên quan với khả năng phát triển HBV mạn có tầm quan trọng như thế nào chưa được rõ.

3.2.6. Các yếu tố huyết thanh

Ngoài các khiếm khuyết đã mô tả trong sự sản xuất IL ở đa số BN có bệnh gan nặng, các nghiên cứu đã cho thấy người mang HBV có thể tiết các yếu tố huyết thanh đặc hiệu dẫn đến sự tồn tại của virut. Các nghiên cứu gần đây đã chứng minh các tế bào T của phần lớn người mang HBV mạn sản xuất một yếu tố hòa tan bài tiết ức chế chọn lọc các tế bào lympho B sản xuất anti-HBs. Các yếu tố huyết thanh khác thay đổi bất lợi với chức năng tế bào lympho cũng đã được mô tả, nhưng các thay đổi này ít đặc hiệu và được cho là không giữ vai trò chủ yếu trong tình trạng HBV mạn.

3.2.7. Đáp ứng kháng kiểu gen cá thể (idiotype)

Một phương pháp kiểm soát điều hòa miễn dịch quan trọng được thực hiện bằng cách tổng hợp các kháng thể chống lại các vùng thay đổi của kháng thể. Các kháng thể này, được biết kháng kiểu gen cá thể, có thể tăng cường, hoặc thường gặp hơn là hạn chế đáp ứng miễn dịch. Gần đây, một nghiên cứu nhằm vào các kháng thể kháng kiểu gen cá thể trong nhiễm HBV cho thấy 70% đến 80% BN nhiễm virut tồn tại có các kháng thể này. Những người thải trừ HBV sau đó ít thấy có kháng thể kháng kiểu gen cá thể và nếu có, chúng có nồng độ thấp hơn các BN không thải trừ HBV. Các số liệu này cho thấy sự điều biến kháng gen cá thể của đáp ứng miễn dịch chống lại virut có thể quan trọng trong dự báo về sự tồn tại virut.

3.2.8. Các yếu tố giới tính và kích tố

Sau phơi nhiễm ở tuổi trưởng thành, khả năng nhiễm HBV mạn ở nam lớn hơn so với nữ giới. Lý do của khác biệt này còn chưa rõ, có thể là do nguyên nhân

hocmôn giới tính. Có một thành phần đáp ứng glucocorticoit trong bộ gen của HBV và các nghiên cứu đã cho thấy biểu hiện gen HBsAg được điều hòa bởi steroit giới tính và glucocorticoit. Mặt khác, HBsAg được thải trừ chậm hơn trong chuột đực hơn là chuột cái cùng một kiểu gen, cho thấy các thực bào trong con đực không "thấy" protein virut dễ dàng như các thực bào ở chuột cái. Nam có nhiều nguy cơ hơn nữ trong việc phát triển bệnh gan mạn tính.

3.2.9. Các yếu tố khác

• Giảm khả năng nhận diện virut của hệ miễn dịch do giảm trình diện gen của virut, giảm quá trình xử lý kháng nguyên có liên quan một phần với các cytokin do TBTGĐTB tiết ra.

• Tăng đề kháng của tế bào gan nhiễm virut với TBTGĐTB bằng cách ức chế các tín hiệu gây chết tế bào theo như giảm biểu hiện của thụ thể Fas trên bề mặt tế bào, ức chế perforin và granzym, gia tăng biểu hiện các gen kháng hiện tượng chết tế bào hàng loạt theo chương trình.

4. TÓM TẮT

Khi virut VG B xâm nhập cơ thể sẽ bị bắt giữ và bị tiêu hóa thành các mảnh peptid và trình diện lên bề mặt tế bào gan cùng với các thành phần miễn dịch khác. TBTGĐTB nhận biết kháng nguyên virut biểu hiện trên tế bào gan, trực tiếp phá hủy một phần nhỏ tế bào gan nhiễm virut. Tuy nhiên, sự phóng thích các cytokine như interferon-γ và TNF-α, với sự khuếch đại tín hiệu bởi tế bào Kupffer, phá hủy phần lớn HBV mà không gây độc tế bào. Đây là một cơ chế bảo vệ quan trọng cho ký chủ, giúp BN nhiễm HBV tránh khỏi tình trạng VG kịch phát trong đa số trường hợp. Mặt khác, đáp ứng miễn dịch chỉ hiệu quả một phần có thể không thải trừ hoàn toàn virut, nhưng cũng giảm biểu hiện kháng nguyên virut làm giảm tạm thời đáp ứng miễn dịch. Khi đáp ứng miễn dịch suy giảm, các bộ gen virut còn lại có thể hồi phục tình trạng hoạt động và lại gợi ra ký ức đáp ứng miễn dịch.

Các yếu tố dẫn đến sự tồn tại của HBV như: HBeAg gây dung nạp tế bào T, HBsAg thừa làm trệch hướng anti-HBs trong việc trung hòa virion, đột biến HBV, tạo chủng có độc lực cao như biến dị HBeAg âm, HBV DNA hoà nhập vào bộ gen tế bào gan ký chủ, virut tràn ngập mà các TBTGĐTB không đủ sức để khống chế...Các yếu tố ký chủ cũng có thể dẫn đến sự tồn tại của virut: do kiểu gen ký chủ, tế bào lympho sản xuất thiếu hụt IFN, ký chủ không đáp ứng đầy đủ với IFN gây nhiễm HBV tồn tại, anti-HBc điều biến phân giải tế bào nhiễm HBV mạn...

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. **Đặng Đức Trạch, Nguyễn Bích Hường, Phạm Mạnh Hùng, Pondman K.W và Wright.P.E.** Miễn dịch học, NXB y học, Hà Nội 1984.
2. **Thomas HC; Thursz MR.** Pathogenesis of chronic hepatitis B. In Zuckerman AJ, Thomas HC, editors. Viral Hepatitis. 2nd ed. London. Churchill Livingstone; 1998: 217-26.
3. **Vyas-NG; Yen TSB.** Hepatitis B virus: Biology, Pathogenesis, Epidemiology, Clinical Description, and Diagnosis. In S. Specter editor. Viral hepatitis: Diagnosis, Therapy, and Prevention.Totowa, NJ. Humana Press Inc. 1999:7-33.
4. **Bùi Hữu Hoàng.** Cấu trúc siêu vi VG B. Trong VG virut B: từ cấu trúc đến điều trị. Bộ môn Nội, TĐHYDTP.HCM. 2000: 9-24.
5. **Bùi Hữu Hoàng.** Sinh lý bệnh trong viêm gan siêu vi. Trong VG virut B: từ cấu trúc đến điều trị. Bộ môn Nội, TĐHYDTP.HCM. 2000: 25-38.
6. **Pignatelli-M; Waters-J; Lever-A; Iwarson-S; Gerety-R; Thomas-HC** Cytotoxic T-cell responses to the nucleocapsid proteins of HBV in chronic hepatitis. Evidence that antibody modulation may cause protracted infection. J-Hepatol. 1987 Feb; 4(1): 15-21.
7. **Moriyama-T; Guilhot-S; Klopchin-K; Moss-B; Pinkert-CA; Palmiter-RD; Brinster-RL; Kanagawa-O; Chisari-FV.** Immunobiology and pathogenesis of hepatocellular injury in hepatitis B virus transgenic mice. Science. 1990 Apr 20; 248(4953): 361-4.
8. **Koziel MJ.** Cytokins in viral hepatitis. Seminars in liver disease. Thieme, vol 19 (2), 1999: 157-169.

Chương 9

CÁC XÉT NGHIỆM TRONG VIÊM GAN VIRUT

Trang

1. CÁC XÉT NGHIỆM CHỨC NĂNG GAN TRONG VG VIRUT ... *219*
1.1. Các xét nghiệm phản ánh thương tổn gan mật ... ***219***
1.1.1. Aminotransferase ... *219*
1.1.2. Alkaline phosphattase (ALP) ... *221*
1.1.3. γ - Glutammyltranspeptidase (GT) ... *222*
1.2. Xét nghiệm chuyên trở anion hữu cơ hoặc thải trừ thuốc ... ***222***
1.3. Các yếu tố chỉ thị của chức năng tổng hợp ... *228*
1.3.1. Albumin huyết thanh ... *228*
1.3.2. Thời gian prothromblin (PT) và các yếu tố đông máu huyết thanh ... *229*
1.4. Vai trò của dấu ấn huyết thanh AFP ... *229*
1.5. Đo lường phức hợp miễn dịch lưu hành ... *234*
2. XÉT NGHIỆM MIỄN DỊCH CÁC DẤU ẤN CỦA VG B ... *234*
2.1. Khuếch tán miễn dịch đơn (Kỹ thuật mancini) ... *234*
2.2. Khuếch tán miễn dịch kép (kỹ thuật ouchterlony) ... *234*
2.3. Điện di miễn dịch (immunoelectrophoresis) ... *234*
2.4. Điện di miễn dịch đối lưu (counter immunoelectrophoresis) ... *234*
2.5. Kỹ thuật ngưng kết ... *235*
2.6. Elisa (Enzyme-linked immunosorbent assay) dùng phát hiện HBBsAg ... *235*
2.7. RIA (radioimmunoassay) ... *235*
2.8. Meia ... *236*
3. MÔ HỌC GAN TRONG VG MẠN ... 236
3.1. Vài nét lịch sử về thuật ngữ VG mạn ... *237*
3.2. VG mạn ... *238*
3.3. Vai trò của sinh thiết gan trong chẩn đoán VG mạn ... *238*
3.4. Các đặc trưng chẩn đoán trên sinh thiết gan ... *240*
3.5. Chẩn đoán phân biệt VgG mạn trên mô học ... *242*
3.6. Phân độ các hình ảnh sinh thiết gan ... *243*
3.7. Phân chia giai đoạn các hình ảnh sinh thiết gan ... *248*
3.8. Tóm tắt các phương pháp và tiêu chuẩn cho điểm ... *249*
4. SINH HỌC PHÂN TỬ TRONG CHẨN ĐOÁN VG VIRUT ... *249*
4.1. Các kỹ thuật ... *249*
4.1.1. Tinh khiết axit nucleic virut ... *249*
4.1.2. Các đoạn dò ... *250*
4.1.3. Sự phát hiện của các bộ gen virut (bảng 9-10) ... *250*
4.1.4. Các xét nghiệm mới phát hiện nhanh các axit nucleic ... *251*
4.1.5. Phương pháp lai in situ ... *258*
4.2. Sự phát hiện DNA virut VG B ... *259*
4.2.1. Sự phát hiện HBV DNA không có khuếch đại trước ... *259*
4.2.2. Các BN có kháng nguyên bề mặt VG B dương ... *259*
4.2.3. Các đối tượng HBe Ag(+) ... *261*
4.2.4. Những người anti-HBe(+) ... *262*
4.2.5. Theo dõi người mang mạn HBsAG(+) ... *262*

4.2.6. Sự phát hiện HBV DNA bằng PCR *263*
4.2.7. Sự phát hiện HBv DNA bằng PCR *264*
4.2.8. Các đối tượng có HBsAg (+) *264*
4.2.9. Các BN có HBsAG(-) *264*
5. TÓM TẮT *267*
TÀI LIỆU THAM KHẢO *268*
..... *269*

1. CÁC XÉT NGHIỆM CHỨC NĂNG GAN TRONG VG VIRUT

Có khá nhiều xét nghiệm sinh hoá cung cấp các bằng chứng gián tiếp về bệnh gan mật. Thuật ngữ "xét nghiệm chức năng gan" đã trở thành thông dụng, tuy việc sử dụng còn nhiều bàn cãi vì các xét nghiệm thường dùng trong bệnh gan như aminotrasferase huyết thanh và alkaline phosphatase nhằm đánh giá mức độ toàn vẹn của tế bào gan hơn là đánh giá chức năng. Bởi thế, thuật ngữ "xét nghiệm tổn thương gan" có thể phù hợp hơn.

1.1. CÁC XÉT NGHIỆM PHẢN ÁNH THƯƠNG TỔN GAN MẬT

1.1.1. Aminotransferase

Là men giúp cho quá trình vận chuyển những nhóm amin của những acid α-cetonic, tạo nên mối liên quan giữa chuyển hoá protein và glucid. Trong số các transaminase có hai loại được chú ý nhiều nhất.

1.1.1.1. Tăng aminotransferase

Aminotransferase thường được dùng nhiều nhất và là chỉ thị đặc hiệu của hoại tử tế bào gan. Các enzym này bao gồm:

- Aspartate aminotransferase (AST, trước đây gọi là SGOT = Seric Glutamino - Oxalotransaminase): có nhiều mô khác nhau như tim, cơ vân, thận, não và gan. Trong gan, AST hiện diện ở ty thể và phần bào tương của tế bào.
- Alanin aminotransferase (ALT, trước đây gọi là SGPT = Seric Glutamino - Pyruvic Transaminase): chủ yếu ở trong gan và ở trong phần bào tương của tế bào.

Các enzym này chuyển các nhóm α - amino của aspartate và alanin lần lượt thành nhóm α- keto của axit ketoglutaric. Tuy chưa có định nghĩa thống nhất về các xét nghiệm chức năng gan nhẹ, vừa hoặc nặng, định nghĩa hiện nay được phát hoạ như sau (bảng 9-1):

Bảng 9-1. Các đặc trưng về nồng độ enzym gan gia tăng

Xét nghiệm	Bình thường U/L[a]	Nhẹ[b]	Trung bình[b]	Nặng[b]
AST	11-32	<2-3	2-3 đến 20	>20
ALT	3-30	<2-3	2-3 đến 20	>20
ALP	35-105	<1,5-2	1,5 đến 5	>5
GGT	2-65	<2-3	2-3 đến 10	>10

[a] Giới hạn bình thường tuỳ theo xét nghiệm được dùng do nhà bào chế cung cấp
[b] Số trong bảng được nhân cho giới hạn trên của số liệu bình thường

Chẩn đoán thường được dựa vào mức aminotransferase tăng cao (bảng 9-2)

Bảng 9-2. Nồng độ aminotransferase gia tăng gợi ý chẩn đoán

Tăng nhẹ	Trung bình	Tăng cao
BN gan nhiễm mỡ	VG virut cấp	VG virut cấp
VG ứ mỡ không do rượu	VG mạn	Hoại tử gan do thuốc hoặc do độc tố
VG virut mạn	VG do rượu	VG thiếu máu cục bộ do sốc hoặc thương tổn bảo tồn sau ghép gan

Nồng độ aminotransferase cao không liên quan đến tình trạng hoại tử trên các mẫu sinh thiết gan và vì thế không có giá trị tiên lượng. Thật vậy, aminotransferase giảm xuống nhanh có thể do lượng tế bào gan còn sống giảm vì đây là một tiên lượng xấu trong VG kịch phát.

Một đặc trưng của VG mạn tính là kiểu ALT huyết thanh dao động từng cơn; các thời kỳ hoạt tính ALT cao xen kẽ với các thời kỳ bình thường hoặc gần bình thường. Ở BN nghẽn đường mật ngoài gan, AST và ALT có thể tăng cao hơn 300U/l nhưng thường giảm xuống nhanh sau khi lên đỉnh cao trong 24 đến 48 giờ sau tắc nghẽn.

Aminotransferase tăng cao có thể là bằng chứng đầu tiên của bệnh gan và việc sàng lọc là cần thiết nhằm phát hiện bệnh gan dưới lâm sàng. Thế nhưng, BN có mức aminotransferase bình thường vẫn có thể có tổn thương gan nặng. Trong các nghiên cứu gần đây đã cho thấy người mang HCV không triệu chứng có thể có VG mạn hoặc xơ gan trên sinh thiết dù các enzym gan được xét nghiệm nhiều lần bình thường.

Tỷ suất AST/ATL có thể hữu ích trong chẩn đoán:

- AST/ALT >2: Bệnh gan do rượu. Lý do tăng AST so với ALT có thể do thiếu hụt một đồng yếu tố, pyridoxine-5-phosphat. Thực vậy, khi BN bệnh gan do rượu uống đồng yếu tố này thì thấy tăng ALT huyết thanh. Các bằng chứng sinh hoá khác của bệnh gan do rượu bao gồm gia tăng γ -GT huyết thanh, thể tích huyết cầu trung bình và transferrin desialyated. AST/ALT >2 còn gặp trong các trường hợp VG do thiếu máu (sốc, suy tim), VG tổ chức kẽ (mesenchymatous hepatitis) trong một số bệnh nhiễm khuẩn.

• AST/ALT ,1: Bệnh gan ứ mỡ không do rượu thường có ALT lớn hơn AST. Trong VG virut, tỷ suất AST/ALT thường <1 nhưng có thể tăng >1 khi có xơ gan. Trong VG cấp, ALT có khi tăng rất cao, gần 100 lần bình thường, thường tăng sớm từ thời kỳ nung bệnh, trước khi xuất hiện vàng da; AST/ALT <1 còn gặp trong trường hợp VG do nhiễm độc có hoại tử nhu mô gan nặng (nhiễm tetrachlorur carbon...)

1.1.1.2. Giảm aminotransferase

Một vài bệnh cảnh lâm sàng có tình trạng aminotransferase máu giảm. Yasuda và cs đã chứng minh một giá trị cao hơn 20U/l lại là khá bất thường và là chỉ thị cho bệnh gan ở BN đang thẩm phân máu, cho thấy các giới hạn trên bình thường của AST và ALT ở các BN này giảm xuống đáng kể. Ở BN suy thận có bằng chứng virut huyết VG C thường không có rối loạn chức năng gan.

1.1.2. Alkaline phosphatase (ALP)

ALP huyết thanh là tên được dùng cho một nhóm enzym xúc tác sự thuỷ phân của estephosphat ở pH kiềm 9-10. Các enzym này phân bố rộng rãi và có thể có nguồn gốc chủ yếu ở xương, một phần nhỏ ở gan, ruột và lá nhau.

Trị số ALT bình thường trong huyết thanh:

- Trẻ dưới 5 tuổi: 10-20 đơn vị Kinh-Armstrong (KB)
- Trẻ em trên 5 tuổi: 5-10 đơn vị KA
- Người lớn : 4-10 đơn vị KA hoặc 30-120U/l

1.1.2.1. Alkaline phosphatase tăng

Ở trẻ con và trẻ vị thành niên, là những người đang có hoạt động tăng trưởng xương, ALT huyết thanh có thể tăng đến 3 lần. Ở các BN có bệnh gan mật, ALP tăng cao do sản xuất trong gan gia tăng rò rỉ vào huyết thanh hơn là do thải trừ hoặc bài tiết ALP lưu hành bị yếu đi. ALP tăng rất cao trong tắc mật ngoài gan, xơ mật nguyên phát (PBC), viêm đường mật xơ hoá nguyên phát hay ứ mật do thuốc, nhưng mức tăng cao không giúp phân biệt ứ mật trong hay ngoài gan. Các bất thường ALP từ nhẹ đến trung bình gặp trong quá trình thâm nhiễm như bệnh amyloidosis, bệnh mô hạch và ung thư. Một vài BN Hodgkin và ung thư tế bào thận có ALP cao mà không có bất cứ tổn thương xương hay tổn thương hệ gan mật trực tiếp nào.

1.1.2.2. Alkaline phosphatase giảm

ALP huyết thanh giảm kết hợp với bệnh giảm phophatase bẩm sinh, nhược giáp, thiếu máu ác tính và bệnh thiếu kẽm. Hơn nữa, bệnh Wilson kịch phát gây biến

chứng tan máu thường không có ALP huyết thanh, có lẽ do thay thế đồng yếu tố (cofactor) kẽm bằng đồng và làm bất hoạt ALP.

1.1.3. γ -Glutamyltranspeptidase (γ-GT)

Là men có trong gan, thận, tuỵ, xúc tác chuyên một nhóm glutamic của một peptid sang một peptid khác hay sang một acid amin khác.

Trị số trung bình trong huyết thanh là 11-50U/l (0,18-0,84 μ Kat/1). Ở nữ thấp hơn nam

Men này tăng cùng với phosphatase kiềm nhưng sớm hơn

Tăng vừa trong xơ gan, VG cấp và mạn; tăng nhiều hơn trong ung thư gan nguyên phát và thứ phát, trong xơ gan mật nguyên phát, vàng da ứ mật, VG mạn tiến triển, nhồi máu cơ tim, ung thư thận.

γ - GT có lợi trong việc xác định ALT tăng là thứ phát đối với bệnh gan mật hoặc có nguồn gốc ngoài gan. Nhưng vì enzym có mặt khắp mọi nơi, GGT tăng cao thường có độ đặc hiệu thấp và có thể tăng lên do rượu, phenytoil, hoặc các thuốc khác.

1.1.4. 5'-nucleotidase

Men 5' nucleotidase đặc hiệu trong bệnh gan, việc đo lường enzym này rất có lợi trong chẩn đoán bệnh gan ở trẻ con, phụ nữ mang thai và chẩn đoán bệnh cảnh lâm sàng trong đó ALP tăng cao sinh lý nhưng không tăng 5'nucleotidase.

1.2. XÉT NGHIỆM KHẢ NĂNG CHUYÊN CHỞ ANION HỮU CƠ HOẶC THẢI TRỪ THUỐC

1.2.1. Bilirubin

Bilirubin là một anion hữu cơ nội sinh có nguồn gốc chủ yếu từ sự thoái biến hemoglobin do hồng cầu phóng thích ra. Bilirubin huyết được xếp vào hai loại: liên kết hay không liên kết.

- Bilirubin không liên kết (còn gọi là bilirubin gián tiếp, tự do): hình thành trong hệ võng mô, là loại bilirubin chưa được qua gan để vào các đường dẫn mật, không tan trong nước nên không bài tiết qua thận được.

- Bilirubin liên kết (trực tiếp) : hình thành trong gan từ bilirubin gián tiếp do liên hợp với acid glucuronic nhờ vai trò của men glucuronyl transsferase nên được gọi là bilirubin liên kết, tan được trong nước, theo mật vào ruột và được chuyển thành urobilinogen và stercobilinogen. Bình thường bilirubin liên kết có rất ít, dưới dạng vết trong huyết thanh (bài tiết được trong nước tiểu trong trường hợp bệnh lý)

Ở BN tăng bilirubin huyết do tổn thương tế bào gan hoặc ứ mật, bilirubin huyết thanh liên kết là chủ yếu, và vì tan trong nước, cho phép bài tiết dễ dàng qua thận.

Tăng bilirubin huyết quá cao (>25mg/dL) thường giải thích cho bệnh gan nặng kết hợp với một nguyên nhân tăng bilirubin huyết không liên kết (như bệnh tan máu).

Bilirubin không liên kết tăng trong:

- Các trường hợp có tan máu (thiếu máu tan máu, sốt rét đái huyết cầu tố).
- Khi có rối loạn liên kết bilirubin ở gan

Bilirubin liên kết tăng trong:

- Các bệnh lý có hoại tử nhu mô gan như: VG virut, hay do nhiễm độc, xơ gan mật, bệnh Dobin-Johnson v.v...
- Khi có tắc đường mật ngoài gan: sỏi mật, ung thư đầu tuỵ và bóng Vater, hạch to chèn được dẫn mật, co thắt cơ Oddi

Mức độ bilirubin huyết thanh đã được sử dụng để tiên lượng bệnh sử tự nhiên của bệnh gan đặc hiệu. Shapiro và cs đã báo cáo các BN xơ mật nguyên phát có diễn tiến ổn định và kéo dài sau cùng là giai đoạn tăng bilirubin huyết trước khi vào giai đoạn cuối, với một tỷ lệ sống trung bình chỉ 1,4 năm ở các BN có bilirubin huyết thanh lớn hơn 10mg/dL. Bilirubin huyết thanh là một biến số quan trọng nhất, thường gặp trong các mô hình tiên lượng sống của BN xơ mật nguyên phát, BN suy gan kịch phát và VG cấp do rượu. Hơn nữa, các nghiên cứu gần đây về những người được ghép gan có tăng bilirubin huyết đáng kể sau tái nhiễm HCV và mức độ tăng bilirubin huyết có thể giúp tiên lượng tốt hơn điểm số mô học trong quá trình tái phát HCV.

1.2.1.1. Sản xuất bilirubin

Bilirubin là sản phẩm cuối cùng trong quá trình thoái biến heme. 90% heme có nguồn gốc từ các hồng cầu già bị các tế bào võng nội mô trong lách, gan (tế bào Kupffer) và tuỷ xương thực bào. Còn lại 10% có nguồn gốc từ cytochrome, sự tạo hồng cầu không hiệu quả, tan máu nội mạch và quá trình phá vỡ myoglobin. Trong trường hợp bình thường, sự tạo hồng cầu không hiệu quả và tan máu nội mạch chiếm khoảng 5% bilirubin sản xuất. Tuy nhiên, tỷ lệ này có thể tăng cao trong một số quá trình bệnh lý. Trong khi bilirubin được chuyên chở trong huyết tương, nó gắn kết chủ yếu vào albumin, hemoglobin và heme được phóng thích vào huyết thanh trong quá trình tan máu lại được gắn kết lần lượt vào haptoglobin và hemopexin và mỗi kiểu phức hợp gắn kết vào thụ thể gan đặc hiệu. Độ 300 mg bilirubin được tạo ra mỗi ngày. Nồng độ bilirubin huyết thanh trong 95% người lớn khoẻ mạnh dao động từ 0,2-0,9 mg/dL (1 mg/dl của bilirubin gần bằng 17 mmol/l), đa số 95% bilirubin toàn phần dưới dạng không liên kết. Nồng độ của bilirubin không liên kết trong huyết thanh liên quan trực tiếp với tốc độ sản xuất và tỷ lệ nghịch với tốc độ thải trừ bilirubin ra khỏi cơ thể qua gan và thận. Nam giới có nồng độ bilirubin trung bình cao hơn so với nữ

giới, do nữ giới thường có tỷ lệ sản xuất bilirubin thấp và liên kết bilirubin có hiệu quả cao hơn. Vì tới 1.500 mg bilirubin có thể phá vỡ và bài tiết mỗi ngày từ heme, sự phá vỡ hemoglobin ồ ạt có thể xảy ra mà không tăng bilirubin huyết thanh.

Bên trong hệ võng nội mô (gồm cả lách), bước đầu tiên trong sự tổng hợp bilirubin là oxit hoá giới hạn của heme thành biliverdin bằng enzym heme oxygenase nằm trong lưới nội mô. Sắt và một phân tử carbon monoxit cũng được phóng thích trong phản ứng. Sau đó, tất cả biliverdin sẽ bị khử thành bilirubin bằng enzym biliverdin reductase.

Bilirubin là một hợp chất tetrapyrrole màu vàng tồn tại dưới hai dạng: liên kết và không liên kết. Bilirubin không liên kết không tan trong nước, vì việc gắn kết hydrogen trong phân tử ngăn chặn ion hoá hai nhóm axit carboxylic bên ngoài rất kỵ nước. Bilirubin được chuyên chở trong máu gắn kết với protein huyết thanh, chủ yếu là albumin. Bởi thế, các thuốc cạnh tranh với bilirubin với các chỗ gắn kết trên albumin (như sulfonamide và các thuốc chống viêm) sẽ gây tăng nồng độ bilirubin tự do và tăng nguy cơ vàng nhân não (kerniterus) ở trẻ em.

1.2.1.2. Sự hấp thụ bilirubin ở gan và gắn kết nội tế bào

Trước khi đến gan, phức hợp albumin - bilirubin tự do xuyên qua các tế bào lát của hệ mao mạch hình sin ở gan và sau đó phân ly, bilirubin rời khỏi albumin trong khoảng nội mạch và chuyển vào protein chuyên chở, qua trung gian vật mang ở trên màng đáy bên, đưa bilirubin vào tế bào. Bên trong tế bào gan, bilirubin gắn kết vào ligandin glutathione acetyltransferase B, men này giữ và ngăn chặn bilirubin trào ngược về mao mạch hình sin.

1.2.1.3. Liên kết bilirubin và bài tiết vào mật

Sự liên kết bilirubin giúp bài tiết bilirubin từ tế bào gan vào các tiểu quản mật. Bilirubin liên kết với axit glucuronic bằng enzym uridine diphosphoglucuronyl transferase (UDPGT) thành mono glucuronide tan trong nước (BR-DG) và diglucuronide (BR-DG). Ở mật, bilirubin liên kết 80% có dạng BR-DG. Sau đó, bilirubin liên kết được chuyên chở tích cực (chống lại gradian nồng độ) vào mật qua một quá trình trung gian vật mang khác vào tiểu quản mật. Thế nên, ở BN tổn thương tế bào gan, quá trình bài tiết bilirubin thường bị tổn thương hơn là quá trình hấp thụ và liên kết. Bilirubin liên kết tích tụ trong tế bào, bị trào ngược về các mao mạch hình sin và cuối cùng trở lại tuần hoàn toàn thân.

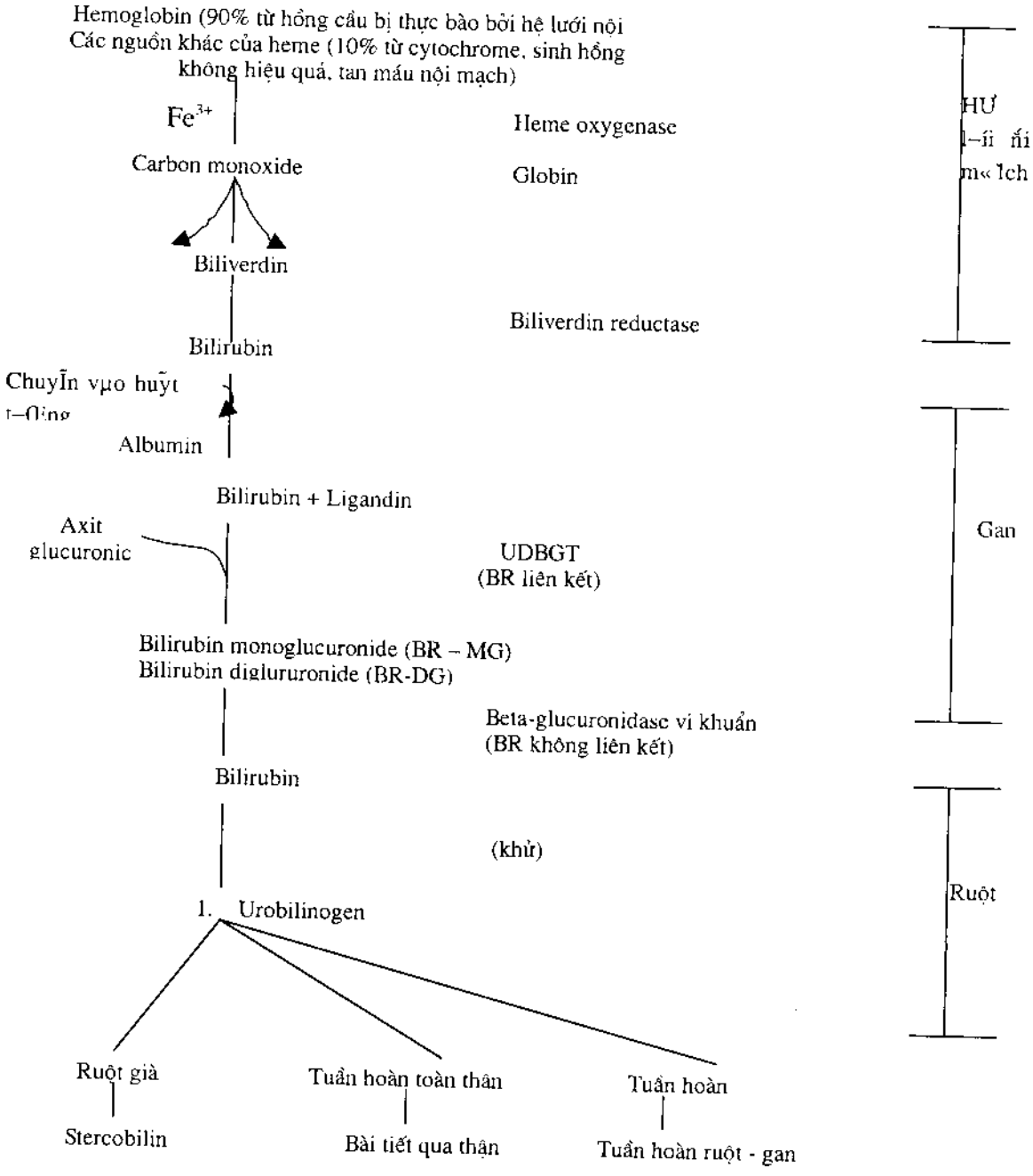
1.2.1.4. Chuyên chở ngoài gan, biến dưỡng và bài tiết

Sau khi bài tiết vào mật, bilirubin liên kết đi qua gần khắp ruột non mà không bị hấp thụ hoặc biến dưỡng, vì chính sự liên kết của bilirubin ngăn chặn sự vào lại tuần hoàn toàn thân. Ở hồi tràng và đại tràng, đầu tiên enzym vi khuẩn β-glucuronidase phá vỡ liên

kết bilirubin, sau đó bilirubin bị khử thành urobilinogen không màu. Urobilinogen gần như được tái hấp thụ hoàn toàn ở ruột non và chủ yếu đi vào tuần hoàn ruột – gan. Urobilinogen tái hấp thu còn lại vào tuần hoàn toàn thân và được bài tiết qua thận. Urobilinogen nước tiểu tăng lên, ngay trước khi bắt đầu vàng da, trong trường hợp bệnh tan máu (sản xuất quá nhiều bilirubin), xuất huyết tiêu hoá, hoặc bệnh tế bào gan (tổn thương việc lấy bilinogen ra khỏi máu). Ngược lại, trong nghẽn mật hoàn toàn, tuần hoàn ruột-gan của sắc tố mật bị cắt đứt, urobilinogen nước tiểu không có. Bởi thế, định tính urobilinogen nước tiểu có thể giúp đánh giá vàng da tắc mật hay không. Dùng que nhúng có thể có dương giả đối với urobilinogen khi pH nước tiểu tăng lên và khi dùng một vài loại thuốc như procain, sulfonamid. Số lượng nhỏ urobilinogen còn ở trong khoang ruột sẽ tự oxi hoá thành urobilin và nhiều hợp chất khác bao gồm stercobilin, là sắc tố màu nâu cam đặc thù của phân. Bilirubin ít gặp trong phân trừ khi vi khuẩn chí trong ruột kém phát triển và bị biến đổi bởi kháng sinh.

1.2.1.5. Đo lường bilirubin huyết thanh

Đo lường bilirubin huyết thanh lần đầu tiên được mô tả bởi Van den Bergh vào đầu những năm 1900. Phản ứng Van den Bergh hoặc Diazo gồm nhiều bước trong đó một phân tử bilirubin kết hợp với axit sulfinalol bị diazo hoá để tạo thành phân tử nửa pyrrolase sinh màu có thể định lượng bằng quang phổ kế. Nhìn chung, bilirubin huyết thanh toàn phần tiêu biểu cho tất cả bilirubin phản ứng trong vòng 30 phút với sự hiện diện của rượu, một tác nhân làm tăng phản ứng. Bilirubin huyết thanh trực tiếp (liên kết) phản ứng khá nhanh với chất phản ứng Diazo và là phần phản ứng trong vòng một phút. Bilirubin gián tiếp được xác định bằng cách trừ bilirubin toàn phần cho bilirubin trực tiếp. Phản ứng Van den Bergh không chính xác và thường đánh giá quá cao bilirubin liên kết, đặc biệt trong các trường hợp tăng bilirubin máu nhẹ có nồng độ dưới 5mg/dl.



Hình 9-1. *Biến dưỡng bilirubin.*
(BR, bilirubin; UDPGT, disphosphoglucuronyl transferase)

Ở các BN tăng bilirubin máu liên kết nặng, trên 60% bilirubin huyết thanh có thể gắn kết đồng hoá trị vào protein huyết thanh, thường là albumin. Do đó, các BN này có phức hợp albumin-bilirubin huyết thanh tăng khá cao (còn được biết dưới tên là delta bilirubin). Thời gian bán tồn của bilirubin sấp xỉ với thời gian bán tồn của albumin, khoảng 14-21 ngày. Bilirubin này sẽ không bị loại ra khỏi cơ thể cho đến khi albumin bị thoái biến. Điều này giải thích tình trạng tồn tại của vàng da trong nhiều ngày đến nhiều tuần sau khi tình trạng tắc mật thuyên giảm, ngay cả sau khi các thông số chức năng gan khác đã cải thiện hoặc trở về tình trạng bình thường. Bilirubin liên kết tan trong nước nhiều hơn và do đó có thể xuyên qua và phân bố rộng trong hầu hết mô và dịch cơ thể. Các BN vàng da có tăng bilirubin máu trực tiếp có vẻ vàng da đậm hơn những BN bị thiếu máu tán huyết.

1.2.2. Bilirubin nước tiểu

Bilirubin liên kết được bài tiết vào nước tiểu. Vì bilirubin liên kết ít kỵ nước hơn bilirubin không liên kết và vì không gắn kết protein mạch nên được bài tiết vào nước tiểu. Ở thận, bilirubin liên kết được lọc bình thường tại vi cầu thận và đa số được tái hấp thụ bởi ống lượn gần, chỉ có 1%-2% được bài tiết vào nước tiểu. Ngược lại, bilirubin không liên kết gắn khá chặt vào albumin. Phức hợp này lớn không lọc được ở vi cầu thận, do đó không vào được nước tiểu. Bởi thế, bilirubin niệu là một chỉ số tăng bilirubin máu liên kết và có thể làm nước tiểu trở nên sẫm màu ngay cả trước vàng da toàn phát xuất hiện. Ngược lại, phức hợp delta bilirubin-albumin trong tăng bilirubin máu liên kết có thể gây vàng da kéo dài mà không có bilirubin niệu cao trong thời kỳ hồi phục vàng da cấp. Trong bệnh cảnh này, bilirubin niệu không có vì delta bilirubin gắn kết protein đồng hoá trị không được lọc và vì thế không loại trừ tăng bilirubin máu liên kết như là nguyên nhân của vàng da.

1.2.3. Xét nghiệm chức năng gan định lượng

Các BN có xét nghiệm chức năng gan qui ước bình thường nhưng lại có thể có chức năng gan giảm đáng kể. Ngược lại, chức năng gan có thể vẫn tốt ở một số BN lại có các xét nghiệm bất thường. Tuy việc định lượng dự trữ chức năng không được thực hiện thường qui trên thực tiễn lâm sàng, các xét nghiệm chức năng gan định lượng có thể giúp ích cho tiên lượng và cho các can thiệp điều trị. Vì sự xếp loại mô học theo Child-Pugh thiết kế lúc đầu để dự đoán tỷ lệ sống của BN xơ gan sau khi thiết lập sun cửa toàn thân, không thể phân biệt BN có các mức độ khác nhau của bệnh gan giai đoạn cuối. Các xét nghiệm chức năng gan định lượng có khả năng đo lường các khác biệt dự trữ chức năng để xác định BN có nhu cầu ghép gan lớn nhất.

1.2.3.1. Phẩm xanh lục indocyanine (ICG = Indocyanine Green)

Đây là một thuốc nhuộm bị gan lấy ra khỏi hệ tuần hoàn sau khi tiêm tĩnh mạch, vì chất này chỉ bị tế bào gan bắt giữ:

- Thải trừ ICG liều lượng thấp được dùng để đo lưu lượng máu qua gan.
- Dùng IGG liều cao, tiến trình hấp thụ trở nên bão hoà, việc loại ra tối đa IGG được tính toán, phản ảnh khối lượng gan chức năng hơn là lưu lượng máu trong gan.

1.2.3.2. Xét nghiệm hơi thở aminopyrine

Biến dưỡng của aminopyrine nhạy với các thay đổi trong quá trình oxyt hoá - khử, bệnh tuyến giáp, nhiễm khuẩn, thiếu aa và glutathione cũng như thiếu folate và vitamin B 12. Xét nghiệm hơi thở aminopyrine đã được dùng để tiên lượng ngắn hạn và tử vong ở BN VG do rượu.

1.2.3.3. Xét nghiệm hơi thở cafein

Xét nghiệm hơi thở cafein được so sánh với xét nghiệm aminopyrine. Thải trừ cafein có thể bị ảnh hưởng ở bệnh gan tiến triển và đã sử dụng hạn chế trong sàng lọc bệnh gan nhẹ hoặc mới khởi phát.

1.2.3.4 Xét nghiệm hơi thở 14C-galactose

Xét nghiệm hơi thở 14C-galactose là một xét nghiệm đơn giản có thể cho tiên lượng tốt trong suy gan kịch phát khi khả năng thải loại galactose (GEC) giảm. Mặt khác, đo lường hàng loạt GEC trong tiên lượng tử vong ở BN có xơ mật nguyên phát chính xác hơn bảng điểm Mayo. Tuy nhiên, trong phân tích đa biến số, tỷ lệ sống ở các BN xơ gan khác, cho thấy GEC cho thông tin ít hơn bảng điểm Child-Pugh. Không giống với ICG, GEC không dùng trong đánh giá dự trữ gan trước khi cắt đoạn gan ung thư vì một vài khối u có thể biến dưỡng galactose.

1.3. CÁC YẾU TỐ CHỈ THỊ CỦA CHỨC NĂNG TỔNG HỢP

1.3.1. Albumin huyết thanh

Albumin được tổng hợp trong nhu mô gan từ các acid amin ngoại lai hoặc sản sinh trong cơ thể, Trong lượng phân tử 69.000, nhỏ hơn globulin có vai trò rất quan trọng trong việc điều hoà cân bằng thẩm thấu giữa máu và các tổ chức xung quanh.

Về mặt định lượng, albumin là một protein lưu thông quan trọng nhất được tổng hợp bởi gan, chiếm 3/4 áp lực thẩm thấu dạng keo của huyết tương. Gan là nơi tổng hợp duy nhất với khoảng 12-15 gam mỗi ngày ở người lớn khoẻ mạnh.

Khác với albumin, cấu tạo của globulin không thuần nhất và có nhiều nguồn gốc khác nhau. Bình thường, các thành phần của globulin phân bố như sau:

Bảng 9-3. Thành phần của globulin

Điện di	Albumin	Globulin α-1	Globulin α-2	Globulin β	Globulin γ
Trên giấy	56±7,1	5,3±1,7	7,8±3	11,7±2,3	18,6±4,7
Trên thạch	56,9±4,2	5,2±0,9	7,6±1,7	6,1±1,3	21,2±3,3

Nồng độ albumin huyết tương giảm xuống ở bệnh gan cấp nặng, bệnh gan mạn và là một trong các tiêu chuẩn xếp loại của Child-Pugh trong phân độ xơ gan. Mặt khác, tình trạng giảm albumin máu cũng có thể do rối loạn đường tiêu hoá, rối loạn chức năng thận, các biến đổi kích tố, tăng thoái biến và tăng gamma globulin huyết, có thể ức chế phản hồi tổng hợp albumin. Prealbumin (hoặc prealbumin gắn kết thyroid) có thể là một chỉ số tổng hợp protein gan nhạy hơn albumin, nhất là trong suy gan cấp vì thời gian bán tồn ngắn hơn (1,9 ngày).

Bảng 9-4. Rối loạn điện di protein trong các bệnh về gan như sau:

	Albumin	**Globulin α-1**	**Globulin α-2**	**Globulin β**	**Globulin γ**
Xơ gan	↓↓		↑	↑	↑↑
VG cấp	↓	↓	↑		↑↑
Vàng da tắc mật			↑	↑↑	
Ung thư	↓		↑	↑	↑

1.3.2. Thời gian prothromblin (PT) và các yếu tố đông máu huyết thanh

Trừ yếu tố VIII, tất cả các yếu tố đông máu được tổng hợp ở gan. PT là một trong các thành phần then chốt trong bản điểm tiên lượng suy gan kịch phát và VG cấp do rượu. Nhìn chung, sự kéo dài từ hai giây trở lên hơn lô chứng được xem là bất thường. Tuy nhiên, PT không phải là chỉ số nhạy của bệnh gan mạn tính, vì PT có thể bình thường ngay cả ở BN xơ gan. Hơn nữa, độ đặc hiệu của xét nghiệm thấp khi có chứng kém hấp thu, vì các yếu tố II, VII và X phụ thuộc vào vitamin K.

Hiện nay người ta dùng tỷ suất bình thường hoá quốc tế (INR), vì tỷ suất này dựa trên các kiểu khác biệt của thromboplastin có nhiều thay đổi ở các nước khác nhau.

1.4. VAI TRÒ CỦA DẤU ẤN HUYẾT THANH AFP

UTTBG là một trong những ung thư thường gặp và ác tính nhất. Hàng năm có độ 300.000 đến 1.200.000 người mắc trên toàn thế giới, căn nguyên quan trọng của UTTBG liên quan đến phơi nhiễm trước đây với aflatoxin và các nhân tố hoá học khác, nhưng nguyên nhân chủ yếu của bệnh là VG mạn hoạt động do HBV. Tại Đài Loan, nguy cơ người mang HBsAg(+) phát triển UTTBG là 233 lần lớn hơn những người HBsAg(-).

Việc dùng AFP như là dấu ấn chẩn đoán đặc hiệu đối với UTTBG và như một phương tiện giám sát trong điều trị ở các BN UTTBG đã được xác định. Tuy nhiên,

không phải tất cả BN UTTBG đều có AFP gia tăng và gần 40% các BN UTTBG có thể có nồng độ huyết thanh bình thường.

1.4.1. Đặc điểm của AFP

AFP là kháng nguyên ung thư thai nhi đầu tiên được phát hiện và hiện nay là một dấu ấn về u thường dùng trong UTTBG nguyên phát và các ung thư tế bào mầm không sinh tinh của dịch hoàn. AFP là một glycoprotein chuỗi đơn (trọng lượng phân tử 70kd), được mô tả lần đầu như một kháng nguyên lưu hành ưu thế trong quá trình phát triển thai nhi. AFP được tổng hợp bởi túi noãn hoàng thai nhi, các tế bào nhu mô gan và các mô đường tiêu hoá có nguồn gốc lá thai trong khác. Nồng độ đỉnh của AFP huyết thanh (3mg/ml) xảy ra trong tuần mang thai thứ 12, sau đó AFP giảm xuống còn khoảng 0,1mg/ml vào lúc sinh và tiếp tục giảm cho đến nồng độ bình thường ở người lớn (<10mg/ml) vào lúc 1 tuổi.

Năm 1963, Abelev và cs lần đầu tiên mô tả sự hiện diện của α-globulin tương tự về mặt miễn dịch hoá học với AFP trong huyết thanh của chuột trưởng thành có u gan gây ra do tác nhân hoá học. Các năm sau, AFP được đo lường trong huyết thanh của BN UTTBG. Lúc đầu, các nhà nghiên cứu dùng phương pháp khuếch tán miễn dịch trên thạch có độ nhạy thấp (phát hiện khoảng 300mg/ml) và có thể phát hiện AFP trong huyết thanh khoảng 30% BN UTTBG. Phát triển phương pháp miễn dịch phóng xạ (RIA) xét nghiệm đã cải tiến độ nhạy lên gấp nhiều lần (10ng/ml) và cải thiện tương ứng theo lợi ích lâm sàng của dấu ấn.

Nhiều phương pháp miễn dịch AFP có sẵn trên thị trường về miễn dịch gắn men, cường độ phóng xạ và phát hiện khoảng 5ng/ml AFP trong huyết thanh một cách đáng tin cậy.

Thời gian bán tồn của AFP lưu hành trong huyết thanh của BN từ 4-6 ngày. Nồng độ AFP bất thường hay xảy ra ở các khối ung thư ác tính nhưng cũng có thể xảy ra ở các bệnh lành tính của các cơ quan có nguồn gốc lá thai trong, bao gồm VG, viêm đại tràng, bệnh mất điều hoà giãn mao mạch (ataxia-telangiectasia) và bệnh tyrosin máu di truyền. Tuy nhiên, nồng độ AFP huyết thanh tăng cao (>500ng/ml) hiện diện gần như tuyệt đối ở UTTBG nguyên phát và các khối u dịch hoàn không sinh tinh.

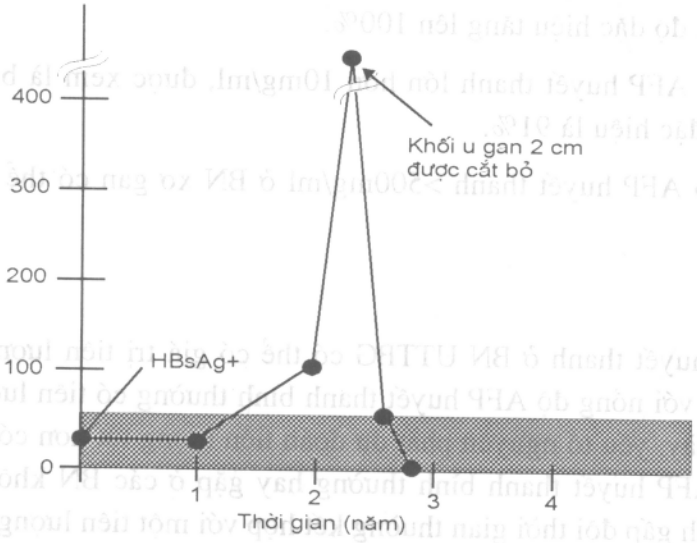
AFP tăng rất cao trong ung thư gan nguyên phát (có thể lên tới 13.500ng); tăng nhẹ, thường dưới 100ng trong VG mạn, xơ gan; trong VG virut cấp, nồng độ tăng trong 75% số trường hợp từ 10-130mg/ml.

Vì xơ gan do VG mạn là một yếu tố nguy cơ chính đối với UTTBG và vì AFP có thể tăng cao mà không có UTTBG, dùng dấu ấn này để sàng lọc sẽ gặp khó khăn trong các cộng đồng nguy cơ cao. Các nghiên cứu gần đây cho thấy AFP kết hợp với VG hoặc xơ gan trên cơ sở biến đổi trên các chuỗi bên carbonhydrat được xác định bởi việc gắn kết lectin khác nhau. Vì kỹ thuật xét nghiệm đo lường các chênh lệch của AFP này đã có sẵn, chúng có thể tăng sự hữu ích của AFP như là một phương tiện có khả năng sàng lọc.

Các BN có các khối u ác tính khác cũng có thể có nồng độ AFP cao. 20% BN ung thư dạ dày hoặc ung thư tuỵ cũng gia tăng nồng độ AFP huyết thanh một cách ý nghĩa (>5ng/ml).

1.4.2. Chẩn đoán sớm

Vào năm 1983, một báo cáo trường hợp được công bố trên Lancet chứng minh tính khả thi trong việc sàng lọc cộng đồng có nguy cơ phát triển UTTBG bằng cách xét nghiệm nồng độ AFP huyết thanh hàng loạt. Các tỷ lệ cao UTTBG nguyên phát đã được báo cáo ở thổ dân Alaska với tỷ lệ mắc hàng năm từ 7,6 đến 11,2 cho 100.000 dân. Huyết thanh từ 24 người trong một gia đình có bệnh sử UTTBG được sàng lọc mỗi 6 tháng đối với các dấu ấn của HBV và AFP. BN sau này phát triển UTTBG có HBsAg(+) và trên sàng lọc ban đầu, có nồng độ AFP huyết thanh bình thường (<25mg/ml). Hai năm sau, AFP huyết thanh tăng lên 104mg/ml, và 2 tháng sau tăng lên 667mg/ml. Các chẩn đoán hình ảnh trước mổ bao gồm CT, siêu âm và chụp X quang động mạch chọn lọc, không phát hiện được gì. Cuối cùng một UTTBG nguyên phát 2 cm, được lấy ra từ thuỳ trái của gan. Nồng độ AFP huyết thanh lúc ra viện là 25mg/ml và các xét nghiệm theo dõi sau đó cho thấy AFP giảm xuống đến 5mg/ml. Báo cáo này cho thấy tính khả thi trong việc sàng lọc các cộng đồng có nguy cơ phát triển UTTBG (BN là người mang HBV mạn). Việc đo lường đơn giản AFP huyết thanh có thể là một phương pháp sàng lọc nhạy và đặc hiệu trong việc phát hiện UTTBG sớm ở một giai đoạn mà can thiệp phẫu thuật có thể giúp tăng tỷ lệ sống của BN.



Hình 9-2. Mối quan hệ giữa HBsAg và sự phát triển khối u

Một thổ dân Alaska có nguy cơ phát triển UTTBG do bệnh sử gia đình và chính bản thân ông lại có HbsAg. Ông được theo dõi nồng độ AFP hàng năm, nồng độ AFP vẫn còn trong phạm vi bình thường (vùng tô đậm). Sau2 năm theo dõi, nồng độ AFPh1 của ông tăng lên 104 ng/ml, xét nghiệm lại và sau vài tháng nồng độ tăng lên 667ng/ml. Dù chẩn đoán hình ảnh trước mổ không phát hiện được gì, ông vẫn được mở bụng thám sát, thì thấy có một khối u gan 2 cm, khối u được cắt bỏ. Nồng độ AFP huyết thanh sau mổ trở về mức độ bình thường.

Tiếp sau, các nhà nghiên cứu khác lại cố gắng dùng AFP huyết thanh để phát hiện UTTBG ở các cộng đồng có nguy cơ cao với các kết quả đáng thất vọng. Nồng độ AFP huyết thanh có thể bình thường trong 30-50% BN UTTBG được xác định bằng sinh thiết. Trong một thiểu số BN UTTBG, nồng độ AFP huyết thanh giảm xuống cho dù khối u vẫn phát triển và ngược lại một số BN khác có nồng độ AFP cao lại không có ở bệnh gan.

Vì BN có xơ gan có nguy cơ phát triển UTTBG, nồng độ AFP huyết thanh đã được dùng trong nhóm này để chẩn đoán UTTBG. Sự tăng cao nồng độ AFP huyết thanh gặp trong khoảng 85% BN có UTTBG phát triển trên một gan xơ. Ở BN có xơ gan mà không có UTTBG, chỉ có 5% có nồng độ AFP huyết thanh tăng cao. Các kết quả dương giả này thường xảy ra ở BN xơ gan và VG mạn hoạt động. Trong một nghiên cứu tương lai về khả năng phát hiện UTTBG ở 450 BN có xơ gan, độ nhạy và độ đặc hiệu của các kết quả phụ thuộc vào việc xác định nồng độ AFP huyết thanh bình thường.

- Nếu nồng độ AFP huyết thanh được xác định lớn hơn 500mg/ml, độ nhạy giảm xuống 62% và độ đặc hiệu tăng lên 100%.
- Nếu nồng độ AFP huyết thanh lớn hơn 10mg/ml, được xem là bất thường, độ nhạy là 80% và độ đặc hiệu là 91%.

Do đó, nồng độ AFP huyết thanh >500mg/ml ở BN xơ gan có thể chẩn đoán là UTTBG.

1.4.3. Tiên lượng

Nồng độ AFP huyết thanh ở BN UTTBG có thể có giá trị tiên lượng. Một nhóm nhỏ BN có UTTBG với nồng độ AFP huyết thanh bình thường có tiên lượng tương đối tốt. Trong các BN này, yếu tố nguyên phát dự đoán tiên lượng tốt hơn có thể không có xơ gan. Nồng độ AFP huyết thanh bình thường hay gặp ở các BN không có xơ gan nền. AFP tăng nhanh gấp đôi thời gian thường kết hợp với một tiên lượng xấu.

1.4.3.1. Ung thư tái phát

Cắt bỏ khối UTTBG ở BN mang thai và xơ gan có tỷ lệ sống sót sau 2 năm là 60% và sau 5 năm là 33%. Tuy các kết quả sau khi mổ của BN UTTBG đã được cải

thiện nhờ AFP giúp phát hiện sớm khối u, tỷ lệ sống sót lâu dài sau mổ cần cải thiện thêm do khối u tái phát. Trong 41 BN được cắt bỏ tận gốc UTTBG tái phát sau đó, đo nồng độ AFP huyết thanh hàng loạt là yếu tố phát hiện tốt nhất về bệnh tái phát. Các bất thường AFP đầu tiên gặp trong 34% BN và các xét nghiệm hình ảnh gồm siêu âm và CT ít nhạy hơn nồng độ AFP, lần lượt là 17% và 2%. Tuy nhiên, trong một số BN có nồng độ AFP huyết thanh tăng cao với UTTBG ban đầu, các nồng độ AFP hậu phẫu không đủ tin cậy để phát hiện tái phát, 5/41 BN (12%) không có nồng độ AFP tăng cao dù đã có UTTBG tái phát.

Đo lường hàng loạt AFP huyết thanh trước và sau khi phẫu thuật tận gốc ở BN UTTBG có ý nghĩa đánh giá tiên lượng. Tuy nhiên, nồng độ AFP huyết thanh không luôn luôn cho thấy UTTBG tái phát. UTTBG có thể tái phát cho dù nồng độ AFP huyết thanh bình thường. Sự tổng hợp AFP khác nhau giữa các phần của cùng một khối u và khả năng của khối u bài tiết AFP có thể thay đổi cùng với sự tăng trưởng có thể là các tái phát ung thư bên trong gan thực ra là các khối u nguyên phát mới với các đặc trưng khác biệt.

1.4.3.2. Theo dõi dấu ấn với điều trị

Do không có biện pháp chống ung thư hiệu quả, nồng độ AFP huyết thanh tăng lên theo hàm số mũ thời gian gấp đôi vào khoảng 40 ngày (từ 6-120 ngày) các khối u có thời gian AFP gấp đôi nhanh hơn thì có tiên lượng xấu hơn.

Theo dõi việc cắt bỏ hoàn toàn tất cả các khối ung thư gan, nồng độ AFP giảm xuống với một thời gian bán tồn là 41 ngày và còn dưới 10mg/ml, nếu tất cả khối u đã được lấy đi. Sự bình thường hoá tự nhiên nồng độ AFP huyết thanh đã được báo cáo ở một số BN UTTBG dù khối u còn tồn tại. Đây là sự kiện bất thường nhưng có thể xảy ra ở một số BN (24%) có UTTBG di căn. Nồng độ AFP huyết thanh cũng giảm xuống với việc dùng hiệu quả biện pháp hoá học. Điều này cho phép trắc nghiệm in vivo nhanh một chế độ điều trị hoá học riêng biệt. Nếu một biện pháp hoá học nào đó hiệu quả, nồng độ AFP huyết thanh tiếp tục tăng lên dù đã điều trị chống ung thư, là do khối u đề kháng với điều trị và nên tìm một liệu pháp thay thế. Giám sát nồng độ AFP huyết thanh ở BN UTTBG tránh được việc dùng biện pháp hoá học có khả năng gây độc kéo dài mà không có hiệu quả.

Lượng giá liên tiếp nồng độ AFP huyết thanh ở BN UTTBG di căn hoặc tái phát có thể có giá trị trong giám sát đáp ứng đối với điều trị. Tuy nhiên, một số BN có thể hồi phục tự nhiên nồng độ AFP huyết thanh mà không có các thay đổi hình ảnh khối u, và những người khác, nhất là những người có bệnh gan, có thể có nồng độ AFP huyết thanh bình thường dù có bệnh. AFP đối với UTTBG, cũng như CEA đối với ung thư đại tràng, vẫn là một dấu ấn tốt nhưng không lý tưởng.

1.5. ĐO LƯỜNG PHỨC HỢP MIỄN DỊCH LƯU HÀNH

Trịnh Thị Minh Liên và cs đo lường phức hợp miễn dịch lưu hành (CIC) trong các trường hợp VG B cấp. Tuy không đặc hiệu cho một loại kháng nguyên nào riêng biệt, việc phát hiện có ý nghĩa giải thích vai trò của phức hợp miễn dịch trong một số quá trình bệnh lý hơn là dùng trong chẩn đoán. Các tác giả cho rằng những BN VG cấp có mức CIC duy trì ở nồng độ cao sẽ có tiên lượng xấu và họ cần được theo dõi để có biện pháp điều trị thích hợp.

2. XÉT NGHIỆM MIỄN DỊCH CÁC DẤU ẤN CỦA VG B

2.1. KHUẾCH TÁN MIỄN DỊCH ĐƠN (KỸ THUẬT MANCINI)

Kháng nguyên đặt vào các lỗ đục trong gel (thạch hoặc agarose) đã trộn đều với kháng thể đặc hiệu. Kháng nguyên khuếch tán xuyên tâm từ trong ra ngoài và dừng ở điểm tương đương tạo thành vòng tủa quanh lỗ. Đường kính vòng tủa tỷ lệ thuận với nồng độ kháng nguyên đặt trong lỗ, tỷ lệ nghịch với trọng lượng phân tử kháng nguyên, với nồng độ kháng thể và chiều cao của gel.

Xây dựng đường chuẩn với các nồng độ kháng nguyên chuẩn và từ đường chuẩn này có thể xác định nồng độ chưa biết của cùng kháng nguyên.

2.2. KHUẾCH TÁN MIỄN DỊCH KÉP (KỸ THUẬT OUCHTERLONY)

Kháng nguyên và kháng thể cùng khuếch tán trong gel và khi gặp nhau sẽ tạo thành đường tủa. Vì tủa này hoà tan trong lượng kháng nguyên thừa nên đường tủa hiện rõ nhất trong vùng tương đương. Vị trí của đường tủa ảnh hưởng bởi nồng độ kháng nguyên và kháng thể trong gel. Nồng độ tại chỗ của kháng nguyên hoặc kháng thể không những phụ thuộc vào lượng tuyệt đối của chúng trong lỗ mà còn phụ thuộc vào kích thước phân tử và tốc độ khuếch tán trong gel.

2.3. ĐIỆN DI MIỄN DỊCH (IMMUNOELECTROPHORESIS)

Dưới tác dụng của dòng điện, các thành phần kháng nguyên mang điện tích sẽ di động qua gel thạch, vận tốc và quãng đường tuỳ thuộc vào đặc điểm của các thành phần kháng nguyên. Sau khi các thành phần kháng nguyên được phân lập bởi dòng điện (điện di), kháng thể được đặt vào một rãnh chạy song song với hướng điện di. Từ rãnh kháng thể sẽ khuếch tán về phía các kháng nguyên và ngược lại, kháng nguyên cũng khuếch tán về phía kháng thể. Kết tủa đặc hiệu hình thành khi có một tỷ lệ tối ưu giữa kháng nguyên và kháng thể tương ứng.

2.4. ĐIỆN DI MIỄN DỊCH ĐỐI LƯU (COUNTER IMMUNOELECTROPHORESIS)

Kháng nguyên tích điện âm từ giếng ở phía cực âm và kháng thể tích điện dương từ giếng ở phía cực dương sẽ di chuyển ngược chiều nhau (đối lưu), khi gặp nhau sẽ hình thành các tủa đặc hiệu trong gel.

2.5. KỸ THUẬT NGƯNG KẾT

Kỹ thuật ngưng kết trên hạt latex: hạt polystyrene có chứa anti-HBs lấy từ thỏ. Khi gặp HBsAg trong huyết thanh sẽ cho hình ảnh kết dính.

Kỹ thuật ngưng kết hồng cầu thụ động: hồng cầu được gắn kháng thể anti-HBs, khi gặp HBsAg sẽ tạo thành các mối liên kết có thể nhận biết bằng mắt thường.

Trên đây là các kỹ thuật trước đây thường dùng trong xét nghiệm VG B. Các kỹ thuật này hiện không còn dùng trong xét nghiệm VG nữa do độ nhạy và độ đặc hiệu kém, nhưng một thời đã giúp chúng ta chẩn đoán và điều trị các BN VG.

2.6. ELISA (ENZYME-LINKED IMMUNOSORBENT ASSAY) DÙNG PHÁT HIỆN HBsAg

2.6.1. Nguyên lý

Thử nghiệm HBsAg Micro-Elisa là thử nghiệm trực tiếp, không cạnh tranh để xác định kháng nguyên bề mặt HBV, bằng cách dùng anti-HBs đơn dòng là kháng thể gắn bản để phủ các lỗ của phiến nhựa và kháng thể anti-HBs lấy từ huyết thanh cộng hợp với men peroxidase.

2.6.2. Cách tiến hành

Mẫu cần xét nghiệm được ủ với kháng nguyên gắn bản trong lỗ nhựa. Sau khi rửa lỗ nhựa để loại bỏ các chất không gắn, cho thêm cộng hợp kháng thể men và lúc đó sẽ xảy ra phản ứng giữa cộng hợp kháng thể men này với phức hợp kháng thể kháng nguyên đã hình thành trong lần ủ thứ nhất. Sau khi phản ứng kết thúc và rửa lần thứ 2, tiến hành ủ tiếp với dung dịch cơ bản của men và chất hiện màu. Nếu mẫu xét nghiệm dương, màu hiện ra.

2.6.3. Nhận định kết quả

Một mẫu xét nghiệm dương phải được làm lại. Nếu thử nghiệm lập lại có giá trị nhỏ hơn giá trị ngưỡng thì kết quả lần đầu được xem là không lập lại và không có phản ứng với HBsAg.

2.7. RIA (RADIOIMMUNOASSAY)

Năm 1972, phương pháp xét nghiệm miễn dịch phóng xạ kiểu "bánh mì kẹp chả" (sandwich) cải tiến (RIA) được phát triển bởi Overby và cs nhằm phát hiện HBsAg. Phương pháp chẩn đoán này có một độ nhạy pha loãng đến hơn 1.000 lần so với phương pháp khuyết tán trên thạch (AGD) và có thể phát hiện đến dưới 0,5 ng HBsAg/ml huyết thanh. Xét nghiệm "bánh mì kẹp chả" dùng anti-HBs gắn vào một pha rắn để bắt HBsAg từ mẫu vật và một anti-HBs thứ nhì được đánh dấu để nhận dạng kháng nguyên bị bắt. Phương pháp "bánh mì kẹp chả" vẫn còn là phương pháp

chọn lựa để phát hiện HBsAg trong phòng thí nghiệm vì cho đến nay là phương pháp nhạy và đặc hiệu cao.

2.8. MEIA

Trong thập niên vừa qua, xét nghiệm miễn dịch enzym "bánh mì kẹp chả" (EIA) đã gần như thay thế RIA. Phương pháp EIA cải tiến mới đây dùng các vi hạt (microparticles) và phương tiện vi tính cho ra các xét nghiệm miễn dịch enzym vi hạt (MEIA) HBsAg khá nhanh và hoàn toàn tự động (bảng 9-5).

Bảng 9-5. Các đặc trưng thực hiện của ba kiểu xét nghiệm miễn dịch nhằm phát hiện HbsAg

	Miễn dịch phóng xạ (RIA)	Miễn dịch enzym (EIA = ELISA)	Miễn dịch men vi hạt (MEIA)
Đọc tín hiệu	Hoạt tính phóng xạ	Màu	Huỳnh quang
Độ nhạy, ng HBsAg/ml	<0,5	<0,5	<0,5
Thời gian xét nghiệm	3 giờ	3 giờ	45 phút
Tái sản xuất, % hệ số của biến số	15	10-15	3-5
Phạm vi động lực, ng/ml	0,2-50	0,2-15	0,2-500
Tự động hoá	Không	Bán tự động	Tự động

Mặc dù các xét nghiệm HBsAg hiện nay ngày càng hoàn thiện để sàng lọc máu truyền, VG B liên quan đến truyền máu đôi khi vẫn còn được báo cáo ở Mỹ và các nơi khác. Điều này cho thấy ở một số BN nhiễm HBV nhưng có nồng độ HBsAg huyết thanh dưới mức phát hiện hoặc có các biến dị không thể phát hiện được bằng các chất phản ứng dùng trong xét nghiệm. Hiện nay nhiều đột biến HBV có các thay đổi aa trong kháng nguyên bề mặt đã được xác định. Các đột biến này được gọi là đột biến "thoát" đã được phát hiện ở các BN HBsAg (-), đặc biệt với các xét nghiệm miễn dịch trên cơ sở đơn clôn: các virut VG B bị biến đổi có các đột biến sinh ra các thay đổi trong các biểu vị được phát hiện bằng các kháng thể. Kết quả xét nghiệm cũng có thể âm tính nếu các đột biến làm chậm tốc độ sao chép virut, qua đó làm giảm HBsAg đến mức không phát hiện được trong huyết thanh. Tần số đột biến thay đổi theo vùng địa lý và có vẻ liên quan đến tình trạng BN hoặc phương pháp điều trị.

3. MÔ HỌC TRONG VG MẠN

Trong nửa cuối thế kỷ 20, sinh thiết gan ngày càng tăng với nhiều mục đích:

- Xác định chẩn đoán lâm sàng
- Đánh giá mức độ trầm trọng của tình trạng hoại tử viêm và xơ hoá

- Dự đoán các bệnh đi kèm
- Đánh giá các can thiệp điều trị

Chỉ số hoạt tính mô học Knodell (HAI), được công bố vào năm 1981, là hệ thống đầu tiên làm chuẩn cho mô tả bán định lượng, khách quan của nhiều loại tổn thương hình thái VG mạn khác nhau, chỉ số này được Ishak và cs sửa đổi vào năm 1995.

3.1. VÀI NÉT LỊCH SỬ VỀ THUẬT NGỮ VG MẠN

Hai thập kỷ trước khi ra đời chỉ số hoạt tính Knodell, mô học đã là nền tảng cho sự hiểu biết của chúng ta về mô bệnh học của VG mạn. Các mô tả và xếp loại ban đầu đã giúp chẩn đoán phân biệt VG cấp và mạn tính và dự báo diễn tiến bệnh. Dự báo diễn tiến của VG cấp hoặc mạn dựa vào sinh thiết gan là rất khó khăn, các đặc trưng mô học khá phức tạp với diễn tiến bao gồm hoại tử từng phần, thâm nhiễm tương bào, ngưng kết dạng lympho, tạo vách quanh khoảng cửa, hoại tử bắc cầu và tổn thương ống mật trong gan. Xếp loại mô học đầu tiên, được công bố bởi một nhóm quốc tế vào năm 1968, hệ thống hoá thuật ngữ VG mạn tồn tại (chronic persistent hepatitis) và VG mạn tấn công (chronic aggressive hepatitits). Cả hai bệnh bao gồm viêm khoảng cửa nhưng được phân biệt bởi độ trầm trọng của hoại tử từng phần, tình trạng viêm và tái cấu trúc gan. Hoạt tính viêm được phân độ từ trung bình đến nặng, nhưng tiêu chuẩn chính xác chưa có. Hệ phân loại cho là VG mạn tồn tại thường có tiên lượng tốt trong khi VG mạn tấn công có thể tiến triển đến xơ gan. Mặt khác, các thuật ngữ "tồn tại" và "tấn công" bao gồm nhiều nguyên nhân và không được xem là các thực thể chẩn đoán riêng biệt.

Năm 1971, Popper và Schaffner xác định giá trị sinh thiết gan trong chẩn đoán và tiên lượng và khuyến cáo dùng các mô tả định khu như VG quanh cửa mạn, VG khoảng cửa mạn, hoặc VG tiểu thuỳ mạn.

- VG quanh cửa mạn: đồng nghĩa với VG mạn tồn tại, được xem là tiến triển.
- VG khoảng cửa mạn: đồng nghĩa với VG mạn tồn tại, được xem là không tiến triển khi chưa được nghiên cứu dài hạn.
- VG mạn tiểu thuỳ: bao gồm tình trạng mô học tương tự như VG cấp, nhưng với một thời khoảng lâm sàng kéo dài hơn 3 tháng. VG này được xem là không tiến triển ngoại trừ có kết hợp với VG quanh cửa mạn tính.

Hai báo cáo khác vào những năm 1970 có liên quan đến việc xác định hình thái và tiến triển của các VG virut cấp và mạn tính, một được công bố bởi các nhà bệnh học gan quốc tế và một nhóm khác do Ishak đứng đầu. Tuy các nghiên cứu này nhấn mạnh đến các phát hiện mô học trong VG virut và tương quan lâm sàng của chúng, Ishak bàn luận về các phát hiện mới và độc đáo trong VG B mạn, bao gồm các tế bào

kính mờ, loạn sản tế bào gan và ung thư tế bào gan. Các quan sát sâu sắc của ông về VG mạn tồn tại qua các mẫu sinh thiết ở những người nghiện ma tuý bao gồm vật lạ trong đại thực bào khoảng cửa, viêm khoảng cửa có ngưng kết hoặc mang dạng lympho, hoặc bạch cầu ái toan.

3.2. VIÊM GAN MẠN

Sinh thiết gan đã giữ một vai trò quan trọng trong chẩn đoán và điều trị VG với các tiến bộ đáng ghi nhận trong sinh học phân tử và virut học. Điều này phản ánh ngôn ngữ của bệnh gan được dựa vào cơ sở bệnh học. Quan niệm như VG và xơ gan được hình dung trong thuật ngữ về các hậu quả cấu trúc xảy ra trong gan: hiện tượng viêm, phá huỷ tế bào gan, thành sẹo và tái tạo hạt. Tuy nhiên, tầm quan trọng của nguyên nhân gây bệnh ngày càng cao và sự cần thiết đánh giá hiệu quả các điều trị mới đã đưa đến các thay đổi đáng kể trong những năm gần đây.

3.3. VAI TRÒ CỦA SINH THIẾT GAN TRONG CHẨN ĐOÁN VG MẠN

Vai trò của sinh thiết rộng hơn và sinh thiết cũng được mở rộng vào các lĩnh vực nghiên cứu lâm sàng. Nhằm hiểu rõ hơn các tổn thương gan, các phát hiện bệnh học phải tương quan với số lượng virut, kiểu gen virut và với các đáp ứng miễn dịch in vitro. Theo đó, sinh thiết gan có thể góp phần quan trọng vào việc hiểu biết bệnh sinh VG virut mạn.

3.3.1. Thiết lập chẩn đoán

Lý do để sinh thiết gan ở một BN VG mạn thường nhằm thiết lập một chẩn đoán. Hiện nay, đã có các xét nghiệm nhạy và đặc hiệu đối với VG A, B,C, D, E và gần đây là VG G. Thế nhưng, dù các dấu ấn virut trong huyết thanh gợi ý căn nguyên bệnh, các dấu ấn này không chứng minh các dấu hiệu hoặc triệu chứng bệnh gan ở một BN là do virut. Đây là điều đặc biệt quan trọng ở các nước nhiễm virut thường xảy ra. Các BN nhiễm trong quá khứ hoặc hiện nay với một virut VG có thể có các tổn thương gan khá thay đổi từ thoái hoá mỡ đến các bệnh trầm trọng và tiến triển như bệnh xơ mật nguyên phát. Các xét nghiệm chức năng gan còn khá hạn chế trong sự phân biệt này.

Hơn nữa, khi một BN phơi nhiễm với nhiều tác nhân có khả năng gây bệnh, sinh thiết gan thường giúp xác định tác nhân hoạt động hơn trong việc gây ra rối loạn chức năng gan. Một thí dụ là sự tích trữ sắt dư thừa ở bệnh thalassemia. Sắt được tích trữ trong các đại thực bào ở gan và tế bào gan do hậu quả của chính căn bệnh và truyền máu nhiều lần. Tuy nhiên truyền máu cũng có thể gây truyền nhiễm HBV, HCV hoặc HDV. Thương tổn trong gan qua các tác nhân này rất khác biệt giúp cho các nhà bệnh học dự đoán tầm quan trọng tương đối của các tổn thương: tích trữ sắt gây xơ hoá khoảng cửa tiến triển với sự hình thành các vách ngăn quanh tiểu thuỳ nhưng thâm nhiễm tế bào viêm ít hơn.

Khi một BN đồng nhiễm với nhiều VG virut, các phát hiện sinh thiết thường gặp nhiều khó khăn khi phân tích. Nhiều BN có bằng chứng nhiễm với cả HCV và HBV và mỗi virut gây các thay đổi mô học cơ bản giống nhau. Trong tình huống này, phương pháp hoá miễn dịch mô của HBsAg và nhất là HBcAg rất hữu ích, trong các BN nhiễm kép là những người chỉ có bằng chứng nhiễm HBV qua sự hiện diện của anti-HBc trong huyết thanh và một hình ảnh VG hoạt động với sự hình thành nang dạng lympho gợi ý nhiều đến nhiễm HCV hơn là HBV. Ở BN nhiễm HBV và virut delta, nhuộm miễn dịch đối với kháng nguyên VG D (HDAg) là bắt buộc nhằm xác định sự hiện diện của HDV sao chép hoạt động và nhờ đó, xác định vai trò của HDV trong tiến triển của bệnh gan.

3.3.2. Sinh thiết gan cơ bản trước khi điều trị kháng virut

Mục đích của sinh thiết trong tình huống này có hai mục đích:

- Xác định khi nào BN thích hợp điều trị được đề nghị
- Phân tích bán định lượng các thay đổi sinh thiết để đánh giá tác dụng của điều trị

Quyết định điều trị BN với các thuốc kháng virut thường phụ thuộc vào hình ảnh mô học. Khi thấy có xơ gan, phải nghĩ đến tiên lượng đáp ứng với α-interferon tương đối xấu.

3.3.3. Sinh thiết gan sau điều trị trong các thử nghiệm lâm sàng

Sự cải thiện mô học thường được dùng để đánh giá hiệu quả của một phương thức điều trị VG virut mạn mới. Nhiều yếu tố ảnh hưởng đến việc xác định thời gian và đọc kết quả của một sinh thiết sau điều trị.

- Các thay đổi mô học như thâm nhiễm tế bào viêm thường cải thiện mức aminotrasferase huyết thanh khá chậm, bởi thế, không cần sinh thiết lại sớm một đáp ứng sinh hoá, nhưng nhiều tuần trước khi làm thủ thuật cần sinh thiết lại.

- Trong thử nghiệm, một số BN chỉ đáp ứng một phần hơn là toàn bộ với tái phát sau khi ngưng điều trị. Đây cũng là những điều cần cân nhắc khi quyết định sinh thiết lại. Điều trị ngắn hạn với thuốc tương tự nucleosit như lamivudine thường chỉ ức chế sao chép virut trong lúc điều trị. Tuy nhiên, lợi ích ức chế sao chép virut lâu dài có thể đánh giá được qua sinh thiết gan trong giai đoạn điều trị thuyên giảm.

Giải thích các thay đổi sinh thiết sau điều trị bị hạn chế bởi khả năng sai số chọn mẫu:

- Tổn thương của VG mạn thường không được phân bố cân đối. Các thay đổi cấu trúc như tạo nốt không nhất thiết phải lan toả khắp gan. Thế nên, hình ảnh mô học được cải thiện hoặc trầm trọng thêm chỉ ở một BN dễ dẫn đến sai lầm.

• Tác dụng của thuốc kháng virut phải dựa vào một số lượng BN đủ lớn, trong đó sai số chọn mẫu cần giảm thiểu. Thông tin dự báo của số lượng mẫu đầy đủ cũng quan trọng vì các mẫu sinh thiết từng phần hoặc nhỏ thường có sai số chọn mẫu.

Chẩn đoán tổn thương gan do thuốc cũng có chỉ định sinh thiết. Các thuốc kháng virut có thể tự nó gây độc. Ribavirin có thể gây tích tụ sắt trong gan và α-interferon có thể tạo thành u hạt. Thuốc giống nucleosit fialuridine (FIAU) bị ngưng thử nghiệm sau khi gây ra suy gan trong 7 BN. Thuốc đã làm tăng toan huyết lactic với tổn thương ty thể lan toả và ứ mỡ vi nang.

3.3.4. Sinh thiết gan như một phương tiện theo dõi

Ngoài thử nghiệm lâm sàng, BN có thể cần sinh thiết gan. Sinh thiết liên tiếp nhiều lần thường không cần một khi chẩn đoán VG virut mạn đã được xác định. Tuy nhiên, sinh thiết có thể cần làm lại sau vài năm để hiểu biết diễn tiến mô học chắc chắn hơn. Một vai trò quan trọng sinh thiết là để xác định sự phát triển của xơ gan và để chẩn đoán các biến chứng, nhất là UTTBG.

3.3.5. Sinh thiết gan ở các BN có xét nghiệm chức năng gan bình thường

Hiện nay các BN VG đã được ghi nhận có nhiều tổn thương mô học trầm trọng nhưng có thể có chức năng gan bình thường. Bởi thế, aminotrasferase huyết thanh bình thường, cũng không chống chỉ định đối với sinh thiết chẩn đoán. Nếu aminotranferase huyết thanh còn bình thường với bằng chứng nhiễm virut tồn tại, sinh thiết nhiều lần với các thời khoảng dài có thể cần thiết trong theo dõi diễn tiến bệnh.

3.4. CÁC ĐẶC TRƯNG CHẨN ĐOÁN TRÊN SINH THIẾT GAN

3.4.1. Chẩn đoán

VG mạn đã được xác định như : sự tồn tại của tổn thương gan thường kết hợp với các mức độ aminotrasferase gia tăng hoặc các dấu ấn virut quá 6 tháng". Không có tiêu chuẩn nào luôn rõ ràng và có thể dùng được cho các nhà bệnh mô học báo cáo về một sinh thiết gan. Bởi thế, họ phải dùng các tiêu chuẩn mô học nhằm quyết định về tình trạng mạn càng rõ ràng càng tốt và các thay đổi thấy được có phải là các thay đổi do nhiễm virut hay không ? Nếu các thay đổi mô học và các số liệu lâm sàng cho thấy VG mạn, các bằng chứng mô học về tác nhân gây bệnh phải được nghĩ đến.

3.4.2. Chẩn đoán phân biệt

Xác định VG virut cấp không luôn dễ dàng, nhất là trong nhiễm VG C, vì trong các biến đổi của bệnh thường kết hợp với bệnh mạn (thâm nhiễm tế bào lympho ưu thế trong khoảng cửa) trong ít tháng đầu; trong khi VG tiểu thuỳ nặng trong VG cấp lại có tình trạng kịch phát của bệnh mạn tính.VG cấp với hoại tử bắc cầu do bất cứ

nguyên nhân nào có thể khá giống với xơ gan khi khám bên ngoài. Nhuộm các sợi đàn hồi có thể giúp phân biệt vì các sợi này hiếm gặp trong tình trạng cấp mà thường tích tụ trong vách ngăn mạn tính. Sự lẫn lộn giữa bệnh nặng cấp và bệnh mạn tính có thể giải thích tại sao VG tự miễn thường có sinh thiết gan lần đầu khá ấn tượng, dù có bệnh sử tương đối ngắn. Ngược lại, xơ gan có thể bị chẩn đoán lầm với hoại tử ồ ạt có tái tạo hạt, như trường hợp bệnh Wilson có diễn tiến kịch phát. Một nguyên nhân gây nhiễu khác có thể là do VG cấp với hoại tử quanh cửa, rất giống VG mạn với VG mặt phân giới (hoại tử từng phần). Điều này đặc biệt hay gặp trong VG A. ứ mật tiểu quản (ứ bilirubin), thường gặp trong VG cấp do bất cứ nguyên nhân nào nhưng hiếm gặp trong các thể mạn tính.

VG virut mạn phải được phân biệt với một số bệnh gan mạn khác, bao gồm bệnh Wilson, bệnh thiếu hụtα_1-antitrypsin, các bệnh đường mật. Sự giống nhau khiến cho một nhóm công tác năm 1994 về VG mạn xếp các bệnh này vào các nguyên nhân của VG mạn.

- Bệnh Wilson phải luôn được xem là một nguyên nhân tiềm tàng của bệnh gan mạn ở bất cứ tuổi nào và cần được chẩn đoán loại trừ bằng các phương tiện thích hợp.

- Bệnh thiếu hụt α_1-antitrypsin, các tiểu cầu (globute) đặc trưng có thể được xác định bằng cách nhuộm Schiff (axit periodic HIO_4) sau khi dùng men diastase. Phương pháp không nhạy như phương pháp nhuộm miễn dịch và đôi khi không biểu hiện được các tiểu cầu.

- Bệnh đường mật phải được nghi ngờ ở bất cứ BN nào mà sinh thiết cho thấy ống dẫn mật nhỏ đi rõ rệt hoặc có khi mất hẳn. Các đặc trưng khác gợi ý là tăng sinh tiểu quản trung tâm và ứ mật mạn tính.

3.4.3. Xác định xơ gan

Xác định xơ gan là một vai trò quan trọng của sinh thiết. Các BN xơ gan "còn bù" có thể không có các biểu hiện lâm sàng đặc trưng của giai đoạn bệnh. Tuy không luôn luôn chứng minh được sự hiện diện của xơ gan trên sinh thiết, nhưng các biểu hiện mô học có thể rất gợi ý. Các đặc trưng bao gồm mẫu mô bị phân đoạn quá mức, mô xơ tại các bờ của các mảnh nhu mô, các mạch máu và khung reticulin bị xoắn lại, sự thay đổi kích cỡ và hình dáng tế bào gan ở các khu vực khác nhau và sự hiện diện của loạn sản tế bào gan. Khoảng cửa có thể hình thành kém. Trong một sinh thiết có cấu trúc hạt ở nơi này và cấu trúc tuyến nang (acini) ở nơi khác thường được chẩn đoán xơ gan không hoàn toàn.

3.4.4. VG B

Các hình dạng bên ngoài của VG B rất thay đổi. Trong giai đoạn ban đầu của tình trạng sao chép virut cao thường có hoạt tính khá thấp, tăng lên trong chuyển huyết thanh HBeAg/anti-HBe và thấp trở lại trong thời kỳ tiếp theo của tình trạng sao

chép virut thấp. Các đặc trưng thường gặp trong VG B nhiều hơn các nhiễm virut khác bao gồm thay đổi trong kích cỡ nhân tế bào gan, loạn sản tế bào gan và việc tiếp xúc chặt chẽ giữa tế bào gan và tế bào lympho. Các tế bào lympho có thể xuất hiện ngay cả trong bào tương của tế bào gan. HBsAg thường được phát hiện trong nhiễm HBV mạn, nhưng nhuộm miễn dịch có thể âm tính trong mẫu sinh thiết bằng kim do sai số chọn mẫu. Các phương pháp nhuộm theo kinh nghiệm như orcein và xanh Victoria ít nhạy cảm hơn các kỹ thuật hoá miễn dịch mô đặc hiệu. Trong các BN virut sao chép cao, HBsAg có thể được phát hiện trong hoặc gần các màng huyết tương của tế bào gan. Nhuộm dương bản đối với HBcAg cho thấy sao chép virut hoạt động và thường tương quan với HBV DNA trong huyết thanh phát hiện bằng phương pháp lai phân tử. Nhuộm bào tương đối với HBcAg tương quan với tổn thương mô học. Sự hiện diện của HBcAg trong các tế bào gan ở BN anti-HBe(+) là bằng chứng tốt của nhiễm virut có đột biến lõi không biểu hiện HBeAg.

Bội nhiễm hoặc đồng nhiễm với tác nhân delta (HDV) thường kết hợp với tình trạng mô học hoạt động và đôi khi có hoại tử đa tuyến nang.

3.5. CHẨN ĐOÁN PHÂN BIỆT VG MẠN TRÊN MÔ HỌC

Các đặc trưng mô học của các loại VG mạn khác nhau thường tương đồng. Tuy nhiên, các kết hợp của các hình ảnh mô học có thể giúp nhà bệnh học đưa ra nguyên nhân nhiều khả năng nhất. Điều này rất có lợi khi hai hoặc nhiều tác nhân cùng có mặt trong một BN, hoặc khi khó phân biệt giữa hai nguyên nhân trên nền lâm sàng hoặc huyết thanh. Một thí dụ điển hình của nền huyết thanh học là VG mạn ở các BN nhiễm HCV có thêm các tự kháng thể.

3.5.1. VG tự miễn

Hình ảnh điển hình của VG tự miễn không được điều trị là một hình ảnh VG nặng có tổn thương tiểu thuỳ lan toả, thâm nhiễm giàu các tương bào, hình thành các "hoa hồng" của VG, và hoại tử hợp dòng bắc cầu. Các nang dạng lympho có thể gặp. Một chẩn đoán xơ gan giả cũng có thể xảy ra khi dựa vào các thay đổi cấu trúc lan toả do hoại tử bắc cầu mới, và việc quan sát cẩn thận mô liên kết cần để xác định độ tuổi của tổn thương. Trong một số trường hợp, VG sẽ được chứng minh có nguồn gốc gần đây.

Tuy nhiên, mô tả trên có lẽ chưa đầy đủ. VG tự miễn có thể có mức độ trầm trọng khá thay đổi và việc phát hiện một VG nhẹ hơn trên sinh thiết không loại trừ chẩn đoán một VG mà nguyên nhân còn chưa chắc chắn.

3.5.2. VG mạn do thuốc

Đôi khi Vg mạn tiến triển do thuốc. Các đặc trưng mô học không giúp xác định nguyên nhân. Bởi thế, thể VG này có thể được nghĩ đến trong bất cứ VG mạn nào mà nguyên nhân chưa được chứng minh.

3.5.3. VG C

Trong những năm đầu nhiễm virut, các thay đổi mô học thường nhẹ. Các khoảng cửa bị thâm nhiễm bởi các tế bào lympho cùng một ít bạch cầu ái toan và các tế bào bạch cầu khác. VG mặt phân giới (hoại tử từng phần) có thể có mặt. Có các mức độ tổn thương tiểu thuỳ thay đổi trong cơ thể thâm nhiễm tế bào viêm hình sin khu trú hoặc lan toả, cùng với tổn thương tế bào gan trong dạng chết tế bào hàng loạt và sự biến mất tế bào gan bên trong các ổ viêm. Điều đặc sắc là sự hình thành các nang dạng lympho bên trong khoảng cửa. Các nang này có thể là sự kết tụ đơn giản các tế bào lympho, hoặc các nang khá phức tạp với các trung tâm mầm. Bên trong hoặc gần các nang thường có tổn thương nhỏ ống dẫn mật trong dạng không đều và tạo không bào (vacuolation) của thượng bì và thâm nhiễm các tế bào lympho. Đôi khi, tổn thương nặng hơn, nhưng phá huỷ ống dẫn mật hoàn toàn và mất ống dẫn mật rộng ít xảy ra. Thoái hoá mỡ thường gặp và nhẹ. Vật liệu giống thể Mallory đã được mô tả trong các tế bào gan và có các u hạt trong các khoảng cửa hoặc nhu mô trong một số ít BN.

Hình ảnh mô học này được xác định nhưng không hoàn toàn có ý nghĩa chẩn đoán. Các nang dạng lympho cũng có thể được thấy trong xơ mật nguyên phát, VG tự miễn và nhiễm HBV, tuy ở nhiễm HBV, các nang dạng lympho thường ít được tạo thành đầy đủ như trong VG C. Nhuộm hoá miễn dịch mô các kháng nguyên liên quan đến HCV đã được thực hiện, thường trong đông lạnh hơn trong vật liệu áo paraffin, nhưng sự khan hiếm protein virut khá rõ so với VG B cho đến nay đã ngăn cản sự phát triển của các phương pháp miễn dịch mô hoá học thường qui có thể tin cậy được.

Đôi khi, VG nặng hơn và có thể xác định diễn tiến của tổn thương dẫn đến xơ gan. Bởi thế, mức độ hoại tử viêm trên sinh thiết ban đầu có thể cung cấp thông tin tiên lượng quan trọng cho các nhà lâm sàng. Xơ gan là hậu quả thường gặp của nhiễm HCV nhưng phải cần nhiều năm hoặc ngay cả nhiều thập kỷ để hình thành. Các nang dạng lympho có thể còn có mặt, góp một bằng chứng đối với nguyên nhân của xơ gan.

3.5.4. VG G (GBV-C)

Đến nay, các số liệu về các đặc điểm mô học của nhiễm virut VG G còn chưa đầy đủ. Nhiễm virut thường kết hợp với nhiễm HCV, vì cả hai virut được lan truyền theo đường máu. Các số liệu sơ bộ cho thấy trong các BN đồng nhiễm với cả hai virut, các đặc trưng mô học không thể phân biệt với các đặc trưng của nhiễm HCV đơn thuần.

3.6. PHÂN ĐỘ CÁC HÌNH ẢNH SINH THIẾT GAN

3.6.1. Cách dùng bảng cho điểm

Thói quen đánh số đối với các đặc trưng mô học đã có từ lâu. Các điển hình là phân độ thoái mỡ và phân giai đoạn của xơ mật nguyên phát. Trong VG mạn, cho

điểm bán định lượng các đặc trưng mô học trong những năm gần đây thường được dùng trong các thử nghiệm lâm sàng. Theo lý thuyết, việc cho điểm phải được mở rộng để báo cáo thường qui các sinh thiết gan, nhưng có các lý do chống lại việc này.

- Các tiêu chuẩn này có thể sẽ thay đổi qua thời gian, do bản chất khá chủ quan của các tiêu chuẩn. Các khác biệt có thể lớn hơn nếu có nhiều nhà quan sát vào các thời điểm khác nhau. Bởi thế, các số liệu có thể dẫn đến sai lầm.

- Các con số có thể không cần thiết nếu mục tiêu của sinh thiết là để xác định hoặc loại bỏ một chẩn đoán.

- Việc cho điểm tốn nhiều thời gian, dù nhà quan sát có nhiều kinh nghiệm và việc cho điểm có thể phải được cân nhắc cho các lợi ích nào. Hiện nay, theo nhiều tác giả, việc cho điểm chủ yếu chỉ là một phương tiện nghiên cứu lâm sàng.

3.6.2. Các hệ thống cho điểm

Các hệ thống được đề ra để cho điểm các sinh thiết trong VG mạn thay đổi từ cái đơn giản với phạm vi tương đối hạn chế đến các lược đồ khá chi tiết phức tạp. Một phương pháp thuật toán dựa trên cơ sở hoại tử từng phần và tổn thương tiểu thuỳ cũng đã được đề nghị. Các phương pháp bán định lượng đơn giản có thể có sai số của chính người quan sát và giữa các tác dụng của một liệu pháp nào đó trong các thử nghiệm. Tuy nhiên, khó mà so sánh giữa các số liệu phát sinh từ các nhà quan sát khác nhau trong các trung tâm khác nhau. Bởi thế, mỗi trung tâm có thể chọn một hệ thống nào đó mà họ thích.

Knodel và cs đã công bố một bảng điểm mô học của mẫu sinh thiết gan bán định lượng và có thể làm lại được. Các tác giả có 2 mục tiêu:

- Cung cấp một phương pháp học và thuật ngữ học để thay thế hoặc bổ sung cho bảng điểm được đánh giá theo định tính.

- Phát triển một phương tiện nhằm đánh giá các mẫu sinh thiết liên tiếp ở các BN không triệu chứng nhằm theo dõi diễn tiến bệnh hoặc đáp ứng với các can thiệp điều trị.

Nghiên cứu này thực hiện trên 14 mẫu sinh thiết của 5 BN (1 VG B và 4 VG KAKB) trong 3 năm. Chỉ số hoạt tính mô học (HAI) gồm 3 loại hoại tử - viêm và một cho tình trạng xơ hoá. Tổng số các điểm số sẽ là số điểm cuối cùng hoặc còn gọi là chỉ số hoạt tính mô học (HAI). Một sự thay đổi ± 4 giữa các mẫu sinh thiết liên tiếp được xem là có ý nghĩa.

Trong phân loại đầu tiên, hoại tử bắc cầu và quanh khoảng cửa có 7 mức độ xếp loại nặng dần lên, trong khi 3 phân loại sau đó chỉ có 4 mức độ. Việc này giúp cân nhắc thận trọng hơn khi phân loại I, vì hoại tử quanh cửa (từng phần) và hoại tử bắc cầu là chỉ thị của sự tiến triển đến xơ gan. Một điểm thú vị trong sự hình thành chỉ số hoạt tính mô học gan là sử dụng một thang giá trị không liên tục trong tất cả 4 phân

loại. Bởi thế, 7 mức độ trong phân loại đầu được cho điểm từ 0 đến 10 nhưng bỏ 2 và 7-9. Tương tự, các mức độ trong các phân loại khác được cho điểm từ 0-4 nhưng không có 2. Các khác biệt ở chính nhà quan sát và giữa các nhà quan sát khá nhỏ, nhưng các khác biệt giữa các nhà quan sát khá đáng kể khi thuật ngữ qui ước được áp dụng cho các mẫu sinh thiết tương tự.

Bảng 9-6. Chỉ số hoạt tính mô học Knodell dành đánh số các mẫu sinh thiết gan

	I. Hoại tử bắc cầu ± hoại tử khoảng cửa (KC)	Đ[c]	II. Thoái hoá liên tiểu thuỳ và hoại tử từng vùng	Đ	III. Viêm KC	Đ	IV. Xơ hoá	Đ
A	Không	0	Không	0	Không viêm KC	0	Không xơ hoá	0
B	Hoại tử từng phần nhẹ	1	Nhẹ (thể ưa axit, thoái biến bong bóng và/hoặc hoại tử tế bào từng vùng rải rác <1/3 các tiểu thuỳ hoặc các nốt)	1	Nhẹ (các tế bào viêm rải rác trong <1/3 KC)	1	Mở rộng KC xơ hoá	1
C	Hoại tử từng phần trung bình (thương tổn <50% chu vi của đa số KC	3	Trung bình (thương tổn từ 1/3-2/3 tiểu thuỳ hoặc nốt)		Trung bình (các tế bào viêm tăng lên từ 1/3-2/3 KC)	3	Hoại tử bắc cầu (liên kết cửa-cửa hoặc cửa-trung tâm)	3
D	Hoại tử từng phần nhiều (thương tổn >50% chu vi của đa số KC	4	Nhiều thương tổn >2/3 tiểu thuỳ hoặc nốt)	4	Nhiều (dày đặc các tế bào viêm >2/3)	4	Xơ gan (b)	4
E	Hoại tử từng phần trung bình và hoại tử bắc cầu [c]	6						
F	Hoại tử từng phần nhiều và hoại tử bắc cầu [c]	10						
G	Hoại tử nhiều tiểu thuỳ [d]							

Ghi chú: Chỉ số hoạt tính mô học là số điểm chung của các hiện tượng hoại tử, viêm và xơ hoá

[a] Thái hoá: Các thể ưa axit, thái hoá dạng bong bóng, các ổ hoại tử từng vùng rải rác của hiện tượng hoại tử tế bào gan.

[b] Mất cấu trúc tiểu thuỳ gan bình thường với các vách xơ hoá phân chia bao quanh các nốt.

[c] Bắc cầu được xác định ≥ 2 cầu trong mẫu gan; không phân biệt liên kết cửa-cửa –và cửa trung tâm.

[d] Hai hoặc nhiều tiểu thuỳ tiếp giáp nhau có hoại tử toàn tiểu thuỳ (panlobular).

[e] Điểm

Về sau, có nhiều công trình đánh giá hoạt tính mô học khác như của Scheuer năm 1991, Ludwig năm 1993, Ishak năm 1994, nhóm METAVIR ở Pháp năm 1994.... Và còn nhiều hệ thống cho điểm các cải tiến khác hoặc phối hợp với nhau mà sự chọn lựa tuỳ theo nhà mô học.

Một hệ thống phức tạp hơn được dùng bởi nhóm METAVIR ở Pháp cũng là một hệ thống có giá trị mà sai số giữa các người quan sát có thể được giảm thiểu. Nhóm này cho là việc cho điểm phải có hai nhà quan sát làm việc chung và đồng ý trên các tiêu chuẩn cho điểm theo chi tiết đã đưa ra trước. Các nhà quan sát tương tự phải đánh giá các mẫu sinh thiết trước và sau điều trị, tốt nhất là trong một khoảng thời gian tương đối ngắn.

Trong thực tiễn, một số trung tâm đã chấp nhận chỉ số hoạt tính mô học (HAI) đề ra bởi Knodell và Ishak (bảng 9-7) trong nghiên cứu các BN VG mạn không có triệu chứng. Hệ thống này gần đây đã được xem xét lại và cố gắng làm rõ các tiêu chuẩn cho mỗi điểm.

Bảng 9-7. Chỉ số hoạt tính mô học (bảng điểm Knodell và Ishak) trong VG mạn

Đặc trưng mô học	Mức độ tổn thương	Số điểm
1. Hoại tử quanh cửa, gồm các hoại tử, từng phần (HTTP) và/hoặc hoại tử bắc cầu (HTBC)	Không	0
	HTTP nhẹ	1
	HTTP trung bình	3
	HTTP quan trọng	4
	HTTP + HTBC trung bình	5
	HTTP + HTBC quan trọng	6
	Hoại tử nhiều tiểu thuỳ	10
2. Hoại tử trong tiểu thuỳ	Không	0
	Nhẹ	1
	Trung bình	3
	Nặng	4
3. Viêm khoảng cửa	Không	0
	Nhẹ	1
	Trung bình	3
	Nặng	4
4. Xơ hoá	Không	0
	Lan đến khoảng cửa	3
	Xơ hoá	4
Điểm tối đa		22

Có các phương pháp khác định lượng các thay đổi mô học, bao gồm việc gom lại các đặc trưng mô học nhằm tạo nên các loại mức độ trầm trọng và đo lường trực tiếp các thay đổi khác nhau trên các quang trường. Bất cứ hệ thống nào được dùng cho một nghiên cứu, các nhà nghiên cứu phải khảo sát có phê phán các đặc trưng trong đó và bảo đảm các đặc trưng này là cần và đủ để cung cấp thông tin cần thiết vào cuối nghiên cứu.

3.6.3. Phương pháp cho điểm

Khi một hệ thống phù hợp đã được chọn và một qui ước được thống nhất, phương pháp cho điểm phải được dự kiến. Điều này có nghĩa là tất cả các mẫu sinh thiết (trước và sau điều trị) phải được khảo sát chung và các nhà quan sát phải biết hoặc không biết việc điều trị ở mỗi BN. Một chọn lựa cần xác định là các nhà quan sát biết mẫu nào trước, mẫu nào sau điều trị. Tuy nhiên, trong đa số nghiên cứu, các nhà bệnh học quan sát các mẫu sinh thiết một cách ngẫu nhiên, không biết lý lịch BN, cách điều trị, hoặc xác định thời gian bệnh.

3.6.4. Phân tích kết quả

Một khi bộ điểm đã có vào cuối một thử nghiệm lâm sàng, các kết quả cần được tính toán một cách thích hợp. Sự phân chia độ và giai đoạn hiện nay đã được chấp nhận rộng rãi. Tuy nhiên, ngay cả trong hệ thống chia độ, cần cân nhắc cẩn thận trong phương pháp phân tích. Dùng hệ thống cho điểm của Knodell và cs được cải biến bởi Ishak và cs như một ví dụ, chia độ được phân chia làm 4 phần: quanh cửa hoặc hoại tử quanh vách (hoại tử từng phần, VG mặt phân cách), hoại tử hợp dòng và viêm khoảng cửa. Các phần này được cho điểm lần lượt 0-4, 0-6, 0-4, 0-4. Trong mỗi phần, các số biểu thị các loại trong một chuỗi hơn là đo lường hoặc các biến số liên tiếp. Thế nên, viêm khoảng cửa độ 2 thì nhiều hơn viêm khoảng cửa độ 1 và ít hơn độ 3, nhưng với một gia số không chắc chắn. Các gia số không là các đo lường nhưng biểu thị một thứ bậc trầm trọng. Hơn nữa, ý nghĩa thật sự của các điểm khác nhau trong bệnh sinh và tiến triển của xơ gan còn chưa chắc chắn. Hoại tử hợp dòng có thể rất có ý nghĩa đến nỗi ngay cả độ 1 phải được xem xét một cách nghiêm túc. Mặt khác, viêm khoảng cửa có thể ít quan trọng và chỉ có các điểm cao hơn mới có ý nghĩa trong tiên lượng BN.

Bảng 9-8. Thí dụ về sự phân độ để minh hoạ (hư cấu)

BN	Các thành phần phân độ				Cộng
	1	2	3	4	
A (trước điều trị)	2	0	3	1	6
(sau điều trị)	3	1	0	2	6
B (trước điều trị)	3	1	2	2	8
(sau điều trị)	3	1	2	1	7
C (trước điều trị)	1	2	2	1	6
(sau điều trị)	2	2	1	3	8

Các điểm trong 4 thành phần phân độ có thể được đánh giá riêng lẻ. Việc thêm vào các điểm trong một BN cho chỉ định gần đúng mức độ trầm trọng của quá trình hoại tử viêm, nhưng không chỉ định bất cứ cái gì trong các dạng của hoại tử hoặc viêm ưu thế. Sau đó, việc tính toán và so sánh các điểm phân độ toàn bộ là không thích hợp và có khả năng dẫn đến sai lầm. Vấn đề này được minh hoạ trong các thí dụ giả tưởng theo bảng 9-8. BN A có điểm phân độ chung là 6, BN B là 8 và BN C là 6. Sau khi điều trị, các điểm chung lần lượt là 6,7, và 8, cho thấy rằng BN A không thay đổi mức độ hoại tử viêm, BN B có vẻ có cải thiện và BN C hình như xấu đi. Hiện nay trên quan điểm tiến triển của bệnh, thành phần quan trọng thực sự là BN thứ 3. Diễn tiến đã cải thiện ở BN A, không thay đổi ở BN B và cải thiện nhẹ ở BN C. Phân tích các thành phần riêng lẻ đã cung cấp thông tin quan trọng, trong khi các tính toán dựa trên tổng số điểm phân độ dễ dẫn đến sai lầm.

Có một lý do khác nhằm nhấn mạnh các thành phần phân độ riêng lẻ hơn là tổng số điểm. Các thuốc kháng virut và các chế độ phối hợp thuốc dùng trong điều trị VG virut mạn (gồm α-IFN và các thuốc tương tự nucleosit như lamivudine, famciclovir và ribbavirin) tác dụng theo các kiểu khác nhau trên các virut, hệ thống miễn dịch của BN và sự hấp thụ của mô liên kết gan, và đánh giá các thành phần mô học riêng lẻ có thể giúp làm sáng tỏ tác dụng trên quá trình bệnh của các điều trị khác nhau.

3.7. PHÂN CHIA GIAI ĐOẠN CÁC HÌNH ẢNH SINH THIẾT GAN

Phân chia giai đoạn ít khó khăn hơn phân độ vì chỉ có một thành phần. Sai số giữa các nhà quan sát đã cho thấy ít hơn. Sự phân chia này phản ánh mức độ tiến triển của bệnh dựa vào mức độ xơ hoá. Khi xơ hoá tiến triển đến nỗi vách xơ bao quanh các hạt nhu mô và làm thay đổi cấu trúc bình thường của tiểu thuỳ gan, tổn thương mô học được xác định là xơ gan. Phân chia giai đoạn dựa vào mức độ xơ hoá như sau:

0 = Không có xơ hoá

1 = Xơ hoá nhẹ

2= Xơ hoá trung bình

3=Xơ hoá nặng, gồm cả hoại tử bắc cầu

4=Xơ gan

3.8. TÓM TẮT CÁC PHƯƠNG PHÁP VÀ TIÊU CHUẨN CHO ĐIỂM

Đánh giá bán định lượng các đặc trưng mô học là một phần tử của thử nghiệm lâm sàng được chấp nhận. Có nhiều lược đồ khác nhau và một lược đồ thích hợp cần được chọn lọc phù hợp với các yêu cầu riêng biệt của mỗi nghiên cứu.

Bảng 9-9. Các tiêu chuẩn cho điểm bán định lượng

Thể vùi của các đặc trưng mô học thích hợp
Bỏ qua các đặc trưng mô học không xác thực
Định nghĩa rõ ràng tiêu chuẩn cho điểm của mỗi thành phần
Thoả thuận các tiêu chuẩn trước khi bắt đầu nghiên cứu
Phân tích từng phần việc chia độ (hoại tử viêm) và chia giai đoạn (các thay đổi cấu trúc)
Phân tích riêng lẻ các thành phần chia độ khác nhau
Các phương pháp thống kê thích hợp

Cho điểm phải được thực hiện bởi một hoặc hai nhà quan sát, những người khảo nghiệm các mẫu sinh thiết trước và sau điều trị. Trong trường hợp có hai nhà quan sát, họ phải đồng ý trên các tiêu chuẩn mô học trước khi bắt đầu nghiên cứu. Các kết quả cho mỗi thành phần của phân độ phải được phân tích riêng lẻ và các điểm phân độ tổng cộng không được vận dụng theo kiểu toán học. Vấn đề sai số giữa các nhà quan sát phải được lưu ý khi so sánh kết quả của các nghiên cứu khác nhau.

4. SINH HỌC PHÂN TỬ TRONG CHẨN ĐOÁN VG VIRUT

Chẩn đoán VG virut đã được cải tiến đáng kể do 4 yếu tố:

1. Phát triển các xét nghiệm huyết thanh nhạy với kháng nguyên virut
2. Xác định các tác nhân mới (virut VG D, C, E và gần đây G/GB-C)
3. Các bộ gen virut được nhân dòng, mở ra phương thức chẩn đoán dựa vào sinh học phân tử.
4. Cải tiến và đơn giản hoá các kỹ thuật lai phân tử cùng với việc phát triển các xét nghiệm nhạy với axit nucleic virut.

4.1. CÁC KỸ THUẬT

4.1.1. Tinh khiết axit nucleic virut

DNA hoặc RNA có thể được trích từ huyết thanh, huyết tương, các bạch cầu đơn nhân máu ngoại vi (BCĐNMNV) và các mô, bằng các kỹ thuật thường qui (phenol-chloroform với DNA, guanidinium-thiocyanate với RNA). Các phương thức mới và

nhanh hơn cũ đã có. Tuy nhiên, phải luôn nhớ axit nuclic tinh chế kém sẽ không đáp ứng cho kỹ thuật phân tích.

DNA và RNA cũng có thể được trích ra từ các mẫu gan được áo bằng parafin với điều kiện các mẫu này được cố định với paraformaldehyt. Các chất cố định khác cũng dùng được, nhưng phải tránh dung dịch axit picric vì làm biến đổi axit nucleic.

4.1.2. Các đoạn dò

Các đoạn dò phóng xạ đã được dùng rộng rãi sau khi phát triển dịch mã nấc và các phương thức đánh dấu mẫn cảm sơ bộ ngẫu nhiên với độ tin cậy và độ nhạy tốt.

Các đoạn dò không hoạt tính phóng xạ cũng thuận lợi và hiện được dùng rộng rãi khi phân tích các sản phẩm DNA được khuếch đại, nhờ đó cho phép phát triển các bộ chẩn đoán. Tuy nhiên, việc sử dụng còn hạn chế so với thấm tách Southern cổ điển do độ nhạy thấp hơn.

4.1.3. Sự phát hiện của các bộ gen virut (bảng 9-10)

Bảng 9-10. Phân tích so sánh các xét nghiệm HBV DNA và HCV RNA hiện dùng

	Mức thời gian	*Độ nhạy*	*Giá trị định lượng*
HBV			
Phương pháp lai chuẩn	*1-2 ngày*	*10^5/ml*	*+*
PCR	*1-2 ngày*	*=10/ml*	*±*
bDNA	*2 ngày*	*=10^3/ml*	*++*
LCR	*2 ngày*	*=10/ml*	*+*
HCV			
PCR	*1-2 ngày*	*=10/ml*	*++*
bDNA	*2 ngày*	*10^4-10^5/ml*	*++*
NASBA	*2 ngày*	*=10^4/ml*	*++*

4.1.3.1. Phát hiện các bộ gen lai

Trong tất cả xét nghiệm, bộ gen virut được phát hiện bằng phương pháp lai trong môi trường đặc hoặc lỏng. Sự phát hiện trên các giá đỡ đặc có thể thực hiện bằng một xét nghiệm lọc qua một màng nylon (như xét nghiệm điểm hoặc đốm) hoặc với xét nghiệm thấm tách Southern (thấm tách khe là một biến thể của thấm tách điểm trong đó dung dịch DNA được tải vào một giếng dạng thẳng). Các xét nghiệm trên cơ sở điểm và vi đĩa là đơn giản và phù hợp khi phân tích số lượng mẫu lớn. Với sự di tản ưu tiên trên gel agaroza, xét nghiệm Southern sẽ giúp phân ly phân tử virut theo trọng lượng phân tử. Kết quả là xét nghiệm có thể dùng để xác định tình trạng DNA virut trong các tế bào gan. Đây không phải là một phương thức khó, nhưng cần các

điều kiện kỹ thuật tối hảo để có lợi ích thực sự (thí dụ để phát hiện 1pg HBV-DNA và để xác định rõ các dải hiệu HBV yếu). Sự giải thích có thể khó khăn do lây nhiễm DNA tế bào với DNA plasmit vi khuẩn chứa trong gan; các DNA này sẽ lai với DNA của plasmit vectơ (gồm cả đoạn dò HBV DNA), sẽ còn hiện diện trong dung dịch HBV DNA bất chấp tất cả các bước tinh khiết và vì thế cũng sẽ được đóng gói có HBV lồng vào. Việc kiểm soát bao gồm trong sự lai trở lại (rehybridization) của cùng bộ lọc có đoạn dò, chỉ được làm bằng DNA plasmit (không có vật lồng vào).

Phương pháp thấm tách Southern cũng có thể dùng để phân tích các sản phẩm khuếch đại sau PCR và qua việc đánh giá kích cỡ DNA khuếch đại, tìm sự tái sắp xếp bộ gen virut.

4.1.3.2. Định lượng

Các phương thức định lượng còn đang được thử nghiệm nhưng đã được cải tiến nhiều cùng với sự phát triển của PCR, bDNA định lượng và các xét nghiệm khuếch đại trên cơ sở chuỗi mã axit nucleic (NASBA=nucleic acid sequence-based amplification). Trên thực tế có hai vấn đề chung cần phân biệt, bản thân sự định lượng và chọn lựa các nhóm chứng. Các phương pháp sau đây đã được dùng:

- Bán định lượng dựa trên cơ sở phân tích bằng số đo tỷ trọng.
- Đếm các lọc được lai
- Lai lỏng: DNA mạch đơn hoặc kép được tách ra sau khi lai trên cột. Phương pháp lai lỏng có thể được thực hiện trên vi đĩa (microplate) giúp phát hiện đơn giản và nhanh.

Một trong các điểm khó khăn nhất là lựa chọn các nhóm chứng để định lượng. DNA thường dùng được trích từ các dòng tế bào nuôi cấy chứa một số lượng các bộ gen virut đã biết cho mỗi tế bào. Các thực khuẩn thể tái tổ hợp có thể là một thay thế thú vị do bắt chước chặt chẽ các hạt HBV. Cũng cần ghi nhận một vài xét nghiệm như các xét nghiệm điểm và vết, DNA được tinh khiết (không có protein kết hợp) sẽ thực hiện một cách khác biệt với xét nghiệm các hạt toàn vẹn. Các mẫu huyết thanh của BN hoặc hắc tinh tinh nhiễm virut có thể được dùng, nhưng chuẩn độ chỉ cho một đánh giá thô. Hơn nữa, cần nhớ huyết thanh của những người nhiễm virut chứa một hỗn hợp hạt virut toàn vẹn và khiếm khuyết, có thể khiến đánh giá quá cao số lượng các hạt nhiễm virut.

4.1.4. Các xét nghiệm mới phát hiện nhanh các axit nucleic

4.1.4.1. PRC

Phản ứng chuỗi polymerase (PCR) giúp khuếch đại chọn lọc các chuỗi mã DNA hoặc RNA ngắn (hình 9-3). Các chuỗi mã này sau đó có thể được xác định và được nhân dòng bởi phương pháp lai qui ước và các phương thức DNA tái tổ hợp. PCR là

một công cụ khá mới trong sinh học phân tử, nhất là khi phát minh ra máy thermocycler (chu kỳ nhiệt được điều chỉnh tự động) và sử dụng một DNA polymerase có khả năng chịu đựng dao động nhiệt độ khá cao như Taq (lấy từ một vi khuẩn chịu nhiệt Thermus aquaticus = Taq). Kỹ thuật có nhiều lợi ích:

1. Chỉ cần một lượng nhỏ vật chất (huyết thanh hoặc mô), 1-5g DNA hoặc 1-5g RNA là đủ
2. Khuếch đại thường rất hiệu quả (10^6 đến 10^9)
3. Phương thức nhanh, chỉ tốn từ 1-3 ngày
4. Axit nucleic được khuếch đại có thể được nhân dòng và được xác định chuỗi mã nhằm xác định đặc điểm chính xác và nhanh.

• Một xét nghiệm PRC bao gồm một chuỗi các chu kỳ khuếch đại (bình thường từ 20 đến 40 chu kỳ). Mỗi chu kỳ gồm 3 giai đoạn:

• Đầu tiên là biến tính axit nucleic, biến axit nucleic thành dây đơn.

• Kế đó là phản ứng của đoạn mồi gắn vào đầu dây chuỗi mã đối xứng với chuỗi mã khuôn mẫu (template) để có phân tử DNA mới, gọi là quá trình quấn đoạn mồi với DNA đơn.

• Cuối cùng là kéo dài dây mới nhờ đoạn mồi.

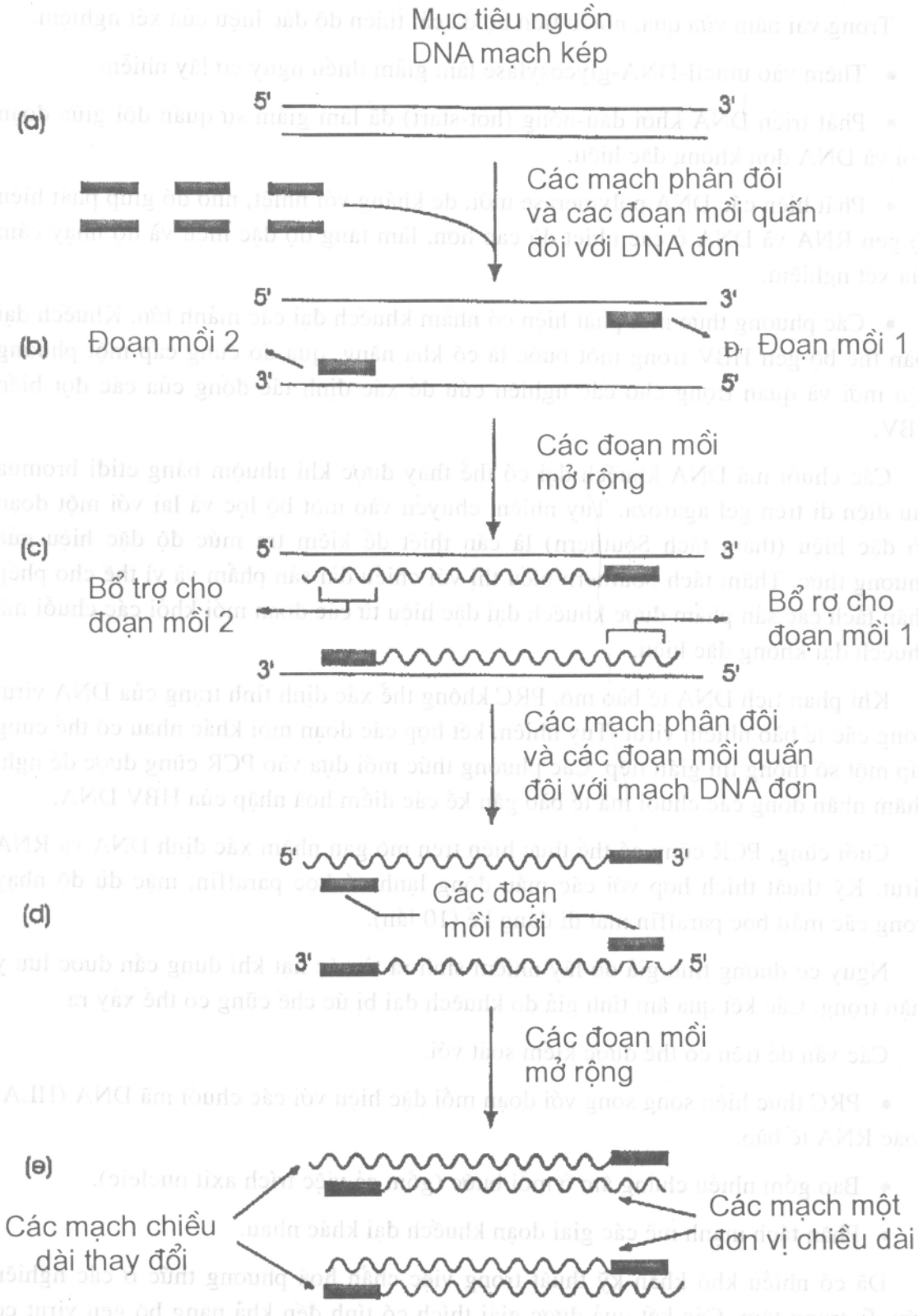
Sự sử dụng Taq polymerase cho phép phương pháp được thực hiện ở nhiệt độ cao (72^0C), qua đó làm tăng sự khởi đầu PRC ở một nhiệt độ cao (còn gọi là PCR khởi đầu nóng), làm tăng độ nhạy và độ đặc hiệu của xét nghiệm bằng cách giảm tối thiểu sự bắt cặp với DNA đơn không đặc hiệu của các đoạn mồi. Nếu cơ chất là RNA, có một bước phụ: một mạch của cDNA hỗ trợ cho phân tử RNA mục tiêu được tổng hợp từ đoạn mồi ngược hướng (antisense); điều này theo sau phương thức PCR bình thường sau khi thêm vào đoạn mồi thứ nhì. cDNA có thể được tổng hợp lần lượt qua các phương tiện mẫn cảm ban đầu ngẫu nhiên, với việc thêm vào sau đó hai đoạn mồi đặc hiệu.

Thiết kế tối ưu của các đoạn mồi là quan trọng cho sự thành công của kỹ thuật PCR. Chuỗi mã của một đoạn mồi được chọn theo các nguyên tắc sau đây:

• Chiều dài của đoạn mồi phải từ 20 đến 30 bazơ.

• So sánh tất cả các chuỗi mã có sẵn cho phép thiết kế các đoạn mồi khiến chúng bổ trợ cho các vùng bộ gen được bảo tồn ở các thể virut phân lập khác nhau. Nhờ đó, giảm thiểu các kết quả âm tính giả do biến dị di truyền.

• Hai đoạn mồi phải không có các chuỗi mã bổ trợ cho nhau và điều này sẽ làm đoạn mồi quấn với DNA đơn để hình thành thể dây quấn đôi. Nếu điều này xảy ra, các dimers này, đúng hơn là DNA hoặc RNA mục tiêu, sẽ được khuếch đại (tạo nên cái gọi là dimers đoạn mồi) và sẽ giảm hiệu quả của xét nghiệm.



Hình 9-3. Khuếch đại chuỗi mã mục tiêu

Trong vài năm vừa qua, nhiều tiến bộ đã cải thiện độ đặc hiệu của xét nghiệm:

- Thêm vào uracil-DNA-glycosylase làm giảm thiểu nguy cơ lây nhiễm.
- Phát triển DNA khởi đầu-nóng (hot-start) đã làm giảm sự quấn đôi giữa đoạn mồi và DNA đơn không đặc hiệu.
- Phát hiện các DNA polymerase mới, đề kháng với nhiệt, nhờ đó giúp phát hiện bộ gen RNA và DNA ở các nhiệt độ cao hơn, làm tăng độ đặc hiệu và độ nhạy cảm của xét nghiệm.
- Các phương thức mới phát hiện có nhằm khuếch đại các mảnh lớn. Khuếch đại toàn thể bộ gen HBV trong một bước là có khả năng, qua đó cung cấp một phương tiện mới và quan trọng cho các nghiên cứu để xác định tác động của các đột biến HBV.

Các chuỗi mã DNA khuếch đại có thể thấy được khi nhuộm bằng etiđi bromua sau điện di trên gel agaroza. Tuy nhiên, chuyển vào một bộ lọc và lai với một đoạn dò đặc hiệu (thấm tách Southern) là cần thiết để kiểm tra mức độ đặc hiệu của phương thức. Thấm tách Southern biểu thị với chiều dài sản phẩm và vì thế cho phép phân tách các sản phẩm được khuếch đại đặc hiệu từ các đoạn mồi khỏi các chuỗi mã khuếch đại không đặc hiệu.

Khi phân tích DNA tế bào mô. PRC không thể xác định tình trạng của DNA virut trong các tế bào nhiễm virut. Tuy nhiên, kết hợp các đoạn mồi khác nhau có thể cung cấp một số thông tin gián tiếp. Các phương thức mới dựa vào PCR cũng được đề nghị nhằm nhân dòng các chuỗi mã tế bào gần kề các điểm hoà nhập của HBV DNA.

Cuối cùng, PCR cũng có thể thực hiện trên mô gan nhằm xác định DNA và RNA virut. Kỹ thuật thích hợp với các mẫu đông lạnh có bọc paraffin, mặc dù độ nhạy trong các mẫu bọc paraffin mất đi đáng kể (10 lần).

Nguy cơ dương tính giả do lây nhiễm sinh ra từ các hạt khí dung cần được lưu ý thận trọng. Các kết quả âm tính giả do khuếch đại bị ức chế cũng có thể xảy ra.

Các vấn đề trên có thể được kiểm soát với:

- PRC thực hiện song song với đoạn mồi đặc hiệu với các chuỗi mã DNA (HLA) hoặc RNA tế bào.
- Bao gồm nhiều chứng âm ở mỗi bước (gồm cả việc trích axit nucleic).
- Phân tách mạnh mẽ các giai đoạn khuếch đại khác nhau.

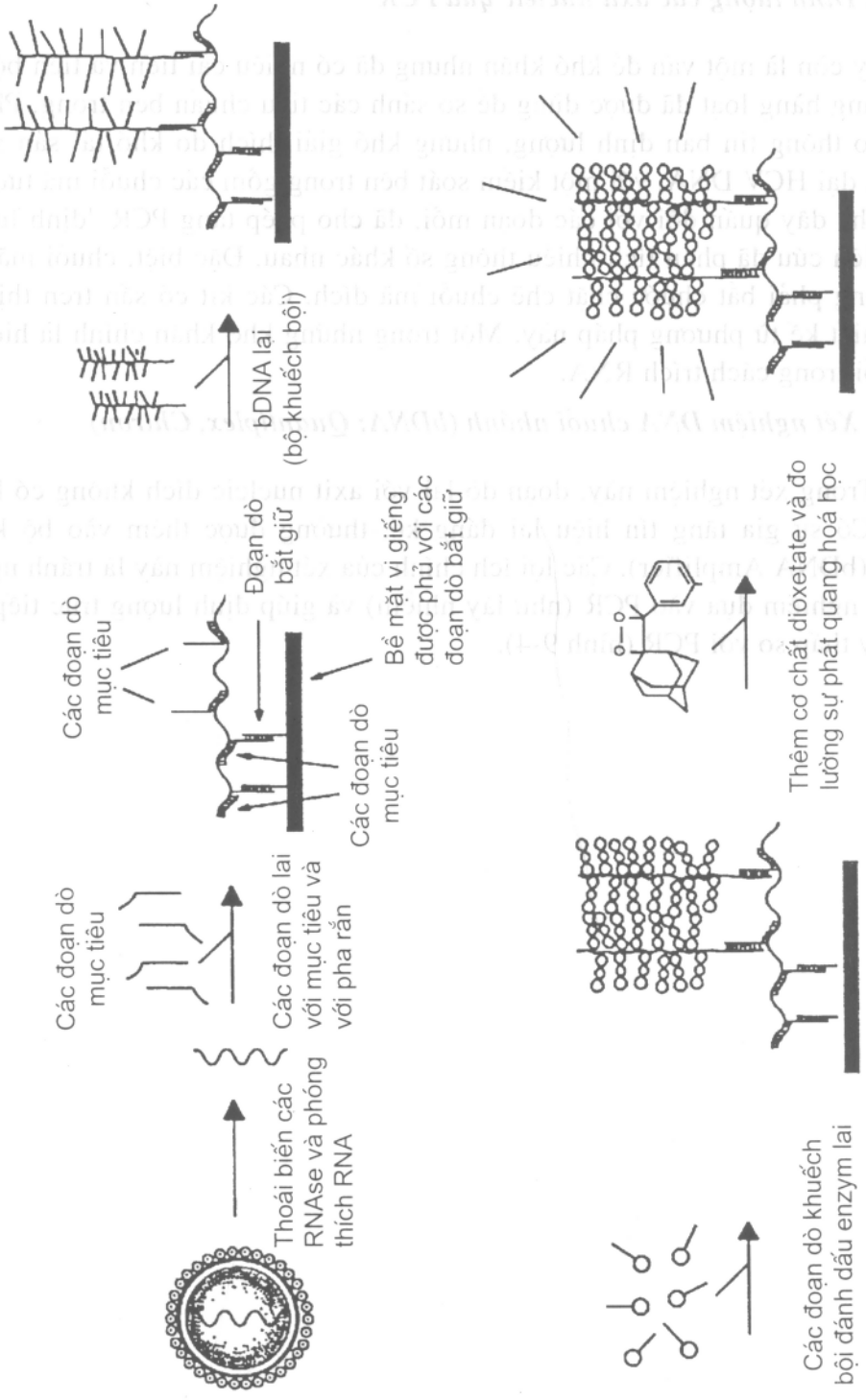
Đã có nhiều khó khăn kỹ thuật trong việc chẩn hoá phương thức ở các nghiên cứu đa trung tâm. Các kết quả được giải thích có tính đến khả năng bộ gen virut có mặt trong các hạt virut khiếm khuyết cũng như toàn vẹn.

4.1.4.2. Định lượng các axit nucleic qua PCR

Đây còn là một vấn đề khó khăn nhưng đã có nhiều cải tiến và tiến bộ. Lúc đầu, pha loãng hàng loạt đã được dùng để so sánh các tiêu chuẩn bên trong. Phương thức này cho thông tin bán định lượng, nhưng khó giải thích do khó tái sản xuất. Đồng khuếch đại HCV DNA, với một kiểm soát bên trong gồm các chuỗi mã tương tự hình thành thể dây quấn đôi với các đoạn mồi, đã cho phép tăng PCR "định lượng". Một số nghiên cứu đã phân tích nhiều thông số khác nhau. Đặc biệt, chuỗi mã kiểm soát bên trong phải bắt chước chặt chẽ chuỗi mã đích. Các kit có sẵn trên thị trường đã được thiết kế từ phương pháp này. Một trong những khó khăn chính là hiệu quả khá thay đổi trong cách trích RNA.

4.1.4.3. Xét nghiệm DNA chuỗi nhánh (bDNA: Quantiplex, Chiron)

- Trong xét nghiệm này, đoạn dò lai với axit nucleic đích không có khuếch đại trước. Có sự gia tăng tín hiệu lai đáng kể, thường được thêm vào bộ khuếch đại bDNA (bDNA Amplifier). Các lợi ích chính của xét nghiệm này là tránh nguy cơ của các xét nghiệm dựa vào PCR (như lây nhiễm) và giúp định lượng trực tiếp. Trở ngại độ nhạy thấp so với PCR (hình 9-4).



Hình 9.4 *- Khuếch đại tín hiệu bDNA*

Huyết thanh BN (50µl) được trực tiếp đưa vào bộ vi đĩa 96 giếng. Một hỗn hợp proteinase K, SDS và các đoạn dò mục tiêu và bắt giữ được thêm vào các giếng, ủ ở nhiệt độ 63^{0}C qua đêm và rửa. Các bộ khuếch đại bDNA được thêm vào, ủ ở nhiệt độ 53^{0}C và rửa. Sau đó, các đoạn dò alkalin phosphatase được thêm vào, lại rửa và thêm vào một cơ chất hoá học phát quang.

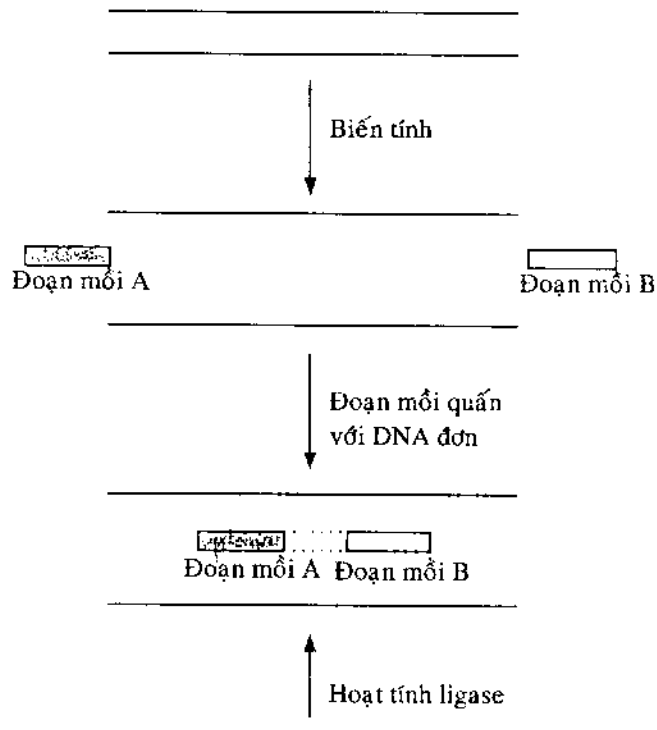
4.1.4.4. Các kỹ thuật khác

Các kỹ thuật khác ít dùng trong phát hiện virut VG nhưng có thể là các thay thế khá thú vị. Nguyên tắc của chúng đã được mô tả.

Phân tích phân đoạn DNA định lượng: Schlager và cs dùng phương pháp phân tích phân đoạn DNA định lượng (QFA, Quantitave DNA Fragment Analysis) để phân tích các đột biến nhỏ. Bằng QFA, bộ gen virut sẽ được quét để tìm sự hiện diện của các đột biến mất đoạn và xen đoạn từ 3 nt trở lêm và chiếm khoảng hơn 2% cộng đồng virut. Các tác giả đã dùng nhiều đoạn mồi (29 đoạn mồi) cho nhiều vị trí nt khác nhau. Phương pháp gồm các bước sau:

- Tinh khiết các hạt virut trong huyết thanh bằng siêu ly tâm
- Toàn bộ chuỗi mã bộ gen HBV được khuếch đại bằng PCR dài (long PCR).
- Các sản phẩm PCr được tiêu hoá bởi Mbo1
- Các mảnh giới hạn được đánh dấu cuối (end-labeled) với fluorescein-11-dUTP
- Các mảnh được phân tích phân đoạn với độ phân giải cao trên máy phân tích chuỗi mã DNA tự động được trang bị phần mềm GENESECAN 672 (ABI/Perkin-Elmer) .

Xét nghiệm dựa trên phản ứng chuỗi ligase (ligase chain reaction = LCR, Abbott) (hình 9-3) giúp phát hiện trực tiếp thêm vài đột biến.



Hình 9-5. Phản ứng chuỗi ligase (LCR)

Khuếch đại dựa vào chuỗi mã axit nucleic (NASBA, Organon Teknica) (hình 9-4) đặc biệt là một phát hiện nhạy và định lượng của phân tử DNA và RNA.

4.1.5. Phương pháp lai in situ

Sự phối hợp của mô học gan và sinh học phân tử giúp phát hiện bộ gen virut và xác định vị trí các tế bào nhiễm virut. Hiện nay có thể dùng đoạn dò có phóng xạ hay không phóng xạ. cDNA, RNA và các đoạn dò oligonucleotit là phù hợp. Phương pháp lai in situ phụ thuộc nhiều vào số lượng và mức độ phức tạp của bộ gen virut. Bởi thế, cần xác định chính xác các điều kiện thực nghiệm cho mỗi loại virut (như các điều kiện được dùng để phát hiện HCV RNA trong phòng thí nghiệm được Lamas và cs đề nghị).

Thế nên, lai in situ chưa thể được xem là một xét nghiệm chẩn đoán thực sự, nhưng có thể đưa ra nhiều thông tin về các kiểu tế bào và về bệnh sinh của bệnh gan do virut. Một vấn đề khác của phương pháp này là bảo tồn hình thái tế bào gan trong các bước lai. Cuối cùng, PCR gần đây đã được báo cáo là có thể áp dụng trong phát hiện in situ. Đây có thể là gợi ý quan trọng nhưng chỉ được chứng minh trên các chế phẩm tế bào được phân lập.

4.2. SỰ PHÁT HIỆN DNA VIRUT VG B

4.2.1. Sự phát hiện HBV DNA không có khuếch đại trước

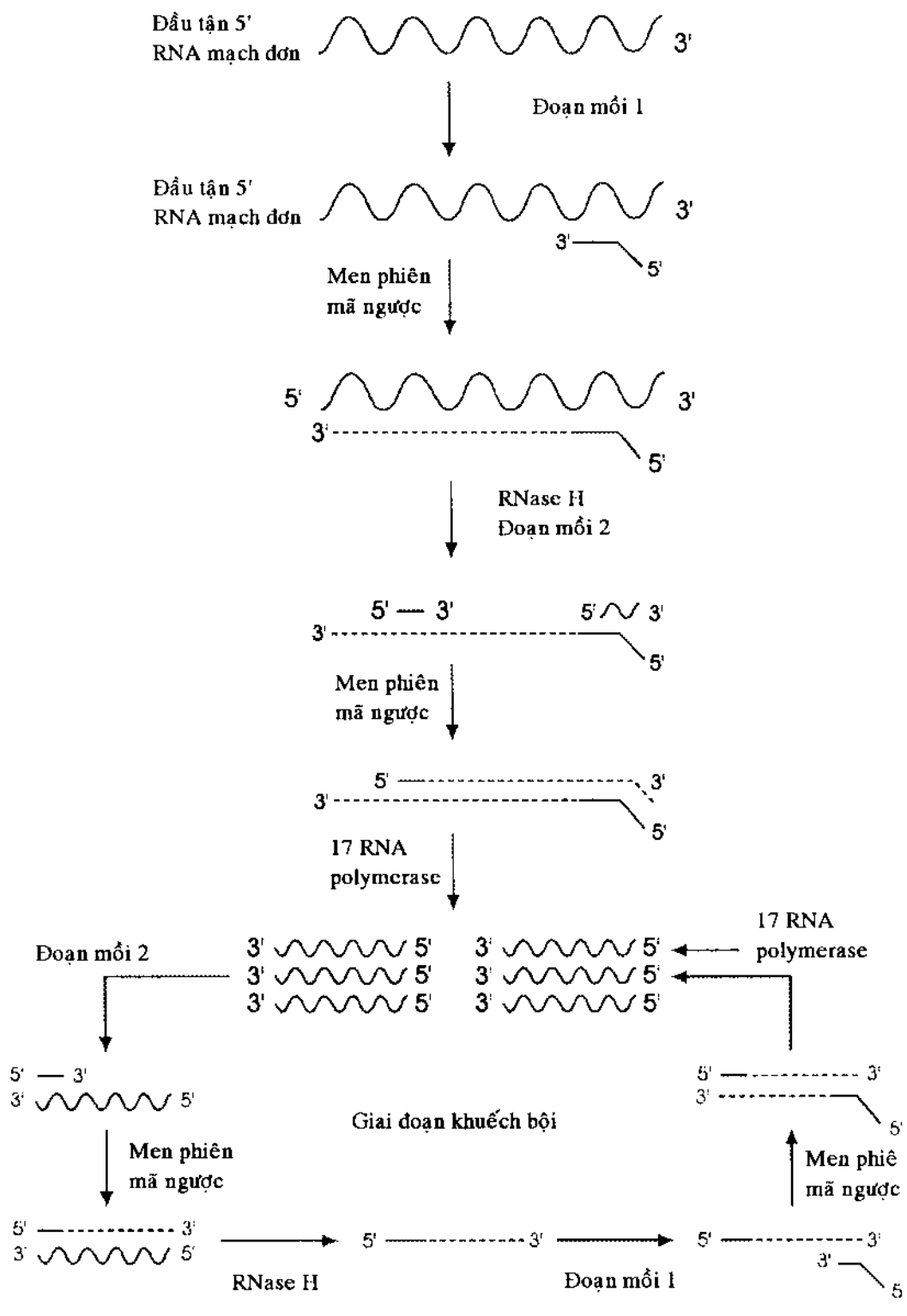
Xét nghiệm chấm (sport test) cổ điển đã là phương pháp tham chiếu hiện nhạy và trực tiếp DNA virut huyết thanh hoặc huyết tương: các phương pháp mới gần đây đã được đưa ra trên cơ sở tạo dòng lai trong dịch lỏng. DNA virut được phát hiện trong huyết thanh nằm trong các hạt virut. Các xét nghiệm chấm hoặc các kỹ thuật tạo dòng lai trong dịch lỏng, vi đĩa, hoặc kỹ thuật bDNA phát hiện khoảng 10^5 hạt mỗi mililit. Các phương pháp mới này cũng giúp đánh giá định lượng DNA virut.

Việc phát hiện HBV DNA đã giúp đánh giá trực tiếp diễn tiến bệnh và có nhiều lợi ích quan trọng trong phát hiện HBcAg và kháng thể tương ứng (anti-HBe)

4.2.2. Các BN có kháng nguyên bề mặt VG B dương

Các nghiên cứu dựa vào các xét nghiệm thấm tách Southern và thấm tách điểm, cũng như các xét nghiệm dùng phương pháp miễn dịch mô hoá học và lai in situ, đã phác hoạ sự nhân lên của HBV và tình trạng DNA virut trong diễn tiến virut.

Thấm tách Southern có thể xác định nhiễm HBV sao chép trên cơ sở sự có mặt của các chất trung gian sao chép HBV DNA bào tương tự do cùng với HBV DNA huyết thanh chứa trong các hạt Dane gây nhiễm. Thấm tách Southern cũng có thể phát hiện sự hoà nhập DNA virut vào bộ gen vật chủ tuỳ thuộc vào việc các kiểu DNA giới hạn có phù hợp với sự mở rộng clôn của tế bào nhiễm virut hay không. HBV DNA siêu xoắn, một dạng DNA virut tồn tại trong các tế bào, cũng có thể được phát hiện nếu proteinase K lấy ra khỏi dung dịch đệm phân giải. Các phân tử khác cũng đã được chứng minh, bao gồm HBV DNA đơn phân tự do được phát hiện trong gan khi sao chép virut sắp chấm dứt.



***Hình 9-6.** Khuếch đại dựa trên chuỗi mã axit nucleic (NASBA)*

Các chuỗi mã HBV DNA hoà nhập gặp trong các mô khối u ở đa số BN có UTTBG: sự hoà nhập có trước khi phát triển khối u và đã được xác định trong các BN VG mạn. Tuy nhiên, sự hoà nhập HBV không liên quan đến tình trạng sao chép virut và thường chỉ trên một ít tế bào nhiễm virut. Điều này cho phép giả định sự hoà nhập liên quan đến việc tái tạo tế bào gan (sao chép DNA tế bào) và sự mở rộng một vài tế bào nhiễm virut có thể là do điểm hoà nhập trong DNA bộ gen và biểu hiện gen virut. Các kiểu DNA gặp trong vài BN xơ gan có thể giúp chứng minh sự tăng sinh clôn như thế. Cuối cùng, sự hiện diện của các điểm hoà nhập ưu tiên trong DNA tế bào vẫn còn là giả thuyết.

Cả hai HBV DNA tự do hoà nhập có thể gặp trong cùng một mẫu gan, tuy nhiều DNA virut tự do sẽ cản trở việc phát hiện các thể hoà nhập. Lai in situ đã cung cấp một phương pháp xác định một tế bào gan chứa các phân tử sao chép HBV DNA trong bào tương (DNA virut hoà nhập thường không thể phát hiện với các kỹ thuật này).

Sự phát hiện HBV DNA trong các kiểu tế bào khác nhau đã cho thấy virut phải có một tính hướng tế bào rộng hơn suy nghĩ ban đầu. HBV DNA được phát hiện trong tuỷ xương người, các BCĐNMNV, tuyến tuỵ, da, tinh dịch và thận. Tình trạng DNA virut trong các tế bào này chưa được chứng minh, tuy HBV DNA đơn phân tự do hầu hết đã được xác định. PCR không thể phát hiện siêu xoắn của DNA virut đã dẫn đến việc xem lại các giả thuyết này, lại nổi lên các vấn đề lây nhiễm các hạt HBV tự do vào các chế phẩm BCĐNMNV, dù đã khá cẩn thận trong các phương thức bào chế. Tuy nhiên, nhiều yếu tố củng cố cho giả thuyết nhiễm HBV của các BCĐNMNV: HBV RNA đã được dẫn chứng rõ ràng bằng phương pháp lai in situ. Hơn nữa, tình trạng DNA virut trong virut BCĐNMNV khác biệt với tình trạng trong các hạt HBV huyết thanh, vì đa số DNA đơn phân tự do được xác định trong các tế bào này, cùng với các thể có trọng lượng phân tử cao mà bản chất còn chưa rõ. Còn ít thông tin về các kiểu tế bào liên quan, tuy các tế bào lympho T (CD4 và CD8+) và B, cũng như các BCĐNMNV, dương tính trong các xét nghiệm này. Tình trạng HBV DNA trong các tế bào ngoài gan còn chưa được biết nhiều; tuy nhiên có bằng chứng là BCĐNMNV nhiễm virut có thể gây tái nhiễm mẫu gan ghép và chọn lọc một vài đột biến HBV.

Cuối cùng, các biến dị di truyền cả bộ gen HBV đã xuất hiện với một số biểu hiện lâm sàng khác nhau. PCR kèm theo phân tích chuỗi mã để xét nghiệm các đột biến trong các phần bộ gen khác nhau với các đột biến tiếp cận đã được xác định trong màng bao, capsit, polymerase và các chuỗi mã hoá X, cũng như trong các chuỗi mã điều hoà như là gen khởi động lõi. PCR, cùng với việc phân tích chuỗi mã trực tiếp hoặc nhân dòng các sản phẩm PCR, đã là một phương tiện xét nghiệm đối với tác động lâm sàng của các đột biến này.

4.2.3. Các đối tượng HBeAg(+)

Những người HBeAg huyết thanh dương thường có DNA virut sao chép hoạt động, được chứng minh bằng sự có mặt của HBV DNA trong huyết thanh và các phân tử trung gian DNA sao chép trong gan. Tuy nhiên, một thành phần đáng kể các

đối tượng này không có HBV DNA huyết thanh phát hiện được. Tần số phát hiện thường liên quan với thời khoảng và mức độ trầm trọng của bệnh gan. Độ 10% các đối tượng HBcAg(+) có VG mạn hoạt động là âm tính đối với HBV DNA. Ngược lại, 30% các BN xơ gan là HBV DNA (-), phần lớn ở quanh Địa Trung Hải và Châu Phi (có lẽ do lây nhiễm sớm trong các vùng này). Sự phân li giữa kết quả của HBeAg và các xét nghiệm HBV DNA thường tạm thời và sau đó HBeAg biến mất và anti-HBe xuất hiện. Tuy nhiên, một ít BN tồn tại tình trạng HBV DNA (-) dù HBeAg(+) và không có điều trị. Điều có thể là do mức sao chép HBV DNA thấp hoặc do tổng hợp HBcAg từ HBV DNA hoà nhập mà không có hiện tượng tạo vỏ. Ở Châu Á, đa số BN nhiễm virut vẫn còn sao chép virut khi đã có xơ gan và UTTBG. Các khác biệt về địa lý này hiện vẫn chưa rõ, nhất là không có bằng chứng cho liên quan đến các đột biến virut. Sự phân ly giữa các kết quả HBe và HBV DNA thường gặp trong giai đoạn nhiễm virut cấp. HBV DNA được phát hiện trong độ 30% - 70% trường hợp VG lành tính cấp nhưng chỉ có 10% trường hợp VG kịch phát vào bệnh viện. Sự tồn tại HBV DNA huyết thanh dự báo phát triển một tình trạng mang mạn tính.

4.2.4. Những người anti-HBe(+)

Một trong những phát hiện nhiều thông tin nhất với các xét nghiệm HBV DNA đã được xác định trong các đối tượng đang có sao chép DNA virut, thường khá mạnh, mặc dù có anti-HBe(+). Hiện tượng này có ở mọi nơi thay đổi theo nguồn gốc địa lý của BN.

Tại Bắc Âu, 10-20% BN anti-HBe(+) bị VG mạn có HBV DNA huyết thanh dương. Ngược lại, chỉ có 1-5 % người mang mạn tính có HBV DNA (+) mà các xét nghiệm chức năng gan bình thường. Các đối tượng sau có thể đã có VG mạn hoạt động (CAH) dù các kết quả xét nghiệm gan bình thường hoặc có nguy cơ phát triển VG mạn. Tại lưu vực Địa Trung Hải và Châu Á, tần suất các phát hiện này cao hơn (40-50% trường hợp). Hiện nay người ta đã xác định những BN có anti-HBe và HBV DNA (+) có thể truyền nhiễm virut (gồm cả truyền nhiễm từ mẹ sang con). Mặt khác, các BN có nguy cơ bệnh gan nặng và cần cân nhắc điều trị. Cơ sở phân tử của sự phân ly được cho là do đột biến trong chuỗi mã pre-C.

Trịnh Thị Minh Liên nhận thấy có 8/12 (67%) mẫu huyết thanh HBV DNA và anti-HBE(+). Các trường hợp này liên quan đến các biến chứng nặng và kéo dài, với VG tái hoạt.

4.2.5. Theo dõi người mang mạn HBsAg(+)

Các xét nghiệm phối hợp với HBeAg, anti-HBe và HBV DNA (xét nghiệm thấm tách Southern và xét nghiệm chấm) đã cho phép xác định hai sự kiện lớn trong quá trình nhiễm HBV, đó là chấm dứt và tái hoạt sự nhân lên của virut.

- Sự chấm dứt nhân lên có thể xảy ra tự nhiên hay trong điều trị kháng virut và thường kết hợp với chuyển huyết thanh HBeAg thành anti-HBe. Đây là phát triển tự

nhiên của nhiễm virut có thể xảy ra sớm hay muộn. Trong vài BN, trước khi ngừng sao chép HBV DNA, transaminase tăng cao. Trong trường hợp này, HBV DNA thường không còn phát hiện nữa, dù vẫn còn tồn tại HBeAg. HBeAg biến mất muộn hơn và sau đó anti-HBe xuất hiện.

- Sự nhân lên của virut được tái hoạt có thể xảy ra sau khi mất HBV DNA và các yếu tố nguy cơ xảy ra tái hoạt khó xác định rõ. Sự tái hoạt sao chép DNA virut có thể kèm với sự tái xuất hiện HBeAg dù vẫn có anti-HBe(+).

Các xét nghiệm HBV DNA nhằm giải thích sự gia tăng transaminase ở người mang mạn tính, qua đó có thể giúp phân biệt việc virut ngừng nhân lên và tái hoạt sao chép virut và để phân tích các biến đổi của tình trạng virut huyết HBV trong bệnh cảnh đồng nhiễm với HDV, HCV, hoặc HIV kiểu 1. Xét nghiệm HBV DNA cũng được quan tâm đặc biệt trong chăm sóc các BN đang được ghép gan, một xét nghiệm HBV DNA (+) trước ghép gan cho thấy nguy cơ tái sao chép có thể thuận lợi nhờ globulin miễn dịch anti-HBs. Mặt khác, ở các BN này, do dùng liệu pháp ức chế miễn dịch, mặt bằng huyết thanh học trở nên khó lý giải.

4.2.6. Các BN HBeAg(-)

Ở một số BN HBeAg(-), các chuỗi mã HBV DNA có thể được xác định trong huyết thanh, gan và BCĐNMNV ở các BN VG cấp và mạn, cũng như những người có UTTBG. Có thể có nhiều yếu tố liên can trong các kiểu bất thường này. Số lượng các hạt virut được xác định trong huyết thanh và các tế bào chứa HBV DNA thấp (độ 10^4 đến 10^5/ml; 0,001% của toàn bộ các tế bào gan) và các biến dị di truyền trong DNA virut và các thay đổi trong đáp ứng miễn dịch vật chủ cũng có thể quan trọng.

Các nghiên cứu đầu tiên đã được thực hiện bằng cách dùng xét nghiệm thấm tách Southern và thấm tách điểm. Trong gan, các kết quả cho thấy có sự hiện diện của DNA virut tự do lẫn hoà nhập. Tuy nhiên, trong các BN UTTBG, chỉ có một tỉ lệ nhỏ tế bào các khối u chứa DNA virut và các tế bào gan nhiễm virut không có bằng chứng tăng sinh clôn rõ ràng. Điều quan trọng là không có người nào trong thử nghiệm có bằng chứng gia tăng tín hiệu lai sau khi các điều kiện lai đã giảm tính nghiêm ngặt. Kích cỡ của các dải DNA lai là kích cỡ của HBV DNA thông thường (3,2kb). Nhờ đó, các kết quả cho thấy sự hiện diện của HBV hoặc HBV với các biến dị di truyền nhỏ trong mô và các mẫu huyết thanh.

Nhiều tác giả đã thất bại trong việc phát hiện HBV DNA ở người HBsAg(-). Điều này dẫn đến các tranh cãi về các khác biệt giữa BN và sự tồn tại của các kết quả âm hoặc dương giả có thể do số lượng DNA virut nhỏ và lây nhiễm gan bởi các plasmit.

Với PCR, nhiều tác giả đã xác định sự hiện diện của các chuỗi mã HBV DNA trong huyết thanh và các mẫu gan từ những người HBsAg(-) và xác định chuỗi mã nuleotit ở một vài thể phân lập. Do số lượng nhỏ DNA virut trong các đối tượng này,

việc xác định các đối tượng HBsAg (-), HBV DNA (+) hiện nay được thực hiện tốt bằng PCR.

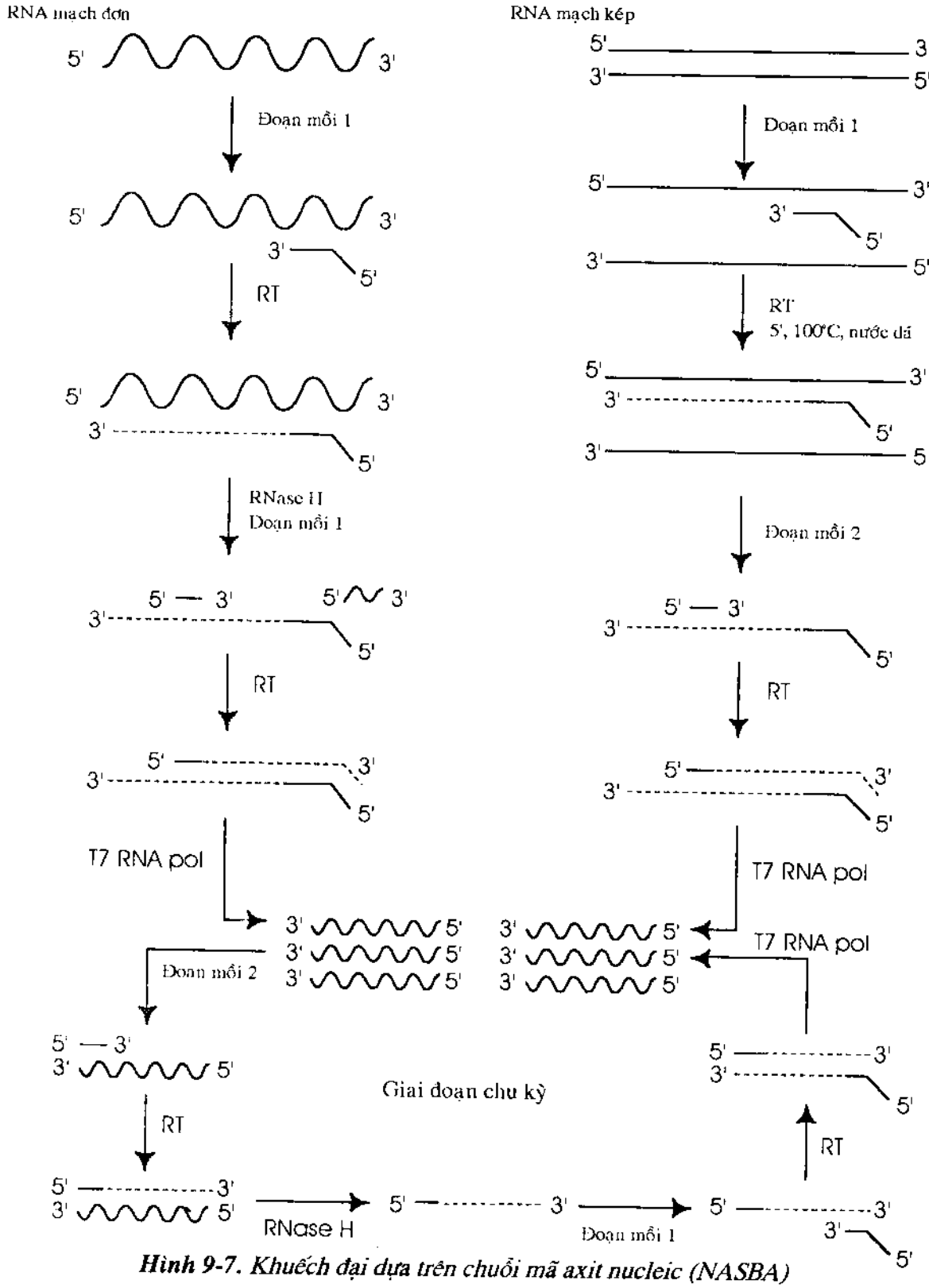
4.2.7. Sự phát hiện HBV DNA bằng PCR

PCR một bước duy nhất đủ để phát hiện HBV DNA hoặc RNA và không cần đến PCR kép (nested PCR). Mặt khác, tính tương đồng cao giữa các chuỗi mã nucleotit từ các kiểu phụ HBV khác nhau đã đơn giản hoá đáng kể trong thiết kế đoạn mồi. Tuy nhiên, hiệu quả có thể rất khác nhau và cần phải dùng các chứng dương thích hợp.

PCR không nên được xem như một xét nghiệm chẩn đoán thường qui trong nhiễm HBV, trừ khi phải cần xét đến xét nghiệm nhạy hơn này để xác định các chuỗi mã HBV DNA. Người cho máu hoặc người mẹ HBsAg (+) đã được chứng minh truyền nhiễm HBV, dù anti-HBe huyết thanh dương và HBV DNA (-). Vài BN HBsAg (+) và BN VG mạn hoạt động anti-HBe(+) có bệnh gan hoạt động dù HBV DNA huyết thanh âm và không có đồng nhiễm HDV hoặc HCV, bệnh gan tự miễn, hoặc bệnh gan thuộc các nguyên nhân khác. Nhờ PCR, chúng ta có được các số liệu theo dõi chính xác đối với BN điều trị kháng virut trong việc đánh giá các đáp ứng từng phần hoặc hoàn toàn và nguy cơ tái hoạt. PCR cần cho chuỗi mã tiếp theo của các sản phẩm khuếch đại (nhân dòng trực tiếp hoặc sau đó). PCR đã cung cấp một "cửa sổ" về các biến dị di truyền của HBV: xác định kiểu HBV DNA chính xác; các liên quan về các đột biến trong các chuỗi mã pre-C, C và pre-S/S trong nhiễm HBV tồn tại; độ trầm trọng của bệnh gan và các đáp ứng điều trị. PCR khá thuận lợi trong việc phát hiện chuỗi mã HBV DNA ở các BN HBsAg(-). PCR có thể được dùng để phát hiện các hạt có khả năng nhiễm virut trong các dịch sinh học khác nhau.

4.2.8. Các đối tượng có HBsAg(+)

Nhiều nghiên cứu đã chứng minh PCR có thể được dùng phát hiện HBV DNA trong huyết thanh, huyết tương, gan và BCĐNMNV (hình 9-7, bảng 9-11). Giới hạn phát hiện từ 10 đến 100 phân tử cho 1 ml. Phân tích so sánh huyết thanh bằng PCR và nhiễm truyền vào hắc tinh tinh cho thấy PCR có thể được dùng để phát hiện HBV DNA trong dịch pha loãng đã qua gây nhiễm. Tuy nhiên, các chuỗi mã HBV DNA được xác định bằng PCR không thể luôn bao gồm trong các hạt virut nhưng có thể tương ứng phần nào với số lượng nhỏ của DNA bạch cầu chứa các mẫu huyết thanh hoặc huyết tương được bào chế cẩn thận nhất. Một giải pháp đối với vấn đề này là khuếch đại từ mẫu tương tự của một locus tế bào như là một gen HLA. Một kết quả PCR dương thu được từ HBV và âm từ các đoạn mồi HLA sẽ cho thấy tình trạng nhiễm virut huyết. Một giải pháp thay thế là bắt giữ các hạt virut trước khi khuếch đại, bằng cách dùng các kháng thể anti-HBs.



Hình 9-7. Khuếch đại dựa trên chuỗi mã axit nucleic (NASBA)

Bảng 9-11. Các chỉ định chủ yếu trong phát hiện HBV DNA

1.	Phát hiện HBV DNA mà không có khuếch đại: các xét nghiệm thấm tách điểm và chấm, bDNA, phương pháp lai trong dịch lỏng (Genostics, Digene).
	Đánh giá tình trạng virut huyết HBV
	Giám sát điều trị
	Đánh giá nhiễm virut
2.	Phát hiện HBV DNA qua PCR: các qui trình kỹ thuật nghiên cứu
	Phân tích tính biến dị di truyền HBV
	Các BN HBsAg(-) có VG mạn "không A-không G"
	Phát hiện HBV DNA trong các dịch sinh học

Theo Bréchot, độ 50% người mang HBsAg và anti-HBe(+) không triệu chứng có HBV DNA(-) trong một xét nghiệm chấm thông thường, nhưng khi xét nghiệm bằng PCR lại có HBV DNA (+). Ngược lại, HBV DNA được phát hiện trong đa số BN HBsAg(+) có VG mạn hoạt động và HBV DNA (-) ở tất cả những người nào có VG hoạt động đã hồi phục và ở nhóm chứng âm. Sự quan sát này có hai vấn đề quan trọng:

1. PCR độ nhạy cao, phát hiện độ 10 hạt HBV/ml và

2. PCR không dương tính cho tất cả những người mang HBV và kết quả này có thể có dính líu đến tiên lượng.

Các xét nghiệm định lượng không dựa vào PCR, như bDNA, ít nhạy nhưng giúp theo dõi BN. PCR định lượng cũng có thể phát triển nhưng hiện nay không được dùng như một kit xét nghiệm. Cần nhớ là chuẩn dùng trong các xét nghiệm này và kết quả thu được có thể rất khác nhau. Đặc biệt, khởi đầu liệu pháp kháng virut ở BN HBV DNA (+) với PCR nhưng âm với xét nghiệm đốm hoặc các xét nghiệm liên quan khác là thiếu cân nhắc.

Căn cứ vào độ nhạy, PCR rất thuận lợi trong việc xác định hiệu quả của điều trị kháng virut. Quả thực, PCR đã đưa ra các kết quả HBV DNA (-) ở huyết thanh của một số BN sau thời gian dùng liệu pháp interferon. Ở các BN này HBV DNA có thể vẫn còn được phát hiện trong gan dù đã thải trừ HBsAg huyết thanh. Điều quan trọng là đánh giá thời khoảng cần để âm tính hoá xét nghiệm HBV DNA sau khi VG cấp hồi phục hoặc chấm dứt sự nhân lên của HBV.

HBV DNA và RNA được phát hiện bằng PCR trong BCĐNMNV xác định các kết quả thu được khi không có khuếch đại. Kỹ thuật có giá trị trong đánh giá nhiễm

HBV sau ghép gan, cho thấy trong vài trường hợp, một quá trình 'cửa sổ" trong đó ghép gan còn chưa bị tái nhiễm, tuy HBV DNA có trong BCĐNMNV. HBV DNA

thường theo sau tái nhiễm gan, có lẽ từ BCĐNMNV. Các quan sát tương tự đã được thực hiện trong các mẫu gan ghép của khỉ đầu chó. Tuy nhiên, các xét nghiệm dựa trên PCR không giúp phát hiện ccc-DNA trong các tế bào này.

Tuy PCR không cần trong chẩn đoán thường qui nhiễm HBV từ mẹ sang con, nhưng có thể dùng như một kỹ thuật lượng giá trực tiếp và xác định chủng HBV lây nhiễm trẻ sơ sinh.

4.2.9. Các BN có HBsAg(-)

Khả năng khuếch đại DNA virut trước khi phát hiện có thể xác định các báo cáo trước đây về HBV DNA trong các đối tượng HBsAg(-). Các chuỗi mã HBV được xác định trong huyết thanh và gan của BN VG cấp và mạn (đa số đơn phát nhưng cũng có thể do truyền máu) và UTTBG. Tuy điều này không chứng minh vai trò của virut trong các bệnh gan, nhưng vẫn cho thấy nhiễm virut sản xuất (có khuếch đại virut đang diễn ra) tồn tại trong các đối tượng này. HBV còn dính líu trong một số trường hợp VG sau truyền máu và điều này phù hợp với sự phát hiện HBV DNA ở những người cho máu HBsAg(-) trong nhiều vùng địa lý khác nhau. Ngược lại, Bréchot không thể phát hiện DNA virut trong huyết thanh của BN VG B cấp đã hồi phục. Mặt khác, một vài nghiên cứu đã chỉ ra HBV DNA tồn tại kéo dài (nhiều năm) sau bằng chứng huyết thanh của sự thải trừ virut. Bởi thế, tuy DNA virut tồn tại không luôn được thấy sau nhiễm HBV, việc tiếp cận với xét nghiệm nhạy cảm cao như PCR đã cho thấy nhiễm HBV có thể tồn tại dù có đáp ứng miễn dịch hiệu quả rõ ràng với virut. Các thử nghiệm truyền nhiễm cho hắc tinh tinh cho thấy các chuỗi mã DNA virut được chứa đựng trong các hạt nhiễm virut với các mặt bằng huyết thanh trong các con vật nhiễm virut cung cấp bằng chứng về bản chất của bộ gen HBV này. Hai kiểu được xác định; trong vài con vật HBsAg huyết thanh trở nên phát hiện rõ ràng với các xét nghiệm thường dùng trong VG cấp, qua đó cho thấy một lượng nhỏ HBV DNA lưu hành ở BN mà huyết thanh được dùng để tiêm.

PCR có khả năng xác định chuỗi mã nucleotit của các biến dị và phân tích cơ sở phân tử sự tồn tại các bộ gen virut ở BN có và không có UTTBG. Bréchot đã xác định chuỗi mã toàn bộ của hai HBV DNA phân lập từ hắc tinh tinh nhiễm virut. Tính tương đồng mở rộng được tìm thấy, nhưng với chỉ một ít đột biến điểm (dưới 1%) tương đối với kiểu phụ HBV quen thuộc ayw. Tỷ lệ đột biến thấp được quan sát khá ấn tượng trong các điểm phân lập này. Các nghiên cứu khác đã củng cố quan niệm cho rằng nhiễm virut HBsAg(-), HBV DNA (+) không chỉ do các đột biến trong bộ gen virut nhưng cũng có thể phản ánh lượng virut vào thời điểm nhiễm virut ban đầu, cũng như vai trò của các yếu tố môi trường như rượu. Rượu đã được chứng minh làm biến đổi việc gan xuất ra nhiều protein và đưa ra giả định đây có thể là trường hợp

bài tiết HBsAg. Các thử nghiệm thực hiện trên chuột chuyển gen sản xuất HBsAg cho thấy rượu có thể làm giảm bài tiết HBsAg vào huyết thanh. Cuối cùng, sự lưu hành HBsAg trong các phức hợp miễn dịch đã được chứng minh trong huyết thanh của người HBsAg(-). Một số nghiên cứu về các kết quả này cũng đã nhấn mạnh đến tầm quan trọng của các đột biến trong các chuỗi mã X, pre-C/C và pre-S trong sự tồn tại của các bộ gen virut. Thế nên, sự phối hợp giữa các yếu tố chủ và virut được cho là dính líu trong sự tồn tại của bộ gen HBV.

Mặt khác, nhiễm HCV hiện nay đã rõ là một yếu tố nguyên nhân chính trong VG cấp và mạn không A không B. Những người đồng nhiễm HCV và HBV, được chứng minh bằng các xét nghiệm huyết thanh học và PCR, đã được xác định trong nhóm VG NANB này, cũng như trong những người mang HBsAg(+). Tóm lại việc dùng PCR thường qui để phát hiện HBV DNA còn bị hạn chế trong các khung cảnh sau đây:

- Phát hiện HBV sao chép ở các BN HBsAg(+), anti-HBe(+) có bệnh gan hoạt động, dù xét nghiệm đốm HBV DNA (-); xét nghiệm này không là chỉ định thường qui nhưng có thể cho nhiều thông tin trong một số nghiên cứu, như các nghiên cứu đánh giá hiệu quả lâu dài của thuốc kháng virut.
- Đánh giá các bệnh gan HBsAg(-)
- Theo dõi nhiễm HBV trong các chương trình ghép gan

Các áp dụng khác là theo dõi điều trị kháng virut (dùng các xét nghiệm định lượng); phát hiện HBV DNA ở những người cho máu; phân tích tác động của tính biến dị HBV DNA và điều tra truyền nhiễm HBV trong bệnh viện.

5. TÓM TẮT

Sinh học phân tử đã cải thiện sự hiểu biết về VG virut khá sâu sắc. HBV DNA phải được xem là dấu ấn tin cậy với các ứng dụng lâm sàng. Các cải tiến đáng kể trong các đoạn dò không phóng xạ và sự phát triển phương thức xét nghiệm thuận tiện cho phép các phòng thí nghiệm có chuyên môn hạn chế trong lãnh vực này sử dụng. Điều quan trọng là xem chúng như các xét nghiệm hỗ trợ cho các xét nghiệm huyết thanh học và giúp đánh giá các hạn chế về độ nhạy và độ tin cậy của một vài xét nghiệm.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. **Rosen HR; Kneeffe EB.** Evaluation of abnormal liver enzymes, use of liver tests, and the serology of viral hepatitis. In Liver Disease - Diagnosis anh Management. Churchill Livigstone. 2000: 24-35
2. **Higa L; Stribling R; Martin P.** Evaluation of Jaundice. In Liver Disease and Management. Churchill Livingstone. 2000: 36-46
3. **Decker-RH.**Diagnosis of acute and chronic hepatitis B. In Zuckerman AJ, Thomas HC, editors. Viral Hepatitis. 2nd de. London. Churchill Livigstone; 1998: 217-26
4. **Nguyễn Thu Vân.** Kỹ thuật phát hiện kháng nguyên bề mặt virut VG B (HBsAg) trong huyết thanh/huyết tương người (HBsAg Micro - ELISA). Trong kỹ thuật xét nghiệm vi sinh vật học. Nhà xuất bản Văn hoá Hà Nội, 1991,tr 279-87.
5. **Nguyễn Thi Diễm Hồng.** Các kỹ thuật miễn dịch. Trong kỹ thuật xét nghiệm vi sinh vật y học. Nhà xuất bản văn hóa Hà Nội. 1991, tr 353-68.
6. **Scheuer PJ; Dusheiko GM.** The histologist's role in diagnosis and management of chronic hepatitis. In Zuckerman AJ, Thomas HC, editors. Viral Hepatitis. 2nd ed. London. Churchill Livigstone; 1998: 613-20.
7. **Brunt EM.** Hepatology at the Millennium Grading and Staging the Histopathological Lesions of Chronic Hepatities: The Knodell Histology Activity Index and Beyond. Hepatology. Jan 2000, vol 31, No1: 241-46.
8. **Jules 1. Dienstag, krurt J. Isselbacher.** Chronic hepatitis. Harrison's Principles of Internal Medicine. 14* edition. 1998. CD-Rom.
9. **Bréchot C.** Application of molecular biology to the diagnosis of viral hepatititis. In Zuckerman AJ, Thomas HC, editors. Viral Hepatitis. 2nd de. London. Chrchill Livingstone; 1998: 569-83.2.
10. **Bùi Chí Bửu, Nguyễn Thị Lang.** Di truyền phân tử: Những nguyên tắc cơ bản trong chọn giống cây trồng. NXB Nông nghiệp, 1999.
11. **Norton JA; Fraker DL.** Tumor markers. Sabiston Textbook of surgery, 15th edition. W.B. Saunders Company 1997: 534-55.
12. **Schlager F; Schaefer S; Metzler M; Gratzki N; Lampert F, Gerlich WH; Repp R.** Quantitative DNA fragment analysis for detecting low amounts of hepatitis B virus deletion mutants in highly viremic carriers. Hepatology 2000; 32: 1096-1105.
13. **Trịnh Thi Minh Liên.** Xác định DNA của virut VG Ba trong huyết thanh bằng phản ứng chuỗi pholymerase (PCR).
14. **Trịnh Thị Minh Liên, Lê Đăng Hà, Nguyễn Anh Tuấn, Nguyễn Đức Hiền.** Phức hợp miễn dịch lưu hành (CIC) và mối liên quan với một số xét nghiệm chức năng gan trong VG virut cấp. Y học thực hành 2000, số 10 (356), tr32-36.

Chương 10

CHẨN ĐOÁN VIÊM GAN B CẤP VÀ MẠN TÍNH

Trang

1. VG B CẤP 271
1.1. Các triệu chứng lâm sàng 271
1.2. Các dấu hiệu cận lâm sàng không đặc hiệu 272
1.2.1. Tỷ lệ protlrombin 272
1.2.2. Nồng độ bilirubin máu toàn phần 272
1.2.3. Transaminase huyết thanh 272
1.2.4. Alpha Foctoprotein 273
1.2.5. Các tế bào lympho T CD4 và CD8 273
1.3. Các dấu hiệu cận lâm sàng không đặc hiệu 273
2. Các hậu quả mạn tính của nhiễm HBV 273
3. Các xét nghiệm huyết thanh học 275
3.1. HBsAg 275
3.1.1. Các đột biến thoát HBsAg 276
3.1.2. Bệnh gan mạn HBsAg(-) 277
3.2. Anti-HBs 277
3.3. Anti-Pre-S 279
3.4. Anti-HBc 279
3.5. IgM Anti-HBc 281
3.6. HBeAg/Anti-HBe 281
3.7. HBV DNA 283
3.7.1.Xét nghiệm lai trực tiếp 284
3.7.2. Phương pháp chuỗi nhánh HBV DNA (b–DNA) 284
3.7.3.PCR 284
4. Phân loại mô học của vG mạn 285
5. Diễn biến của huyết thanh trong điều trị VG B mạn bằng IFN 288
6. Đồng nhiễm virut 291
6.1. Đồng nhiễm với các virut VG khác 291
6.2. Đồng nhiễm với HIV 291
7. Các kiểu huyết thanh bất thường trong nhiễm HBV 291
7.1. HBsAg không có anti-HBe 291
7.2. HBsAg và anti-HBs 292
7.3. Anti –Hbe đơn thuần 292
7.3.1.Định nghĩa 292
7.3.2.Tần suất anti-HBc đơn thuần 293
7.3.2.1. Tần suất người mang anti-HBc đơn thuần 293
7.3.2.2. Anti-HBc đơn thuần và HBV DNA 293
7.3.3. Phân giai đoạn 294
7.3.3.1. Giai đoạn của sổ 294
7.3.3.2. Giai đoạn miễn dịch muộn 294

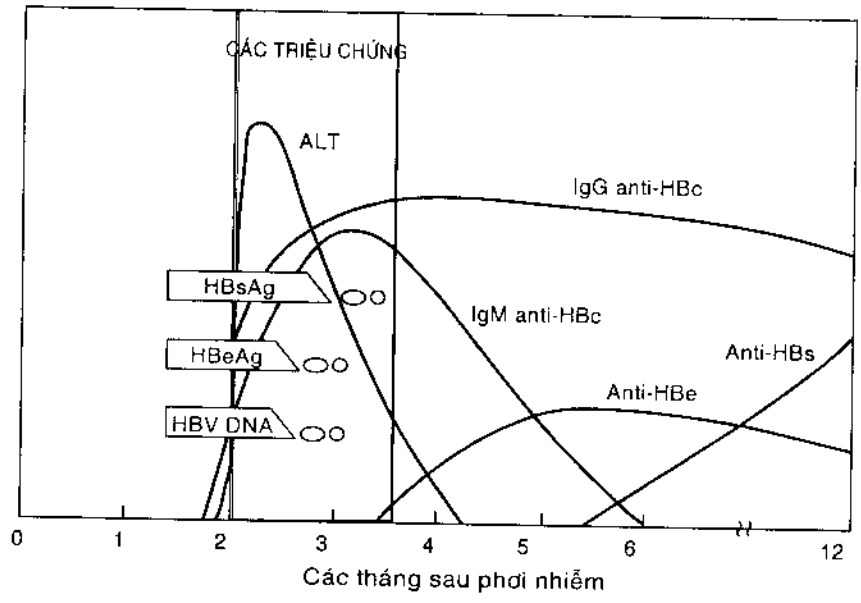
7.3.3.3. Giai đoạn mạn tính 294
7.3.4. Các khía cạnh lâm sàng 295
7.3.4.1. Tính gây nhiễm 295
7.3.4.2. Xét nghiệm anti-HBc 296
7.3.5. Các khuyến cáo của Hội thảo Quốc tế ở Zurich, Thuỵ Sĩ năm 1998 296
7.3.5.1. Đối với những người có anti-HBc đơn thuần 296
7.3.5.2. Đối với ngân hàng máu và ghép gan 297
7.4. Anti-HBs đơn thuần 297
7.5. HBV DNA đơn thuần 297
8. TÓM TẮT 298
TÀI LIỆU THAM KHẢO 299

1. VG B CẤP

Huyết thanh của các BN VG B cấp có một số kháng nguyên, kháng thể đặc hiệu và HBV DNA virut. Các dấu ấn này khá thay đổi, phản ánh tình trạng sao chép virut và các đáp ứng miễn dịch của BN (hình 10-1). Các kiểu huyết thanh được xác định bằng các xét nghiệm chẩn đoán giúp đánh giá khá chính xác các giai đoạn của bệnh cấp tính và tiến triển của bệnh đến tình trạng hồi phục hoặc mạn tính.

1.1. CÁC TRIỆU CHỨNG LÂM SÀNG

Các BN nhiễm HBV mới có một thời kỳ ủ bệnh từ 6 đến 8 tuần (45-120 ngày) sau phơi nhiễm và trước các dấu hiệu lâm sàng, tùy thuộc vào số lượng virut và các yếu tố ký chủ.



Hình 10-1. *Các dấu ấn huyết thanh của VG B trong quá trình nhiễm virut và trong giai đoạn dưỡng bệnh.*

Tỷ lệ nhiễm HBV cấp có triệu chứng lâm sàng tương đối thấp, khoảng 10% các trường hợp và phụ thuộc vào tuổi của BN. Đối với trẻ em trước tuổi học đường, VG B cấp rất hiếm xảy ra. Khi tuổi càng lớn, tỉ lệ mắc VG B cấp tăng tương ứng và ở người lớn, có khoảng 25% có các dấu hiệu lâm sàng.

BN có một giai đoạn tiền triệu với các triệu chứng giống cúm. HBsAg xuất hiện ở giai đoạn này. Đau khớp, phát ban đôi khi xuất hiện, liên quan đến sự hình thành các phức hợp miễn dịch. Các triệu chứng trên xảy ra trước khi ALT tăng và các biểu hiện khác của tổn thương gan.

Trong giai đoạn bệnh cấp, các dấu hiệu lâm sàng không đặc hiệu như mệt mỏi, biếng ăn, đau cơ, sốt nhẹ và các dấu hiệu rối loạn chức năng gan như vàng da và gan to. Các dấu hiệu ngoài gan chủ yếu do hình thành phức hợp kháng nguyên-kháng thể và có thể gặp trên 20% BN. Các rối loạn chủ yếu gồm hội chứng giống bệnh huyết thanh, viêm đa động mạch nút và viêm sần da đầu chi ở trẻ con. Vai trò điều biến và bệnh sinh miễn dịch của phức hợp miễn dịch góp phần vào tiến triển từ HBV cấp đến tình trạng mạn. Ý nghĩa của các phức hợp miễn dịch còn khá bí ẩn.

1.2. CÁC DẤU HIỆU CẬN LÂM SÀNG KHÔNG ĐẶC HIỆU

1.2.1. Tỷ lệ prothrombin

Trịnh Thị Minh Liên và cs nhận thấy trong tuần lễ đầu của thời kỳ vàng da, tỷ lệ prothrombin đều giảm và tuần lễ thứ ba trở đi, hầu hết BN có tỷ lệ prothrombin về gần bình thường (> 70%). Nếu sau 3 tuần lễ vàng da, tỷ lệ prothrombin trên 70% là dấu hiệu tiên lượng tốt. Ngược lại, nếu còn dưới 40% là dấu hiệu tiên lượng bệnh kéo dài và nặng ở BN VG B.

1.2.2. Nồng độ bilirubin máu toàn phần

Theo Trịnh Thị Minh Liên và cs, từ tuần thứ nhất, BN có nồng độ bilirubin toàn phần trong máu tăng lên 5 lần (> 85 µmol/l). Từ tuần thứ 3, phần lớn BN có nồng độ bilirubin toàn phần giảm (< 51 µmol/l). Ngược lại, BN VG cấp kéo dài có nồng độ cao hơn 170 µmol/l. Như vậy, nếu sau 3 tuần, nồng độ bilirubin máu toàn phần vẫn còn trên 170 µmol/l là dấu hiệu của bệnh diễn tiến nặng và kéo dài.

1.2.3. Transaminase huyết thanh

Cũng theo Trịnh Minh Liên, sau 2 tuần đầu, đa số BN VG B cấp giảm xuống nhanh chóng và trở về bình thường trong vòng 6 tuần. Khi VG B cấp kéo dài, AST và ALT giảm chậm hơn và phần lớn BN có AST > 200 UI/l kéo dài trên 5 tuần. Mặt khác, ở tuần thứ 1 và 2, phần lớn BN có AST nhỏ hơn hoặc bằng ALT (tỷ lệ De Ritis ≤1). Nhưng từ tuần thứ 3 trở đi, phần lớn BN VG B cấp kéo dài có AST cao hơn ALT (tỷ lệ De Ritis >1). Đây là dấu hiệu tiên lượng xấu.

1.2.4. Alpha Foetoprotein

Trịnh Thị Minh Liên và cs nhận thấy nồng độ AFP tăng cao ở BN VG B cấp (87,95±12,89) so với người Việt Nam bình thường (2,3±1,4 ng/ml), p <0,001. Nguyễn Kim Nữ Hiếu và cs nhận thấy có 46% BN VG B cấp có AFP tăng bao gồm từ 5-25 ng/ml chiếm 24,4%, 26-50 ng/ml chiếm 10,8% và từ 51 ng/ml trở lên chiếm 10,8%. Liệu nồng độ AFP ở người VG B cấp có thể dự báo một tình trạng xơ gan hay ung thư gan hay không, cần phải nghiên cứu thêm.

1.2.5. Các tế bào lympho T CD4 và CD8

Hoàng Vũ Hùng và cs đã đếm các tế bào lympho CD4 và CD8 tăng trong VG cấp và giảm trong VG mạn. Đây cũng tlà nhận xét của nhiều tác giả, nếu đáp ứng miễn dịch thấp, bệnh sẽ trở thành mạn tính, nếu đáp ứng quá mức sẽ trở thành kịch phát.

1.3. CÁC DẤU HIỆU CẬN LÂM SÀNG KHÔNG ĐẶC HIỆU

Nồng độ HBsAg tăng cao nhất vào lúc ALT huyết thanh tăng cao hoặc một thời gian ngắn ngay sau đó. Khoảng thời gian HBsAg(+) khá thay đổi và thường liên quan đến sự hồi phục lâm sàng, trừ khi ALT và HBsAg giảm xuống và biến mất đồng thời. HBsAg sớm được thải trừ khỏi huyết thanh trong 10% BN VG B cấp lúc họ đến khám bệnh. Tình trạng huyết thanh như thế có thể gây khó khăn chẩn đoán và chẩn đoán cần xác định bằng IgM anti-HBc. Cả IgM và IgG anti-HBc xuất hiện trước các triệu chứng. IgM anti-HBc mạnh biểu thị nhiễm virut giai đoạn cấp. Cuối cùng, IgG anti-HBc có nồng độ cao trong nhiễm virut cấp hoặc mạn tính và thường tồn tại lâu dài ở các BN khỏi bệnh với mức độ thấp.

HBeAg và HBV DNA được phát hiện trong huyết thanh của BN trước khi có các triệu chứng lâm sàng và gần cùng lúc với HBsAg. Sự biến mất các dấu ấn này và chuyển huyết thanh anti-HBe thường có trước khi thải trừ HBsAg, là các yếu tố giúp tiên đoán sự hồi phục. Chỉ thị huyết thanh tốt nhất trong giai đoạn hồi phục là sự xuất hiện anti-HBs, nhưng thường anti-HBs không được phát hiện trước khi BN đã hồi phục rõ ràng. Dưới 1% BN VG B cấp phát triển VG kịch phát. Đây là một bệnh suy gan cấp có các biến chứng như: bệnh não do gan, hội chứng gan thận và tạng chảy máu. Trong những BN này, thời kỳ virut huyết và kháng nguyên huyết thường ngắn, nhưng IgM anti-HBc vẫn chiếm ưu thế. Những người sống sót sau VGBP có thể nói là không bao giờ tiến triển đến VG mạn. Điều này cho thấy HBV không gây bệnh tế bào gan, mà là do các phản ứng miễn dịch tế bào và thể dịch. Tử vong VGBP khá cao (>75%) và tỷ lệ thuận theo tuổi, tuổi càng cao càng dễ tử vong.

2. CÁC HẬU QUẢ MẠN TÍNH CỦA NHIỄM HBV

Trong đa số người lớn bị VG B cấp, HBsAg huyết thanh biến mất sau 3 đến 4 tháng phơi nhiễm, nhưng khoảng 5% BN HBsAg sẽ còn được phát hiện hơn 6 tháng

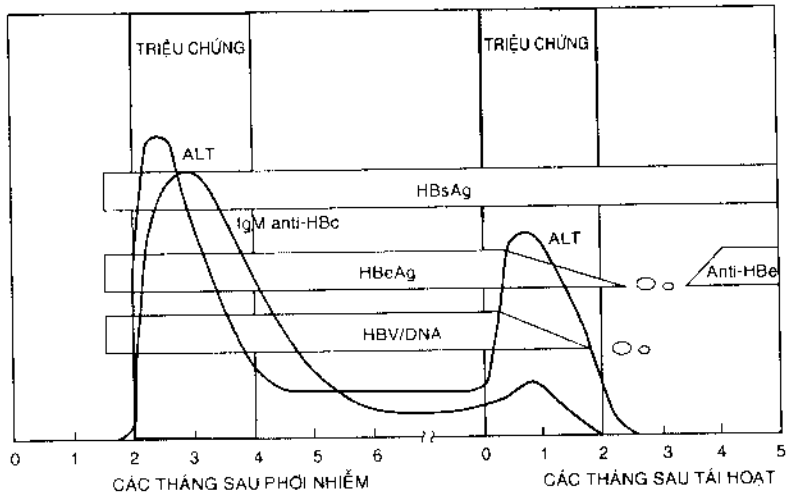
sau. Theo Hoàng Vũ Hùng ở các BN VG B cấp sau 3 tháng chỉ có 10,6% còn HBsAg và số này sẽ trở thành người mang HBsAg mạn. Các kháng thể huyết thanh kéo dài chống lại các protein lõi và protein bề mặt. Protein lõi biểu thị dấu ấn phơi nhiễm trước đây, trong khi protein bề mặt cho thấy sự hiện diện của miễn dịch bảo vệ chống lại nhiễm virut mới. Theo qui ước, HBsAg tồn tại quá 6 tháng xác định tình trạng mang mạn tính do ít có khả năng hồi phục tự nhiên (bảng 10-1). Phần lớn BN còn tình trạng nhiễm virut mạn và có thể có nhiều hậu quả lâm sàng. Đây là các BN cũng sản xuất các kháng thể kháng lõi, nhưng không có kháng thể kháng bề mặt. Hàng năm, độ 1% người mang bị nhiễm lúc trưởng thành sẽ mất HBsAg tự nhiên và chuyển huyết thanh anti-HBs.

Khả năng mạn tính với tuổi nhiễm virut có tương quan nghịch. Ở trẻ em, 90% nhiễm virut chu sinh hoặc trong 5 năm đầu sẽ trở thành người mang mạn tính và ít có cơ may hồi phục tự nhiên. Trong khi đó, chỉ dưới 10% người lớn nhiễm HBV trở thành mạn tính.

Bảng 10-1. Các kiểu của các dấu ấn HBV chính trong VG B cấp và mạn tính.

Dấu ấn	Cấp tính	Mạn tính
HBsAg	Dương tính, biến mất	Dương tính, tồn tại
IgM anti-HBc	Dương tính, cao	Thấp hoặc âm tính
Anti-HBc toàn bộ	Dương tính	Dương tính
HBeAg/anti-HBe	HBeAg(+) với chuyển huyết thanh thành anti-HBc	HBeAg hoặc anti-HBe
HBV DNA	Dương tính, biến mất	Cao hoặc thấp, tồn tại
Anti-HBs	Xuất hiện trong lúc hồi phục	Thường âm

Sau giai đoạn cấp, IgM anti-HBc giảm chậm, nhưng các dấu ấn sao chép như HBeAg và HBV DNA còn phát hiện được, anti-HBe và anti-HBs thường không thể phát hiện. Nồng độ ALT cao cho thấy VG cấp đang xảy ra. Sau giai đoạn cấp, nhiều BN trở thành người mang không triệu chứng. Trong khi HBsAg và anti-HBc tồn tại, ALT trở về gần bình thường và chuyển huyết thanh từ HBeAg thành anti-HBe. HBV DNA giảm, nhưng BN vẫn còn nhiễm virut. Sự chuyển tiếp từ nhiễm virut hoạt động đến mạn tính không triệu chứng có thể xảy ra sau giai đoạn cấp, hoặc có thể xảy ra muộn hơn sau nhiều năm, thường sau khi bùng phát các triệu chứng. Đôi khi, người mang không triệu chứng có VG hoạt động trở lại với sự tái xuất hiện của HBeAg và HBV DNA. Một ít người mang mạn tính có thể có HBsAg thấp dưới mức phát hiện. Những người mang không triệu chứng có tình trạng VG không hoạt động vẫn còn nguy cơ tiến triển đến xơ gan và UTTBG (hình 10-2).



Hình 10-2. *Các dấu ấn hyết thanh trong VG B cấp tiến triển đến mạn tính, nhiều năm sau với sự chấm dứt của giai đoạn sao chép.*

3. CÁC XÉT NGHIỆM HUYẾT THANH HỌC

3.1. HBsAg

HBsAg có thể được phát hiện trong hầu hết các BN có bệnh cấp hoặc mạn tính bằng các kỹ thuật xét nghiệm đơn giản như khuếch tán trên thạch (AGD), hoặc điện di miễn dịch đối lưu. Các BN còn lại bị VG B cũng có HBsAg huyết thanh nhưng cần phải dùng các xét nghiệm có độ nhạy cao hơn. HBsAg là một hạt protein không gây nhiễm, đường kính độ 22 nm, có thể thấy được bằng kính hiển vi điện tử. Đây là một hạt phức tạp có 100 bản sao của các phân tử protein glycosyl hóa tương tự kích cỡ 27 kDa, một vài hạt có các chuỗi mã phụ pre-S. Kháng nguyên của hạt 22 nm khác biệt có ý nghĩa với kháng nguyên của protein 27 kDa. Ảnh hiển vi điện tử của các chế phẩm tinh khiết phát hiện kháng nguyên tồn tại trong huyết thanh, đôi khi trong tiểu quản và các cấu trúc virion toàn vẹn và các hạt 22 nm biểu hiện trong gan được xem là sự khiếm khuyết trong tổng hợp của virion toàn vẹn đến nỗi số lượng các hạt này nhiều hơn một triệu lần chính bản thân virut. Trong một số trường hợp, số lượng HBsAg có thể đạt tới 1 mg/ml huyết thanh. Virut huyết cũng cao một cách bất thường khi nồng độ của virion đạt đến 10^6 đến 10^9/ml trong giai đoạn cấp và một vài giai đoạn VG mạn .

Năm 1972, phương pháp xét nghiệm miễn dịch phóng xạ kiểu "bánh kẹp" cải tiến (RIA) được phát triển bởi Overby và cs nhằm phát hiện HBsAg. Phương pháp này có độ nhạy pha loãng đến hơn 1.000 lần so với phương pháp khuyết tán trên thạch (AGD) và có thể phát hiện đến dưới 0,5 ng HBsAg/ml huyết thanh. Xét

nghiệm "bánh kẹp" dùng anti-HBs gắn vào một pha rắn để bắt HBsAg từ mẫu vật và một bộ dò anti-HBs thứ nhì được đánh dấu để nhận dạng kháng nguyên bị bắt. Phương pháp "bánh kẹp" vẫn còn là phương pháp chọn lựa để phát hiện HBsAg trong phòng thí nghiệm vì cho đến nay vẫn là phương pháp nhạy và đặc hiệu cao. Trong thập niên vừa qua, xét nghiệm miễn dịch enzym "bánh kẹp" (EIA) đã gần như thay thế RIA. Phương pháp EIA cải tiến mới đây dùng các vi hạt và phương tiện vi tính cho ra các xét nghiệm miễn dịch enzym vi hạt (MEIA) HBsAg khá nhanh và hoàn toàn tự động (bảng 10-2).

Bảng 10-2. Các đặc trưng thực hiện của ba kiểu xét nghiệm miễn dịch nhằm phát hiện HBsAg

	Xét nghiệm miễn dịch phóng xạ (RIA)	Xét nghiệm miễn dịch enzym (EIA)	Xét nghiệm miễn dịch men vi hạt (MEIA)
Đọc tín hiệu	Hoạt tính phóng xạ	Màu	Huỳnh quang
Độ nhạy, ng HBsAg/ml	< 0,5	< 0,5	< 0,5
Thời gian xét nghiệm	3 giờ	3 giờ	45 phút
Tái sản xuất,% hệ số của biến số	15	10-15	3-5
Phạm vi động lực, ng/ml	0,2-50	0,2-15	0,2-500
Tự động hóa	Không	Bán tự động	Tự động

Mặc dù hiện nay các xét nghiệm HBsAg ngày càng hoàn thiện, VG B liên quan đến truyền máu đôi khi còn được phát hiện ở Mỹ và các nơi khác. Điều này được giải thích là ở một số BN nhiễm HBV nhưng có nồng độ HBsAg huyết thanh dưới mức phát hiện hoặc có các biến dị không thể phát hiện được bằng các xét nghiệm hiện có. Đến nay, nhiều đột biến HBV có các thay đổi aa trong kháng nguyên bề mặt đã được xác định. Các đột biến này được gọi là đột biến "thoát" đã được phát hiện ở các BN HBsAg(-), đặc biệt với các xét nghiệm miễn dịch dựa vào cơ sở đơn clôn. Kết quả xét nghiệm cũng có thể âm nếu các đột biến làm chậm tốc độ sao chép virut, qua đó làm giảm HBsAg đến mức không phát hiện được trong huyết thanh. Tần số các đột biến thay đổi theo vùng địa lý và liên quan đến tình trạng BN hoặc phương pháp điều trị.

3.1.1. Các đột biến thoát HBsAg

Vì các gen S và P gối lên nhau được dịch mã trong các khung đọc mở (KĐM) khác nhau, năm 1981, Vyas và Yen đưa ra quan niệm HBV DNA có khả năng sao chép sinh ra từ các đột biến điểm trong chuỗi mã DNA mã hóa 9 phần dư aa từ 139-147, xác định phản ứng miễn dịch của quyết định a của HBsAg. Các biến dị di truyền có các thay thế aa trong 9 phần dư của HBsAg có thể gây ra thay đổi hình thái đủ để thoát khỏi anti-HBs trung hòa khác. Tuy HBsAg tái tổ hợp được dùng

trong vacxin đơn clôn chống lại HBV tạo đáp ứng anti-HBs mạnh và bảo vệ chống lại nhiễm HBV của tất cả các kiểu huyết thanh. Thử nghiệm của Carman và cs, một đột biến thoát gây nên bởi vacxin ở một trong các đứa trẻ có HBsAg và anti-HBs lưu hành đồng thời. Phân tích chuỗi mã cho thấy trong đột biến thoát có sự thay thế glycin thành arginin tại vị trí 145. Sự thay thế này có thể gây thay đổi hình thái trong vòng ngoài của HBsAg đến nỗi anti-HBs tạo nên bởi vacxin có thể không gắn kết vào HBsAg đột biến, vì thế cho phép HBV sao chép với sự có mặt của một đáp ứng kháng thể bình thường chống lại protein vỏ ngoài HBV.

Các đột biến thoát tương tự có thể xảy ra khi dùng liệu pháp miễn dịch sau ghép gan đúng chỗ. Vì nhiễm HBV thường làm mất mảnh dị ghép và giảm tỉ lệ sống sót BN, liệu pháp miễn dịch với HBIG đã được dùng nhằm giảm tỉ lệ tái phát. Tuy nhiên, liệu pháp miễn dịch tiếp tục sau 12 tháng điều trị dẫn đến đột biến thoát trong 20% BN, với đột biến hay xảy ra trong codon cho arginin tại aa 145 trong biểu vị tế bào B của HBsAg. Lamivudine, một chất ức chế HBV polymerase, được dùng như liệu pháp thay thế nhằm ngăn ngừa tái nhiễm, nhưng các thất bại điều trị đã xảy ra do hậu quả của các đột biến thoát trong ổ gen YMDD của gen polymerase. Do các cơ chế khác nhau của tác dụng kháng virut của HBIG và lamivudine, một liệu pháp kết hợp là hợp lý và đang trong một giai đoạn thử nghiệm lâm sàng ban đầu.

3.1.2. Bệnh gan mạn HBsAg(-)

Trong bệnh gan nhiễm HBV mạn, sinh thiết gan giúp chẩn đoán mô học và giúp phân tích DNA tế bào gan, sự phát hiện miễn dịch mô hóa học của các sản phẩm gen HBV và lai in situ để định lượng mức sao chép virut ở một tế bào đơn độc. Các phân tích thấm tách Southern phát hiện các dạng sao chép của HBV DNA trong các mô gan của các BN VG mạn HBsAg(-). Nhận xét này được xác định bằng các phân tách PCR thực hiện với DNA tế bào gan từ nhiều BN HBsAg(-) được ghép gan tại Đại học California, San Francisco. Sự hiện diện của HBV DNA trong mô gan của BN HBsAg(-) có thể được xác nhận đồng thời bởi sự phân tích phân tử HBV DNA khuyếch đại bằng PCR và sự phát hiện miễn dịch mô hóa học của kháng nguyên virut.

3.2. ANTI-HBs

HBsAg gợi ra các đáp ứng kháng thể trung hòa. Các đáp ứng này chủ yếu trực tiếp chống lại các biểu vị hình thể và sự xuất hiện các kháng thể trong huyết thanh cho thấy tình trạng nhiễm virut tự giới hạn điển hình. Một số kháng thể này là duy nhất cho các chủng virut đặc hiệu, nhưng tất cả chủng HBV nguyên sinh chứa một quyết định miễn dịch thường gặp, được gọi là *a*. Anti-HBs/*a* là kháng thể ưu thế nhất trong huyết thanh thời kỳ hồi phục hay ở người được tiêm chủng. Các chủng HBV được xác định bằng một bộ các biểu vị kiểu phụ, *d* và *y*, loại trừ lẫn nhau nghĩa là có

d thì sẽ không có *y* trong một chủng và bởi một bộ biểu vị thứ hai *w* và *r*, cũng loại trừ lẫn nhau. Bởi thế, các nhóm chính của HBV là *adw*, *ayw*, *adr* và *ayr*. Các kiểu phụ được dùng như các chất đánh dấu dịch tễ, không có ý nghĩa sinh bệnh học.

Các kháng thể với HBsAg được phát hiện trong các phòng thí nghiệm bằng một hình thức khác của kiểu "bánh kẹp" RIA, EIA hoặc MEIA trong đó HBsAg được cố định vào một pha rắn và được đánh dấu với ^{125}I hoặc enzym. Hai nhánh hoạt động của kháng thể tạo nên một nối gắn giữa kháng nguyên pha rắn và kháng nguyên đánh dấu. Vì kháng thể ưu thế trong huyết thanh của đa số BN là anti-HBs/*a*, sự chọn lọc chủng HBV cho kháng nguyên chất phản ứng không có ảnh hưởng nhiều lên độ nhạy và độ đặc hiệu so với sự tinh khiết kháng nguyên, các chất pha loãng, hay các điều kiện ủ bệnh.

Ở BN VG B cấp đã hồi phục, chuyển huyết thanh anti-HBs có thể xảy ra một thời gian ngắn sau khi mất HBsAg. Cũng có thể có một giai đoạn kéo dài từ lúc mất HBsAg đến khi xuất hiện anti-HBs. Thời kỳ này được gọi *cửa sổ lõi*, là lúc mà các kháng thể của protein lõi VG B (anti-HBc) là các dấu ấn chỉ thị huyết thanh duy nhất của nhiễm HBV. Thời kỳ cửa sổ lõi có thể kéo dài từ vài ngày đến nhiều tháng. Trong nhiễm HBV, anti-HBs huyết thanh biểu thị tính miễn dịch lâu dài đối với tái nhiễm VG B, chống lại quyết định a của HBsAg góp phần bởi 10 kiểu huyết thanh khác nhau và cho miễn dịch lâu dài chống lại các kiểu huyết thanh HBV. Ngược lại, thất bại miễn dịch đối với quyết định a của HBsAg hình thành tình trạng nhiễm virut mạn và dẫn đến một loạt hậu quả có hoặc không có bệnh. Tình trạng người mang mạn tính được xác định bằng HBsAg và anti-HBc bất biến cùng với sự vắng mặt của anti-HBs bao hàm một sự dung nạp miễn dịch đặc hiệu đối với quyết định a của HBsAg. Cơ chế miễn dịch chính xác cho sự tồn tại của nhiễm HBV chưa được hiểu rõ.

Ở những người được tiêm phòng vacxin, đáp ứng miễn dịch thường không mạnh như trong nhiễm virut tự nhiên và kháng thể do vacxin tạo ra không tồn tại lâu mà giảm dần và có thể tiên lượng được sau lần chủng cuối cùng. Tuy nhiên, hiệu quả của vacxin cho thấy đáp ứng anti-HBs thể dịch đối với các kháng nguyên bề mặt có khả năng bảo vệ chống lại nhiễm HBV.

Anti-HBs được tạo ra ở người được tiêm phòng, nhưng đáp ứng này thay đổi theo từng cá nhân. Ở một số người có đáp ứng miễn dịch sẽ mất kháng thể sau một ít năm và tốc độ của sự mất này có thể được dự đoán bằng nồng độ anti-HBs có được ngay sau lần tiêm nhắc cuối cùng. Tuy thế, mối liên quan giữa nồng độ anti-HBs có thể phát hiện và miễn dịch bảo vệ còn chưa chắc chắn, nhưng có bằng chứng ở người được tiêm chủng không còn anti-HBs vẫn được bảo vệ khỏi nhiễm virut. Tuy nhiên, một số người thận trọng cho tái chủng ở những người kháng thể âm tính 5 năm sau lần chủng đầu tiên.

Không có sự khác biệt về độc lực giữa các chủng HBV, nhưng mỗi chủng tạo các kháng thể đối với kháng nguyên kiểu phụ của nó và các kháng thể này cũng được phát hiện với mức độ thay đổi qua các xét nghiệm khác nhau. Các kháng thể đặc hiệu kiểu phụ có lẽ phần nào gây bảo vệ miễn dịch nhưng chỉ chống lại chủng mà chúng hướng tới. Một vài người mang HBsAg đồng thời có anti-HBs(+), trong trường hợp này kháng thể anti-HBs nhắm vào biểu vị của một chủng HBV khác hơn là chủng đang gây nhiễm cho BN. Nguồn gốc của các kháng thể này chưa rõ, nhưng sự hiện diện của chúng thường làm gia tăng sao chép virut.

3.3. ANTI - PRe - S

Các protein pre-S là các polypeptit của HBV được gắn vào vài protein ưa kiềm 27 kDa gộp thành hạt HBsAg 22nm. Một peptit pre-S2 gồm 55 aa được gắn gần với đầu tận 5', peptit khác gồm 108 đến 119 aa, gọi là pre-S1, cũng có thể được gắn vào đầu tận 5' của pre-S2. Các nghiên cứu sinh học đã tập trung vào chức năng của vùng này như các điểm thụ thể đặc hiệu cho tế bào gan. Các kháng thể chống lại pre-S1 và pre-S2 xảy ra sớm trong quá trình nhiễm virut và không có vai trò miễn dịch bảo vệ vì trong các vacxin HBsAg tự nhiên và tái tổ hợp trước đây không chứa các peptit này. Tuy nhiên, các vacxin mới có chứa các thành phần pre-S đang được nghiên cứu nhằm xác định khả năng hỗ trợ cho hiệu quả miễn dịch bảo vệ.

3.4. ANTI - HBc

Lõi virut của HBV gồm axit nucleic, một DNA polymerase và một kháng nguyên nucleoprotein. Lõi được tổng hợp trong một số ít tế bào gan nhiễm virut và được lắp ráp trong nhân của tế bào gan dưới hình thức một cấu trúc lõi có đường kính 27 nm. Sau đó, lõi được bao bằng một vỏ HBsAg để tạo thành virion. Kháng nguyên lõi VG B (HBcAg) không trực tiếp phát hiện được trong huyết thanh vì vỏ ngoài HBsAg bao quanh nó. Trong trường hợp này HBcAg chỉ được phát hiện sau khi tinh khiết các hạt HBV và tẩy bỏ đi vỏ lipit. Hơn nữa, bất cứ HBcAg nào xuất hiện cũng sẽ phản ứng với kháng thể lưu hành, tạo thành phức hợp kháng nguyên-kháng thể làm cho HBcAg không thể được phát hiện. Tuy nhiên, HBcAg có thể được nhận dạng trong các mẫu sinh thiết gan bằng các kỹ thuật miễn dịch huỳnh quang và sự phát hiện mô hóa học của kháng nguyên này đôi khi được dùng như một dấu ấn của sao chép virut. HBcAg được phân lập đối với các xét nghiệm huyết thanh từ virion, còn gọi là "hạt Dane", tuy đa số các xét nghiệm hiện nay dùng các kháng nguyên lõi tái tổ hợp. Các xét nghiệm miễn dịch anti-HBc thương mại bao gồm một trong hai qui cách, qui cách cạnh tranh hoặc qui cách xét nghiệm trực tiếp. Trong cả 2 qui cách, HBcAg được gắn vào một pha rắn plastic và được dùng để bắt anti-HBc từ mẫu thử. Trong xét nghiệm cạnh tranh, kháng thể bị bắt giữ ức chế sự gắn kết miễn dịch của anti-HBc được đánh dấu, trong khi trong xét nghiệm trực tiếp, kháng

thể bị bắt giữ được phát hiện bằng một bộ dò IgG đánh dấu. Cả hai phương pháp có độ nhạy tương tự. Anti-HBc có lẽ là dấu ấn phơi nhiễm HBV ưu thế nhất về mặt huyết thanh. HBcAg sinh miễn dịch mạnh và hậu quả là nồng độ cao anti-HBc xuất hiện sớm trong nhiễm virut cho thấy một thời kỳ sao chép virut hoạt động. Kháng thể được phát hiện trong huyết thanh sau khi xuất hiện HBsAg trong vòng 1-2 tuần, thường trước khi khởi phát các triệu chứng và trước khi ALT tăng lên và tồn tại trong huyết thanh trong suốt thời gian bệnh và hồi phục. Anti-HBc có thể tồn tại ở BN đã bình phục ngay cả sau khi anti-HBs không còn phát hiện nữa. Nồng độ của anti-HBc thay đổi đáng kể ở các BN nhiễm virut. Những người có một bệnh sử nhiễm virut và hồi phục nhiều năm trước đây thường có hoạt tính anti-HBc thấp hơn ở BN đang nhiễm virut mạn. Anti-HBc sớm nhất trong bệnh cấp tính chủ yếu là kháng thể IgM. IgG và IgA anti-HBc cũng hiện diện cùng một lúc nhưng có hoạt tính thấp hơn. Nồng độ của IgG anti-HBc tiếp tục tăng lên trong giai đoạn hồi phục ban đầu. Tuy nhiên, anti-HBc huyết thanh không phải là kháng thể bảo vệ. Anti-HBc đơn độc trong huyết thanh có thể xảy ra trong 3 khung cảnh khác nhau:

- Các phản ứng dương giả được tạo nên bởi các tín hiệu yếu của tình trạng anti-HBc(+) vì sự có mặt của các thành phần giống IgM trong mẫu xét nghiệm.
- Một vài BN nhiễm HBV mạn có anti-HBc và không có HBsAg trong huyết thanh.
- Một vài trường hợp có thời kỳ cửa sổ kéo dài trong đó HBsAg đã biến mất và các dấu ấn được phát hiện là anti-HBc và anti-HBs, thường phải sau nhiều tháng đến nhiều năm.

Anti-HBc đã được dùng như một dấu ấn dịch tễ để sàng lọc người cho máu có nguy cơ cao. Trong vài quốc gia, anti-HBc được dùng để xét nghiệm máu người cho nhằm xác định các đơn vị máu có nguy cơ truyền nhiễm VG không A không B, AIDS và HBV "ẩn". Tại Mỹ, nơi mà hiệu quả của xét nghiệm thay thế đã được nghiên cứu khá kỹ, mối liên quan giữa anti-HBc, VG KAKB hoặc AIDS góp phần vào sự xuất hiện các yếu tố nguy cơ thường gặp làm nhiễm HBV, VG KAKB và HIV. Trước khi có các xét nghiệm sàng lọc anti-HBc, xét nghiệm anti-HBc của máu người cho được đánh giá làm giảm tỉ lệ mắc của VG KAKB sau truyền máu ở Mỹ lên đến 40%. Độ 50% những người HIV(+) cũng có anti-HBc(+) và điều này được lý giải là những người cho máu HIV(+), đã dương với anti-HBc trước khi nhiễm HIV. Theo đó, sàng lọc anti-HBc có thể phát hiện khoảng phân nửa người cho máu nhiễm HIV. Anti-HBc có liên quan trực tiếp hơn với sự phát hiện HBV. Mặc dù hiện nay nhiều nơi đã dùng các xét nghiệm HBsAg nhạy cảm cao, VG B sau truyền máu vẫn còn là vấn đề trong một số vùng. Theo nghiên cứu của Vyas và Yen về sự phát hiện HBV DNA cho thấy nhiễm HBV "ẩn" ở các đối tượng chỉ có dấu ấn huyết thanh

HBV duy nhất là là anti-HBc. Các ngân hàng máu ở Mỹ đã sàng lọc anti-HBc và ALT trong máu người cho từ năm 1986 và sau đó VG B sau truyền máu sụt giảm đáng kể.

Tuy với việc sàng lọc HBsAg và anti-HCV hiện có, liệu có cần một xét nghiệm thêm anti-HBc để ngừa nhiễm HBV sau truyền máu, vẫn còn là vấn đề bàn cãi. Tại Đài Loan, nơi tần suất HBV cao, PCR phát hiện HBV DNA trong 7/85 (8%) các mẫu huyết thanh chỉ có anti-HBc(+), nhưng HBsAg(-) bằng xét nghiệm miễn dịch phóng xạ. Vì HBV DNA không được phát hiện bởi PCR trong 158 đơn vị máu HBsAg(-) nhưng anti-HBc(+) ở Mỹ, Douglas và cs kết luận xét nghiệm anti-HBc đối với khả năng nhiễm HBV là một phương tiện không hiệu quả trong sàng lọc máu người cho nơi dịch lưu hành thấp. Tuy nhiên, năm 1995, một ban đồng thuận ở Mỹ khuyến cáo anti-HBc vẫn tiếp tục được dùng sàng lọc máu người cho để ngăn ngừa truyền nhiễm HBV có HBsAg(-) và điều đó cũng có thể ngăn ngừa truyền nhiễm HIV thời kỳ cửa sổ do huyết thanh có anti-HBc(+) thường có nguy cơ cao [2].

3.5. IgM ANTI-HBc

Các xét nghiệm IgM anti-HBc được dùng trong chẩn đoán bệnh cấp tính. Tuy nhiên, trong giai đoạn này cũng có một nồng độ thấp IgG anti-HBc. Các xét nghiệm dựa vào một kỹ thuật bắt IgM, qua đó một thành phần IgM nhỏ trong mẫu huyết thanh bị bắt bởi IgM kháng-người được gắn vào một pha rắn. Các kháng thể IgM bị bắt sau đó được ủ trong nhiều bước riêng biệt với các hạt HBcAg và với anti-HBc đánh dấu. Phương pháp rất nhạy, nhưng độ nhạy cần giảm xuống để giúp phân biệt hai thể bệnh cấp và mạn tính. Nếu không giảm độ nhạy, IgM anti-HBc sẽ được phát hiện nhiều năm sau nhiễm virut cấp. Một cách làm giảm độ nhạy là tăng ngưỡng để chỉ dương tính trong vòng 3 đến 6 tháng sau khi phát bệnh cấp tính. Sự hiện diện của IgM anti-HBc trong huyết thanh pha loãng 1/5.000 có thể cho giúp chẩn đoán VG B cấp. IgM anti-HBc(-) trong huyết thanh pha loãng 1/5.000 loại trừ chẩn đoán VG B cấp khá chắc chắn.

Cửa sổ của giai đoạn cấp (khoảng thời gian mất HBsAg và xuất hiện anti-HBs), IgM anti-HBc có giá trị chẩn đoán khi BN đã thải trừ HBsAg trước khi xét nghiệm. Người ta ước tính khoảng 10% trường hợp nhiễm VG B cấp không phát hiện được nếu chỉ dùng HBsAg như là dấu ấn duy nhất. IgM anti-HBc cũng tồn tại mức độ thấp trong VG mạn. Vài nhà nghiên cứu cho rằng IgM anti-HBc nồng độ thấp biểu thị tình trạng sao chép HBV hoạt động và mức độ trầm trọng của bệnh gia tăng.

3.6. HBeAg/ANTI-HBe

Gen C của HBV chứa 2 codon khởi đầu dịch mã trong khung đọc. Khi sự tổng hợp protein khởi đầu tại ATG đầu tiên, một protein tiền lõi 25 kDa được sinh ra. Khi

vào lưới nội bào tương và phân cắt bằng cách phân giải protein ở đầu tận C và đầu tận N, protein ghép thoái hóa bộc lộ quyết định HBeAg. HBcAg được dùng như một dấu ấn sao chép virut, vì tương quan với tính gây nhiễm và là một chỉ thị về mức độ trầm trọng của bệnh gan.

HBeAg là một protein không cấu trúc của HBV. Kháng nguyên có các chuỗi mã aa chủ yếu giống như protein tạo nên hạt HBcAg, HBeAg nhỏ hơn (16 kDa) HBcAg và tồn tại dưới dạng đơn phân, trong khi protein HBcAg là một phần của hạt 27 nm đa phân và phụ thuộc các biểu vị về mặt hình thể. Chức năng HBcAg trong sinh bệnh học của gan hiện chưa rõ.

HBeAg huyết thanh được phát hiện bằng qui cách xét nghiệm miễn dịch "bánh kẹp" tương tự với qui cách xét nghiệm HBsAg. Kháng nguyên bị bắt bởi kháng thể cố định vào một pha rắn và sau đó được phát hiện với một kháng thể thứ nhì đã đánh dấu. Tín hiệu sinh ra tỉ lệ với lượng HBeAg trong mẫu. Một phương thức xét nghiệm cạnh tranh được dùng để phát hiện anti-HBe, dùng chất phản ứng tương tự được cung cấp cho HBeAg. Tuy nhiên, đối với phát hiện anti-HBe, mẫu chưa biết được trộn với một lượng bằng nhau của huyết thanh HBeAg(+) chuẩn với một lượng đã định trước và hỗn hợp được ủ với kháng thể pha rắn. Lượng HBeAg gắn vào pha rắn được phát hiện với kháng thể thứ nhì đã đánh dấu. Trong xét nghiệm này, sự giảm tín hiệu đáng kể so với lô chứng âm cho thấy sự hiện diện của anti-HBe trong mẫu xét nghiệm. Nồng độ HBeAg và anti-HBe huyết thanh thường khá thấp, khi BN phát triển anti-HBe trong thời kỳ lui bệnh, kháng thể sẽ có thể biến mất trong 12 tháng.

HBeAg đã được dùng như một dấu ấn sao chép virut và như một chỉ số tương quan giữa tính nhiễm virut và mức độ trầm trọng của bệnh. BN có bệnh cấp thường có phản ứng mạnh đối với HBcAg tại thời điểm ALT tối đa và đã chứng minh rằng HBeAg có thể được phát hiện ngay lúc HBsAg bắt đầu được phát hiện trong huyết thanh. Mức độ phản ứng giảm dần theo diễn tiến của giai đoạn cấp và HBcAg trở nên không phát hiện được vào thời khoảng trước khi HBsAg được thải trừ. Hiện nay, anti-HBe có thể được phát hiện trước khi mất HBeAg nhưng thường có một ít thời gian chậm trễ giữa 2 dấu ấn. BN có HBsAg, sự tồn tại HBeAg kết hợp với diễn tiến mạn tính; tồn tại HBeAg hơn 12 tuần xác định tình trạng mạn tính, trong khi chuyển huyết thanh thành anti-HBe báo hiệu sự phục hồi. Trong VG B mạn, nồng độ HBeAg song song với thay đổi nồng độ HBV DNA, một chỉ thị khác của sự sao chép virut. HBeAg liên quan đến tính nhiễm virut đã được biết rõ, được chứng minh trong các nghiên cứu truyền nhiễm theo chiều dọc, trong đó nhiễm HBV chu sinh ở trẻ sinh ra từ người mẹ mang HBeAg(+) nhiều hơn những đứa trẻ sinh ra từ người mẹ mang anti-HBe(-).

Một số ít BN có HBV sao chép hoạt động và bệnh gan không sinh HBeAg. Các nghiên cứu gần đây đã chứng minh tình trạng HBcAg(-) là do đột biến trong vùng

tiền lõi của bộ gen virut. Một thay đổi duy nhất xảy ra ở một cặp bazơ tại vị trí 1896 chuyển bộ ba mã hóa tại chỗ này thành một codon "kết thúc". Bởi thế, trong tổng hợp protein virut, tiền chất của HBeAg không được sản xuất. Điều này hình như có một ít tác dụng trên sự biểu hiện của phần còn lại của virut lây nhiễm. Một vài nghiên cứu cho là biến dị HBeAg(-) liên quan đến các trường hợp VG kịch phát. Nếu có, mối liên quan chỉ gián tiếp. Người mang HBV tồn tại HBeAg(-) không triệu chứng nhưng có thể truyền nhiễm VG kịch phát cho người khác và những người mang đột biến khác có bệnh nhẹ có thể phát triển thành kịch phát sau này. Đặc trưng của bệnh kịch phát gây nên bởi kiểu HBV nguyên sinh hoặc đột biến, là không có số lượng HBV đáng kể trong huyết thanh BN. Biến đổi tình trạng lâm sàng tùy thuộc vào các đáp ứng miễn dịch chủ, nhưng điều này cần được làm rõ. Nguyên nhân của VG B kịch phát còn được tranh luận. Tuy nhiên, các nghiên cứu gần đây cho thấy HBV đột biến tiền lõi đã chuyển thành virion gây bệnh tế bào.

Các số liệu dịch tễ của đột biến tiền lõi có được bằng các phương tiện huyết thanh gián tiếp, đo HBV DNA cùng với các kiểu HBeAg/anti-HBe. Các đột biến này thường gặp ở các nước Địa Trung Hải và Viễn Đông hơn ở Bắc Âu và Mỹ. Tóm lại, có 4 kiểu HBeAg/anti-HBe:

- Tồn tại HBeAg trong các BN VG B mạn hoạt động.
- Tồn tại HBeAg nhưng BN không có bằng chứng của bệnh gan.
- Mất HBeAg sau đó chuyển huyết thanh thành anti-HBe, bệnh gan ngừng hoạt động.
- Anti-HBe trong các BN có bệnh gan mạn.

3.7. HBV DNA

Xác định nồng độ HBV DNA huyết thanh đã thành một xét nghiệm đánh giá BN VG B mạn, vì là một trong các yếu tố dự báo tổn thương gan tiến triển cũng như đáp ứng với điều trị. Mức độ HBV DNA trong huyết thanh phản ánh trực tiếp tình trạng sao chép virut trong tế bào gan. Xác định HBV DNA nồng độ thấp đã làm sáng tỏ tình trạng lây nhiễm của một người mà các xét nghiệm miễn dịch của kháng nguyên hoặc kháng thể còn mơ hồ. Gần đây, sự ra đời nhiều phương pháp thương mại mới nhằm phát hiện HBV DNA đã cung cấp các kỹ thuật chất lượng có thể thực hiện trong các phòng thí nghiệm thường qui, tuy vậy đa số hiện mới chỉ còn được dùng trong nghiên cứu.

HBV có một DNA vòng, nhỏ (32kb) gần như là mạch kép chứa một vùng mạch đơn ngắn. Nằm trong một vỏ ngoài, gen virut này được tạo vỏ gồm kháng nguyên lõi VG B và có một DNA polymerase virut có khả năng lấp đầy phần mạch đơn của DNA trong khi sao chép. Trong huyết thanh, lớp capsit bên trong này được phủ bởi

một vỏ ngoài HBsAg. Các phương pháp đo lường DNA polymerase hoặc HBV DNA được dùng để định lượng sao chép virut, và các xét nghiệm HBV DNA thương mại hiện nay đã khá phù hợp với mục tiêu này. Các xét nghiệm gồm 3 kiểu: lai trực tiếp, chuỗi nhánh (b–DNA) và phương pháp PCR.

3.7.1. Xét nghiệm lai trực tiếp

Bao gồm một phản ứng giữa DNA mục tiêu được dùng để xét nghiệm và một bộ dò axit nucleic đánh dấu có một chuỗi mã bổ trợ cho một điểm trên HBV DNA mục tiêu: phản ứng này được kèm theo nhiều phương thức thiết kế để lấy đi bộ dò đánh dấu không phản ứng và đo lường sản phẩm được đánh dấu. Tuy độ nhạy bị hạn chế, phương pháp lai trực tiếp có độ chính xác khá tốt để định lượng và thường có một biên độ phát hiện rộng.

3.7.2. Phương pháp chuỗi nhánh HBV DNA (b–DNA)

Phương pháp có 10 đến 20 lần nhạy hơn phương pháp trực tiếp. Phương pháp này bao gồm một bước phản ứng để bắt HBV DNA tương tự như phản ứng trực tiếp, sau đó dùng một bộ dò với một cấu trúc nhánh để khuếch bội tín hiệu thông cáo. b–DNA có độ chính xác phù hợp cho định lượng, với các biên độ phát hiện mở rộng hơn 3 log.

3.7.3. PCR

Một phương pháp sao chép hàng ngàn lần HBV DNA mục tiêu bằng enzym. Một phương pháp trên cơ sở PCR thương mại để phát hiện HBV DNA gần đây được phát triển và dùng kết hợp với một hệ thống đọc liên quan đến enzym tự động nhằm phát hiện sản phẩm sao chép. PCR nhạy hơn với phương pháp lai trực tiếp (độ 5 log) hoặc b-DNA (độ 4 log) nhưng khó định lượng hơn. Vì PCR khá nhạy, đa số mẫu có thể được xác định bằng các phương pháp trực tiếp hoặc b-DNA cần phải pha loãng để được định lượng.

Định lượng HBV DNA huyết thanh cần một chuẩn tham chiếu. Khi dùng các chuẩn thương mại, các giá trị được ấn định cho chúng ít tương quan với một chuẩn khác. Thí dụ, chuẩn Genostics (lai dung dịch trực tiếp) được ấn định một giá trị 100 pg/ml, nhưng chuẩn này lại là 4.000 pg/ml khi định lượng bằng Quantiplex b-DNA. Gần đây, nhóm chuyên gia VG virut châu Âu đã hình thành một chế phẩm đồng thuận trong *Eurohep Units*, với một EU tương đương 1 đến 2 phân tử HBV DNA. Dùng chuẩn quốc tế này, có thể ấn định giá trị HBV DNA đối với các mẫu lâm sàng, dù dùng phương pháp phát hiện nào.

Khả năng của xét nghiệm HBV DNA được xác định qua khả năng phát hiện axit nucleic trong các mẫu HBsAg(+). Khả năng phát hiện của 3 kiểu xét nghiệm DNA có thể dự đoán qua độ nhạy của chúng:

- Phương pháp lai trực tiếp phát hiện đa số mẫu HBeAg(+), nhưng ít hiệu quả khi anti-HBe(+).
- Phương pháp b-DNA phát hiện gần như tất cả ở các kết quả HBeAg(+) và khoảng nửa anti-HBe(+).
- Phương pháp PCR phát hiện đa số các kết quả HBsAg(+) bất chấp tình trạng HBe.

HBV DNA huyết thanh được phát hiện ở BN trước khi khởi phát VG B cấp và trước khi ALT tăng lên. HBV DNA thường giảm nhanh lúc ALT tăng tối đa và chuyển huyết thanh anti-HBe. Tương quan giữa HBV DNA và ALT cũng giống với tương quan trong các BN điều trị với IFN. HBV DNA huyết thanh giảm nhiều ở các BN VG B kịch phát, phù hợp với ý kiến cho rằng các yếu tố miễn dịch làm tổn thương gan trong lúc thải trừ virut.

Hiện nay, HBV DNA ít dùng trong theo dõi điều trị BN VG B cấp vì các kháng nguyên và kháng thể cung cấp đầy đủ thông tin chẩn đoán và tiên lượng. Tuy nhiên, HBV DNA là một phương tiện hữu ích để đánh giá BN trong giai đoạn mạn hoặc BN nhiễm virut cấp có các điều kiện bất thường. Số lượng HBV DNA trong huyết thanh được dùng để xác định tình trạng sao chép hoặc không sao chép. Các BN có tình trạng sao chép được xác định ở những người HBV DNA và ALT tăng cao và thường có kháng nguyên huyết HBe, trong khi các BN trong tình trạng không sao chép có HBV DNA không phát hiện được bằng các xét nghiệm lai, có ALT bình thường và HBeAg(-). Đối với BN có HBV không sao chép, HBV DNA gặp trong các mẫu sinh thiết gan chỉ khi chúng hòa nhập vào bộ gen tế bào. ALT bình thường cho thấy bằng chứng thuyên giảm mô học và BN có thể đang đến gần tình trạng chuyển huyết thanh anti-HBs.

DNA ở mức phát hiện được bằng phương pháp lai trực tiếp là một yếu tố dự báo mạnh về tính lây nhiễm HBV. Tassapoulis và cs chứng minh người mang HBV DNA(+) có khả năng truyền nhiễm gấp 5 lần cho các bạn tình khác giới hơn là những mang HBV DNA(-). Các số liệu này tương tự với các báo cáo cho thấy người mang HBeAg có nhiều khả năng truyền nhiễm cho các bạn tình của họ hoặc người mẹ HBeAg(+) có khả năng truyền nhiễm cho con cái. Những người anti-HBe(+) có HBV DNA(+) hay gặp ở các vùng Địa Trung Hải và Viễn Đông hơn vùng bắc châu Âu và Mỹ. Đây là những vùng mà các đột biến HBV tiền lõi thường gặp, và các quan sát cho thấy BN anti-HBe có nồng độ cao HBV DNA là BN nhiễm với các đột biến tiền lõi không có khả năng tạo HBeAg.

4. PHÂN LOẠI MÔ HỌC CỦA VG MẠN

Một số BN VG B mạn sẽ hồi phục tự nhiên, trong khi một số khác phát triển nặng và tiến triển. Tuy nhiên, một số BN nhiễm bệnh tiềm ẩn có thể có diễn tiến

chậm chạp. Các nỗ lực xếp loại theo giai đoạn và tiên lượng của người mang mạn tính đã là chủ đề của nhiều thập kỷ nghiên cứu và hiện nay do có các chọn lựa điều trị mới, sự phân loại cần phải được cải tiến.

Đa số các chuyên gia về gan nhận thấy việc dùng các triệu chứng trong việc phân tầng các BN VG mạn không đủ tin cậy. Phần lớn BN không có triệu chứng và việc có hay không các triệu chứng không thể giúp chẩn đoán phân biệt các trường hợp nhẹ từ bệnh tiến triển cho đến các BN trong các giai đoạn đã tiến triển xa. Tiêu chuẩn được chấp nhận trong xếp loại hiện nay là bằng chứng mô học của một mẫu sinh thiết gan. Khảo sát mô học của người mang khỏe mạnh phát hiện những bằng chứng tổn thương gan tối thiểu, đôi khi là các tế bào gan "kính mờ", trong khi mô gan của các BN VG mạn hoạt động (VGMTHĐ) có sự phá hủy rộng, hoại tử từng phần, thường kèm theo thâm nhiễm các tế bào đơn nhân, có hay không có xơ gan. BN bệnh nhẹ có hoại tử tế bào gan tối thiểu và các thâm nhiễm viêm giới hạn ở khoảng cửa. Trường hợp này được xếp loại như VG mạn tồn tại (VGMTTT). Xếp loại mô học có các hạn chế và các hạn chế này đã trở nên nổi bật hơn với sự xuất hiện nhiều phương thức điều trị. Sau cùng, sinh thiết không có tính thường qui ở BN, nhất là khi BN không có triệu chứng. Giải thích các giai đoạn có thể rõ hơn trong mẫu sinh thiết ở vài BN; nhưng VGMTHĐ và VGMTTT là hai cực của một phổ phản ứng viêm và VGMTTT có thể tiến triển đến VGMTHĐ. Các thay đổi tiến triển không dễ dự đoán trên một mẫu sinh thiết duy nhất. VGMTTT có thể là một quan niệm sai lầm với ngụ ý là không có thay đổi nào xảy ra, vì thế bệnh không thể nghiêm trọng. Sự phân loại cải tiến hoặc các phân loại mới đang được đưa ra. Thật vậy, nhiều nhà gan học thay đổi cách phân loại để phản ánh các tầng nấc sao chép HBV, cũng như tổn thương gan.

Sự xếp loại giúp các quyết định chọn lựa điều trị và giúp giám sát đáp ứng điều trị. Mục tiêu của điều trị là diệt virut và loại bỏ các quá trình viêm và xơ hóa trong gan, vì thế phần lớn các tiêu chuẩn cho các giai đoạn VG B mạn được dùng khi chúng bao gồm thông tin định lượng về tốc độ sao chép virut và thông tin về tình trạng viêm và xơ gan.

Trong VG B mạn hoạt động, Trịnh Thị Xuân Hòa và cs nhận xét có một số biến đổi siêu cấu trúc như sau: ngoài các tế bào gan đã bị hoại tử, các tế bào gan còn lại có nhiều biến đổi,màng nhân nhăn, không tròn đều (80%), nhân hình thù kỳ lạ (40%), chất nhân thưa (35%), bào tương giảm các bào quan (100%). Hình ảnh tổn thương mô liên kết với tổ chức xơ phát triển (80%) với các mức độ khác nhau, thâm nhiễm bạch cầu đơn nhân (62,5%) và tế bào Kuppler tăng sinh và thực bào (55%).

Chỉ số HBV tốt nhất trong gan là nồng độ HBV DNA huyết thanh cùng với số lượng HBeAg huyết thanh. Nhiều nghiên cứu cho thấy HBcAg trong gan cũng tương quan chặt chẽ với bệnh gan hoạt động, nhưng việc phát hiện HBcAg thường qui

trong gan không dễ thực hiện trong các phòng thí nghiệm. Các nỗ lực đầu tiên dùng HBeAg và HBV DNA trong việc xếp loại dựa trên các phát hiện âm hay dương bằng các xét nghiệm miễn dịch hoặc bằng phương pháp thấm tách không khếch bội hoặc phương pháp lai dung dịch. Dựa vào sự giới hạn độ nhạy của phương pháp lai dung dịch, một BN có thể có độ 10^6 bản sao HBV DNA cho mỗi ml và còn được xác định như một tình trạng không sao chép. Mặt khác, các phương pháp PCR phát hiện HBV DNA trong đa số BN, gồm các BN là người mang không triệu chứng có bệnh gan tối thiểu. Đa số những người nhiễm virut mạn đang có tình trạng sao chép, tốc độ sao chép được đo bằng tải lượng virut, giúp phân biệt BN có tổn thương gan tối thiểu với các BN có bệnh tiến triển. Hơn nữa, định lượng HBV DNA cần thiết cho việc xếp loại. Các xét nghiệm lai không khuếch bội, đặc biệt là phương pháp b-DNA, có độ nhạy đủ và có khả năng tái sản xuất. Hiện nay, phương pháp PCR có thể dùng xác định tình trạng thải trừ virut hoàn toàn. HBsAg có thể tồn tại trong huyết thanh ngay cả sau khi HBV DNA biến mất và điều này cho thấy tồn tại một vài mức độ sao chép virut dư thừa. Cuối cùng, chuyển huyết thanh từ HBsAg sang anti-HBs có thể là chỉ thị tốt nhất về tình trạng chấm dứt hoàn toàn sao chép.

Định lượng HBeAg cũng có giá trị trong phân loại: nồng độ HBeAg cao tương quan với tốc độ sao chép và vì thế tổn thương gan có thể tăng lên. Đôi khi có một nghịch lý giữa mức độ HBV DNA và HBeAg xảy ra như hậu quả của một đột biến HBV tiền lõi, khả năng này cần nêu lên khi phân loại các dấu ấn sao chép (bảng 10-3).

Người mang mạn tính có thể trải qua các thời kỳ gia tăng virut huyết trước một đợt bệnh trầ m trọng và sự gia tăng HBV DNA có trước bằng chứng tổn thương gan. Sự khởi phát hủy hoại tế bào gan cùng với sự xuất hiện phản ứng miễn dịch đối với HBV gợi ý sự phá hủy miễn dịch gây nên bởi vật chủ của tế bào gan nhiễm virut.

Bảng 10-3. Bảy mô hình thường gặp của các dấu ấn sao chép và viêm trong VG B mạn và liên quan của chúng đối với bệnh gan hoạt động.

	I	II	III	IV	V	VI	VII
HBV DNA	cao	cao	thấp	thấp	thấp	cao	thấp
HBeAg	+++	+++	++	0	0	0	0
Anti-HBe	0	0	0	+	+	+	+
ALT	+++	0	+++	++	0	+++	+++
Tình trạng	HĐ	TT	HĐ-TT	HĐ	TT	HĐ	HĐ-TT
Bệnh VG	hoạt động	nhẹ	hoạt động, hoặc phản ứng	phản ứng, hoặc hồi phục	bất hoạt	hoạt động	hoạt động
Dự đoán đáp ứng với IFN	xấu	yếu	tốt	tốt	-	xấu	tốt
Ghi chú						(xuất hiện đột biến?)	

HĐ: hoạt động; TT: tồn tại.

VG kết hợp với sự phá hủy tế bào gan thường được đánh giá bằng ALT, AST, hoặc các enzym tương tự liên quan đến tế bào gan. Tuy không đặc hiệu cho tổn thương gan, các enzym này là dấu ấn tiêu chuẩn chẩn đoán VG cấp. ALT là enzym được dùng rộng rãi nhất nhưng lại ít tin cậy trong bệnh mạn tính, chủ yếu vì thiếu độ nhạy. BN mạn tính có các thời kỳ ALT bình thường có các thời kỳ ALT tăng cao, hoặc dao động không đều khác trong ALT. Dù có các giới hạn như thế, các enzym này và các enzym tương tự là các chỉ thị tốt nhất mà chúng ta có thể dùng để chẩn đoán VG virut.

Một số BN có các khác biệt trong định lượng HBV DNA và HBeAg hoặc trong sự gia tăng ALT. Các mô hình này đặc biệt thích hợp trong tiên lượng đáp ứng đối với IFN. Ba mô hình đầu tiên được xác định bằng sự hiện diện của HBeAg và HBV DNA nhưng phân biệt với một mô hình khác qua các mức ALT hoặc HBV DNA và HBeAg khác nhau. Bốn mô hình sau ở BN không có HBeAg, vài trường hợp không có HBV DNA phát hiện được bằng phương pháp lai, hoặc các mức độ ALT và HBV DNA của chúng khác biệt. Kiểu V thường gặp nhất ở các BN có anti-HBe, nhưng kiểu VI và kiểu VII thấy ở các BN thuộc nhiều vùng địa lý khác nhau có các đột biến tiền lõi. Các nghiên cứu mô học khảo sát tổn thương tế bào gan trong các kiểu huyết thanh cho thấy một hình ảnh liên kết các thay đổi bệnh học với các kiểu nêu trên.

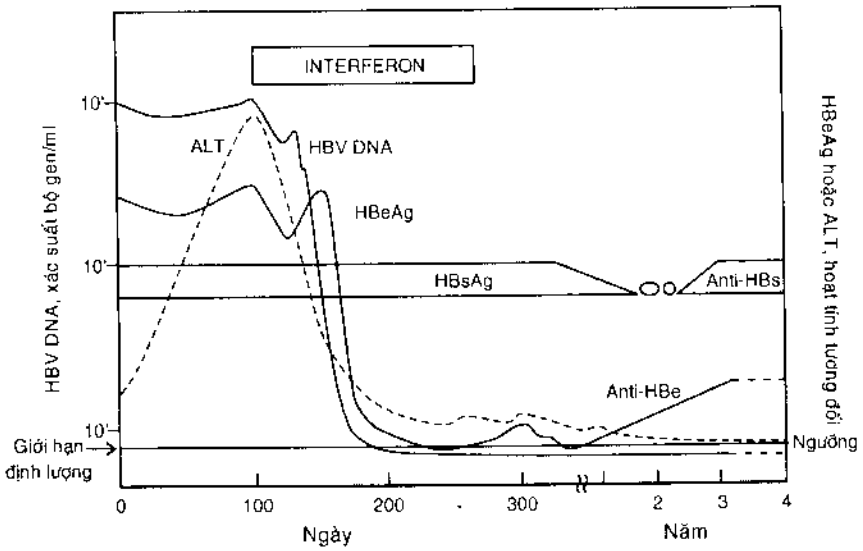
5. DIỄN BIẾN CỦA HUYẾT THANH TRONG ĐIỀU TRỊ VG B MẠN BẰNG IFN

Các interferon (IFN) tái tổ hợp có hiệu quả trong điều trị một số BN VG B mạn. Khoảng 40-50% BN được điều trị IFN đầy đủ cuối cùng có thể thuyên giảm bệnh. Một đáp ứng điều trị với IFN được xác định bằng mất HBV DNA và HBeAg huyết thanh kéo dài, ALT giảm xuống. Mất HBV DNA theo định nghĩa này là mất khi phát hiện bằng các phương pháp lai không khuếch bội. Các phương pháp này định lượng sự giảm tải virut, nhưng khi còn 10^6 bản sao HBV DNA cho mỗi ml là có thể không còn phát hiện được. Một kết quả điều trị thành công thường chịu ảnh hưởng bởi một số biến độc lập, bao gồm thời khoảng nhiễm virut và các khác biệt giới tính, cũng như mức độ của các dấu ấn sao chép virut và VG (bảng 10-4).

Bảng 10-4. Các yếu tố ảnh hưởng đến đáp ứng đối với IFN

Thuận lợi	Không thuận lợi
HBV DNA thấp	HBV DNA cao
ALT tăng	ALT bình thường
HBeAg thấp	HBeAg cao
Nhiễm HBV thời gian ngắn	Nhiễm virut đã thiết lập hoặc mắc phải ở trẻ nhỏ
Không có bệnh nền HIV, HDV, HCV	Có bệnh nền HIV, HDV, HCV
Phụ nữ, cách sống tình dục khác giới	Nam, kiểu sống tình dục đồng giới
Mô học hoạt động, xơ gan hạn chế	Xơ gan mất bù quan trọng
IgM anti-HBc gia tăng	IgM anti-HBc(-)

Khi HBV DNA hoặc HBeAg được định lượng, nồng độ trước điều trị của mỗi dấu ấn độc lập với các yếu tố tiên lượng. Nồng độ trước điều trị của HBV DNA và HBeAg ở người không đáp ứng lớn hơn người đáp ứng. Đa số những người đáp ứng có dưới 10^9 bộ gen cho mỗi ml, được xác định bằng chuẩn Eurohep. Giá trị HBV DNA này được xác định bằng pg/ml bởi các xét nghiệm thương mại và khác biệt có ý nghĩa với xét nghiệm được dùng; với Genostics giới hạn trên của HBV DNA xác định nhóm BN đáp ứng dưới 100 pg/ml; với Quantiplex HBV (b-DNA) giới hạn này dưới 4.000 pg/ml. Về HBeAg định lượng, đa số người đáp ứng có dưới 20.000 đơn vị/ml, trong khi người không đáp ứng có các giá trị cao hơn.

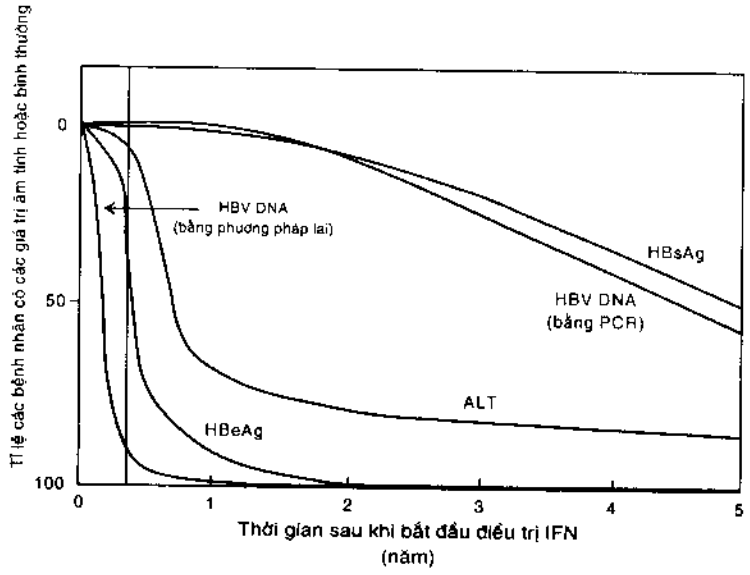


Hình 10-3. *Mô tả sơ lược huyết thanh học của các thay đổi dấu ấn HBV của tình trạng sao chép và của ALT ở BN đáp ứng với IFN.*

Xét nghiệm HBV DNA và HBeAg trong điều trị giúp phân biệt các đáp ứng tốt và xấu. Người đáp ứng thường mất HBV DNA trong vòng 2 tháng; người không đáp ứng chỉ có các giá trị giảm xuống tạm thời. Qua định lượng nồng độ HBeAg, Perrillo và cs, chứng minh các BN đáp ứng mất hơn 90% HBeAg sau tháng thứ 2 đến tháng thứ 3, trong khi các BN nhiễm virut đề kháng với điều trị chỉ thay đổi thoáng qua. Trong các BN như thế, HBeAg biến mất vài tháng sau khi HBV DNA trở nên không phát hiện được, trong một số trường hợp, HBeAg biến mất một vài tháng sau khi hoàn tất thời biểu điều trị. Các kết quả xét nghiệm là thông tin quan trọng cho điều trị, từ 30% đến 40% BN VG B mạn điều trị bằng IFN cần điều chỉnh liều lượng để giảm thiểu các tác dụng phụ. Mặt khác, ở người không đáp ứng có thể cần tăng thêm, mở rộng điều trị, hoặc bắt đầu đợt điều trị thứ nhì hoặc điều trị thay thế.

Vào cuối đợt điều trị với IFN, ALT giảm nhiều ở những người đáp ứng (hình 10-3). Mặc dù ALT giảm và mất các dấu ấn sao chép, sự thuyên giảm tình trạng nhiễm virut mạn có thể cần đến nhiều năm. Một năm sau điều trị, đa số những người đáp ứng còn HBV DNA khi xét nghiệm bằng PCR; đa số cũng còn dương với HBsAg, và ALT vẫn chưa trở về biên độ bình thường. Các nghiên cứu lâu dài ở những người đáp ứng hiện nay đã phát hiện độ 13% (biên độ từ 0 đến 24%) chuyển huyết thanh tạm thời hoặc lâu dài. Tuy nhiên, tần số tái phát và các giá trị ALT bất thường giảm theo thời gian, cùng với sự biến mất HBV DNA và HBsAg (hình 10-4). Tuy phân tích này thay đổi đôi chút ở các BN thuộc các vùng địa lý khác nhau. Thải trừ virut sẽ chỉ được hoàn tất khi có chuyển huyết thanh HBsAg sang anti-HBs và có thể cần đến 6 năm. Tuy nhiên, lợi ích đối với các BN điều trị với IFN không luôn tùy thuộc vào việc thải trừ hoàn toàn virut. Người đáp ứng có một xác suất sống sót cao và không có các biến chứng nặng khi so với người không đáp ứng và các BN VG B mạn không được điều trị, kể cả những người đáp ứng khi bệnh đã tiến triển đến xơ gan trước khi điều trị bắt đầu.

Các thuốc khác đã được nghiên cứu gần đây như các liệu pháp thay thế. Lamivudine và Famcyclovir là 2 thuốc được dùng để uống và dung nạp tốt ở BN. Cả 2 ức chế nhanh chóng HBV DNA khi đo lường bằng phương pháp lai. HBV DNA thường trở về mức độ trước khi điều trị trong phần lớn BN khi ngưng điều trị.



Hình 10-4. *Các thay đổi lâu dài trong các dấu ấn huyết thanh học HBV và ALT trong các BN đáp ứng với liệu pháp IFN.*

Tuy nhiên, thuốc dung nạp cao và có độc tính thấp có thể cho phép một chế độ điều trị lâu dài nhằm ức chế sao chép virut để cải thiện tình trạng bệnh. Nếu chiến lược điều trị này được dùng, các phương pháp giám sát sự xuất hiện đột biến kháng thuốc trở nên rất cần thiết.

6. ĐỒNG NHIỄM VIRUT

BN VG B mạn thường nhiễm thêm virut khác. Một số nhiễm virut thứ phát ảnh hưởng đến hậu quả lâm sàng và có thể ảnh hưởng trên các dấu ấn HBV huyết thanh.

6.1. ĐỒNG NHIỄM VỚI CÁC VIRUT VG KHÁC

Bội nhiễm VG B mạn với VG A đã được ghi nhận, và có một tần số tương đối cao nhiễm virut đồng thời hoặc bội nhiễm với HCV, HIV, HDV và một VG virut mới phát hiện GBV-C/HGV. Các tác nhân VG khác hay gây sự cạnh tranh virut với sự sao chép HBV, làm giảm 10 lần HBV DNA huyết thanh. Cạnh tranh sao chép HBV bằng VG C cũng được phản ánh trong một sự giảm HBsAg huyết thanh và các nghiên cứu về BN đồng nhiễm HBV với HCV hoặc HDV cho thấy chẩn đoán VG B có thể bị bỏ qua vì mức độ HBsAg thấp. VG A cấp ở BN VG B mạn cũng tạo nên một cạnh tranh sao chép HBV tạm thời.

6.2. ĐỒNG NHIỄM VỚI HIV

BN nhiễm HIV có một số kiểu HBV khác biệt, nhiễm HIV được chứng minh làm tăng sao chép HBV trong một số BN, và những người nhiễm HIV phát triển VG B cấp có thể có một giai đoạn cấp kéo dài. Hiện tượng này có lẽ do tình trạng tổn thương miễn dịch trong HIV: BN nhiễm HIV và VG B mạn cũng làm giảm quá trình VG. Một số BN HIV(+) có thể có HBV DNA nồng độ cao. Sau cùng, tỉ lệ cao của người HIV(+) có HBV DNA huyết thanh chỉ dương đối với anti-HBc (không có HBsAg). Hơn nữa, các BN khác có HBsAg nhưng nồng độ anti-HBc thấp.

7. CÁC KIỂU HUYẾT THANH BẤT THƯỜNG TRONG NHIỄM HBV

Các kiểu dấu ấn huyết thanh HBV bất thường khác đôi khi gặp ở các BN và người hiến máu; các phát hiện này thường khó lý giải. Các kiểu đơn thuần thường được gặp trong một vài vùng địa lý và thường xảy ra ở những người không triệu chứng hơn là ở BN.

7.1. HBsAg KHÔNG CÓ ANTI-HBe

Các mẫu HBsAg(+) nhưng anti-HBc(-) thường được báo cáo. Vì HBsAg là một dấu ấn sớm xuất hiện trong nhiễm virut cấp trước khi có triệu chứng và có thể là dấu ấn nhiễm HBV duy nhất trong một thời gian. Sau đó các mẫu máu sẽ phát hiện IgM

anti-HBc và anti-HBc toàn phần ngay cả khi BN chỉ nhiễm virut dưới lâm sàng. Các giải thích khác được quan tâm để biện giải cho trường hợp duy nhất có HBsAg. Một tác nhân được gọi là HBV2 đã được đề nghị để giải thích quan sát này ở các BN thuộc các vùng địa lý đặc biệt. Các nghiên cứu chuỗi mã phân tử HBV DNA đôi khi phát hiện các biến dị trong các vùng tiền lõi và lõi và phải chăng các thay đổi nucleotit được phát hiện có thể giải thích sự khiếm khuyết đáp ứng miễn dịch đối với kháng nguyên lõi trong các BN này. Nhiều báo cáo về các trường hợp chỉ có HBsAg gặp trong các BN bị ức chế miễn dịch hoặc nhiễm các virut khác. Điều này có thể do anti-HBc xuất hiện muộn hoặc vắng mặt thứ phát bởi tình trạng ức chế miễn dịch.

7.2. HBsAg VÀ ANTI-HBs

Trong phần lớn BN, chuyển huyết thanh anti-HBs xảy ra trong thời kỳ hồi phục nhưng đôi khi cần nhiều tháng để xuất hiện sau khi thải trừ HBsAg. Sự phát hiện đồng thời HBsAg và anti-HBs ở một số BN VG B cấp thường tình cờ, nhưng ở khoảng 30% BN VG mạn với nhiều mức độ khác nhau. Khả năng tìm thấy cả 2 dấu ấn phụ thuộc vào độ nhạy và độ đặc hiệu của các xét nghiệm được dùng, nhưng sự xảy ra đồng thời của kháng nguyên và kháng thể thường gặp trong VG mạn hoạt động hơn là những người mang không triệu chứng. Kiểu phụ kháng thể cùng hiện diện thường không liên quan đến kiểu phụ HBsAg trong mẫu xét nghiệm và anti-HBs/*a* hiếm gặp. Đa số hoặc hầu hết anti-HBs/*a* có lẽ được gắn vào phức hợp miễn dịch với HBsAg và vì thế không được phát hiện. Đồng xuất hiện của kháng nguyên và kháng thể cũng là một chỉ thị đáp ứng miễn dịch đối với vỏ ngoài virut được kích hoạt trong BN. Việc phát hiện cả 2 dấu ấn đã được xem là bằng chứng của mức độ hoạt tính viêm cao trong các BN này.

Sự hiện diện HBsAg và anti-HBs trong huyết thanh ở một BN đôi khi có thể là bằng chứng đột biến thoát HBV. Các nghiên cứu ở trẻ em châu Phi và Ý đã được chủng vacxin VG B phát hiện một số sau đó dương đối với cả 2 dấu ấn HBsAg và anti-HBs. HBV DNA ở một đứa trẻ người Ý được xác định chuỗi mã và một đột biến được tìm thấy ở gen S gây mất tính phản ứng đối với biểu vị HBsAg/*a*. Vì vacxin tạo một đáp ứng trội anti-HBs/*a*, sự cùng hiện diện kháng nguyên và kháng thể có thể hiểu được.

7.3. ANTI -HBe ĐƠN THUẦN

7.3.1. Định nghĩa

Kiểu "huyết thanh anti-HBc đơn thuần" là sự hiện diện của kháng thể chống lại kháng nguyên lõi (anti-HBc) và là dấu ấn VG B duy nhất. Các số liệu ngày càng nhiều cho thấy kiểu "anti-HBc đơn thuần" không chỉ biểu thị cho VG cấp, VG đã hồi

phục, mà cho cả VG B mạn. Bởi thế, một số BN "anti-HBc đơn thuần" là người mang HBV có các nguy cơ tiềm tàng cho chính họ, cho những người mà họ tiếp xúc cũng như cho các dịch vụ truyền máu và ghép gan.

Các kháng thể đối với lõi HBV là kháng thể đầu tiên được sản xuất trong quá trình nhiễm HBV và xuất hiện khi bắt đầu có triệu chứng và thường tồn tại suốt đời. Trong quá trình nhiễm HBV cấp và mạn, anti-HBc được tìm thấy cùng với HBsAg. Khi tình trạng nhiễm virut đã thuyên giảm thường có thêm kháng thể chống HBsAg (anti-HBs). Tuy nhiên, anti-HBc cũng được tìm thấy khi không có các dấu ấn HBsAg hoặc anti-HBs.

7.3.2. Tần suất anti-HBc đơn thuần

Vùng dịch lưu hành HBV thấp như phần lớn châu Âu và Mỹ, anti-HBc chiếm:

- 1,4% cộng đồng chung.
- 10-20% ở tất cả những người có các dấu ấn HBV.
- 10% người mang anti-HBc đơn thuần có HBV DNA được phát hiện bằng PCR.

Việt Nam, anti-HBc đơn thuần đã được nêu lên trong một số nghiên cứu (bảng 10-5):

Bảng 10-5. Tần suất anti-HBc đơn thuần trong một số nghiên cứu tại Việt Nam

Nơi xét nghiệm	Đối tượng xét nghiệm	Tần số anti-HBc đơn thuần	Tỷ lệ %	Tác giả
Tân châu, An Giang	Cộng đồng, ngẫu nhiên	64/357	17,9	Hầu.
Miền Nam Việt Nam	9 nhóm dân cư	777/2573	30,19	Nhẫn.

7.3.2.1. Tần suất người mang anti-HBc đơn thuần

Trong một nghiên cứu thuần tập ở Đức gồm 5.300 người không chọn lọc, tuổi từ 18-70, tỷ lệ có các dấu ấn HBV chiếm 8,7%, trong đó 0,6% HBsAg(+), 6,7% anti-HBs(+) và 1,4% anti-HBc đơn thuần. Và những người anti-HBc đơn thuần chiếm 16,1% tất cả những người có dấu ấn anti-HBc. Trong các nhóm chọn lọc được xét nghiệm ở những người có anti-HBc đơn thuần bao gồm chủ yếu các BN không triệu chứng như những người tiêm chích ma túy, người đang thẩm tách máu, phụ nữ mang thai, người tỵ nạn cũng như các BN VG mạn.

7.3.2.2. Anti-HBc đơn thuần và HBV DNA

Ở những người anti-HBc đơn thuần, tỷ lệ phát hiện HBV DNA khá thay đổi (bảng 10-6):

Bảng 10-6. Tỷ lệ phát hiện HBV DNA ở các nhóm người anti-HBc đơn thuần.

Nhóm xét nghiệm	Số trường hợp/tổng số	Tỷ lệ %	Tác giả
Người không chọn lọc	5/65	7,7	Jilg và cs
Phụ nữ mang thai	0/104	0	Bast và cs 1996
Người cho máu (Thụy Sĩ)	2/51	3,9	Kherfouches 1999
Người cho máu (Đức)	2/27	7,4	Jilg và cs
Các BN bệnh gan	60/153	39,2	Gross và cs 1993
Các BN bệnh gan	54/164	32,9	Jilg và cs 1995
Đồng nhiễm với HIV	51/57	89,5	Hofer và cs 1998

7.3.3. Phân giai đoạn

7.3.3.1. Giai đoạn cửa sổ

Một số người anti-HBc đơn thuần được cho là ở trong thời kỳ cửa sổ của tình trạng nhiễm HBV cấp đang hồi phục, khi HBsAg biến mất mà anti-HBs chỉ xuất hiện vài tuần sau đó. Các phức hợp miễn dịch đặc hiệu HBV có lẽ có vai trò then chốt trong thời kỳ này. Tuy nhiên, hiện chưa có phương pháp nào được chuẩn hóa và được chấp nhận để đo lường các phức hợp như thế. Các BN trong thời kỳ này có thể gây nhiễm.

7.3.3.2. Giai đoạn miễn dịch muộn

Anti-HBc đơn thuần phản ánh nhiễm HBV đã xảy ra nhiều năm trước hay cả nhiều thập kỷ sau khi nhiễm virut hồi phục. Nồng độ anti-HBs thường thấp hơn anti-HBc ở những người hồi phục khá lâu sau nhiễm virut. Bởi thế, anti-HBs có thể giảm xuống dưới mức phát hiện trong khi anti-HBc vẫn còn tồn tại. Sự tồn tại của anti-HBc có lẽ do tính sinh miễn dịch HBcAg cao.

Những người có anti-HBc đơn thuần như một dấu hiệu miễn dịch muộn có lẽ không khác biệt với những người biểu hiện anti-HBs liên quan đến miễn dịch bảo vệ. Dù thiếu dấu ấn anti-HBs, những người này hình như được bảo vệ chống tái nhiễm qua các cơ chế miễn dịch tế bào và trí nhớ miễn dịch. Quaglio và cs đã khảo sát 497 người tiêm chích ma túy ở Ý có anti-HBc đơn thuần. Sau thời gian theo dõi 49 tháng, 404 (81%) người vẫn còn tồn tại tình trạng này. Trong thời gian đó, không có dấu ấn HBsAg mới nào được phát hiện, cho thấy tình trạng anti-HBc đơn thuần có khả năng bảo vệ chống lại tái nhiễm mạnh và không cần phải tiêm chủng.

7.3.3.3. Giai đoạn mạn tính

Tình trạng mạn tính được xác định rõ ở những người có HBV DNA phát hiện được bằng PCR. Tuy nhiên, những người âm tính qua xét nghiệm PCR đơn thuần cũng không thể loại trừ, vì HBV DNA thường chỉ dương tạm thời, khi BN được theo dõi nhiều năm.

Trong những người anti-HBc đơn thuần, nồng độ HBV thường thấp, hiếm khi quá 10^4 bộ gen/ml. Tuy nhiên, nồng độ ở những người đồng nhiễm với HCV hoặc HIV thường cao (>10^6 bộ gen/ml). Những người có anti-HBc đơn thuần, HBsAg(-), nghi ngờ nhiễm HBV mạn có thể do:

- Kết quả xét nghiệm các dấu ấn HBV khác là âm giả, nhất là HBsAg

Xét nghiệm HBsAg âm giả có thể do nồng độ HBsAg quá thấp (dưới ngưỡng phát hiện) hoặc do đột biến trong quyết định kháng nguyên chính (quyết định a) của HBsAg. Một số BN dương tính với HBeAg hoặc anti-HBc và HBV DNA. Các xét nghiệm HBsAg mới đang được phát triển nhằm phát hiện các loại đột biến HBsAg.

- Do ức chế sao chép HBV hoặc ức chế biểu hiện và bài tiết HBsAg (HBsAg âm thật)

Ức chế biểu hiện gen và sao chép HBV được biết xảy ra trong giai đoạn muộn của nhiễm HBV cấp và mạn (anti-HBc/anti-HBs(+)) và cuối cùng có thể các dấu ấn huyết thanh này biến mất. Đồng nhiễm HCV và HDV cũng có thể ức chế sao chép HBV và vì thế dẫn đến tình trạng huyết thanh anti-HBc đơn thuần. Các đột biến điều hòa giảm sao chép HBV hoặc điều hòa giảm biểu hiện và bài tiết HBsAg cũng có thể góp phần. Các đột biến gen X và gen tăng cường lõi (đột biến mất đoạn 8 nucleotit ở vị trí 1768-1775) theo sau là các đột biến điểm trong các chuỗi mã lặp lại trực tiếp đã được xác định trong các BN có tình trạng virut huyết cực kì thấp thiếu tất cả các dấu ấn HBV huyết thanh. Hơn nữa, các đột biến trong HBV polymerase làm giảm mức độ sao chép mạnh *in vitro*. Các đột biến mất đoạn và đột biến điểm trong vùng gen tăng cường S có thể điều hoà giảm biểu hiện HBsAg ở mức độ phiên mã. Các đột biến này hay các đột biến nào khác liên quan với tình trạng anti-HBc đơn thuần còn đang được nghiên cứu.

7.3.4. Các khía cạnh lâm sàng

Đa số những người này có vẻ khỏe mạnh, với nồng độ ALT bình thường và không có dấu hiệu bệnh gan rõ ràng. Một vài người mang mạn tính có anti-HBc đơn thuần biểu hiện các dấu hiệu VG mạn. Nhiều người bị nhiễm đồng thời với HBV hoặc HCV, vì thế gây khó khăn trong việc xác định vai trò gây bệnh của HBV. Biến chứng muộn của những người có anti-HBc đơn thuần còn chưa được biết rõ, đa số hình như vẫn là người mang khoẻ mạnh, không triệu chứng, có tiên lượng lâu dài khá thuận lợi. Có bằng chứng gián tiếp cho thấy những người này có nguy cơ tiến triển đến xơ gan và UTTBG.

7.3.4.1. Tính gây nhiễm

Những người có anti-HBc đơn thuần có khả năng gây nhiễm. Điều này được chứng minh bởi một số ít báo cáo truyền nhiễm HBV qua tiếp xúc tình dục, truyền

nhiễm chu sinh giữa mẹ và trẻ sơ sinh và ở người nhận máu. Lãnh vực này cần được nghiên cứu thêm.

7.3.4.2. Xét nghiệm anti-HBc

Tùy vào xét nghiệm anti-HBc được dùng và tần suất của các kết quả dương tính thật, một thành phần nhất định của những người anti-HBc đơn thuần sẽ là dương tính giả. Tỷ lệ này nhỏ trong các nhóm tần suất cao nhưng lớn hơn ở các nhóm có tần suất thấp (như những người cho máu). Đa số các xét nghiệm này dựa trên cơ sở một qui cách cạnh tranh. Tất cả xét nghiệm dùng HBcAg tái tổ hợp tương tự gắn trực tiếp hoặc gián tiếp vào pha rắn. Độ nhạy và độ đặc hiệu của chẩn đoán được xác nhận bởi các nhà bào chế là cao hơn 99%. Các mẫu biểu hiện phản ứng gần ngưỡng có nhiều khả năng dương tính giả. Do thiếu một xét nghiệm xác định, không có cơ sở chính xác để tính toán độ nhạy và độ đặc hiệu của một xét nghiệm duy nhất. Khi dùng các bộ xét nghiệm anti-HBc thương mại khác nhau, các kết quả khác biệt từ 1-10%.

Để xác định phản ứng anti-HBc, một xét nghiệm dương đối với anti-HBc không cần xác định khi có các dấu ấn HBV khác như HBsAg, anti-HBs hoặc anti-HBe được phát hiện trong cùng một mẫu. Khi anti-HBc là dấu ấn duy nhất, việc xác định được nghĩ tới qua các số liệu gián tiếp, bổ trợ như: độ mạnh của phản ứng, kết quả của xét nghiệm anti-HBc khác với một quy cách khác và các kết quả xét nghiệm HBV DNA được đo bằng phương pháp khuếch bội. Các khả năng khác là "chủng ngừa chẩn đoán", trung hòa hoặc phong tỏa mẫu với HBcAg. Bệnh sử của BN hoặc người cho máu cũng có giá trị trong việc đánh giá kết quả anti-HBc

7.3.5. Các khuyến cáo của Hội thảo Quốc tế ở Zurich, Thụy sĩ năm 1998

7.3.5.1. Đối với những người có anti-HBc đơn thuần

Anti-HBc đơn thuần được xác định bằng sự hiện diện của anti-HBc khi không có anti-HBs và HBsAg. Trong một số trường hợp, anti-HBe cũng hiện diện mà không có HBeAg. Khi anti-HBc đơn thuần được gặp lần đầu trong khám thường qui trước khi chủng ngừa VG B, trong sàng lọc máu người cho hoặc trong lúc khám lâm sàng, xét nghiệm anti-HBc nên được lặp lại sau nhiều tuần đến nhiều tháng, nhất là dùng xét nghiệm thứ hai với một qui cách khác. Để loại trừ thời kỳ cửa sổ, anti-HBs nên được xét nghiệm một lần nữa sau 1 đến 3 tháng. Để loại trừ "miễn dịch muộn", một "liều nhắc vacxin chẩn đoán" được áp dụng. Một liều vacxin HBV duy nhất thường gây đáp ứng anti-HBs thứ phát và các kháng thể anti-HBs phát hiện được với nồng độ cao trong 1-2 tuần. Có các báo cáo về một liệu trình tiêm chủng 3 liều vào tháng 0, 1 và 2 hoặc 6 dẫn đến sự hình thành anti-HBs (và biến mất anti-HBc) với kiểu đáp ứng miễn dịch nguyên phát. Trong trường hợp này, một xét nghiệm anti-HBc dương giả cần được cân nhắc.

Để xác định nhiễm virut mạn tính, HBV DNA phải được đo lường bằng phương pháp khuếch bội nhạy nhất có trong tay, như PCR hoặc phương thức khuếch bội axit nucleic có khả năng phát hiện 10-100 bộ gen cho mỗi ml. Mặt khác, BN nên được xét nghiệm ALT. Những BN không có HBV DNA và ALT bình thường nên được kiểm tra thường qui mỗi 5 năm. Trong trường hợp ALT tăng khá rõ hoặc xét nghiệm DNA dương tính, sinh thiết gan cần được thực hiện. Tuy đến nay, chưa có nghiên cứu về điều trị ở các BN anti-HBc đơn thuần; ở BN có HBV DNA và các dấu hiệu sinh hóa và mô học của VG hoạt động, điều trị kháng virut cần được cân nhắc, giám sát và theo dõi cẩn thận bởi các trung tâm về bệnh gan. Mặt khác, theo dõi, đánh giá hàng năm là cần thiết. Những người có anti-HBc đơn thuần và nhất là những người HBV DNA(+) là những người có khả năng gây nhiễm và không nên cho máu.

7.3.5.2. Đối với ngân hàng máu và ghép gan

Mặc dù các báo cáo về truyền nhiễm VG B cho người nhận từ người cho máu anti-HBc(+) đơn thuần, việc sàng lọc thường qui anti-HBc tất cả người cho máu không được khuyến cáo. Hiện nay, sàng lọc anti-HBc người cho máu được thực hiện ở một vài nước như Mỹ, Pháp, Brasil, Malta, Hi Lạp và Nhật. Xét nghiệm anti-HBc là bắt buộc trong ghép tạng. Nguy cơ này cao nhất và được ghi nhận đầy đủ nhất trong trường hợp ghép gan.

7.4. ANTI-HBs ĐƠN THUẦN

Tính phản ứng anti-HBs đơn thuần thường gặp trong huyết thanh của những người đáp ứng với miễn dịch chủ động bằng vacxin HBsAg. Phản ứng anti-HBs cũng xuất hiện tản mạn ở các BN không tiêm chủng, có thể do chủng ngừa tự nhiên mà không có nhiễm virut, hoặc anti-HBs có thể tồn tại trong một số trường hợp sau khi HBsAg và anti-HBc biến mất. Phản ứng anti-HBs cũng có thể là giả. Các kết quả dương tính giả đã được thấy trong huyết thanh súc vật và người. Các phản ứng tạo nên từ các chất giống IgM không bảo vệ; BN với các phản ứng này đáp ứng với các phản ứng bình thường hơn là đáp ứng nhớ lại nếu họ được chủng vacxin HBsAg. Cuối cùng là nên cẩn thận trong điều trị những người chưa được tiêm chủng chỉ có duy nhất anti-HBs không bảo vệ và cẩn thận khi tiêm chủng cho họ.

7.5. HBV DNA ĐƠN THUẦN

PCR có thể cho kết quả dương giả. Dù thế, HBV DNA dương thật đã được phát hiện trong huyết thanh của BN thiếu HBsAg, anti-HBc, hoặc các dấu ấn phơi nhiễm HBV thông thường khác. Các nhiễm virut không điển hình này có thể do các thay đổi trong ký chủ nhiễm virut hoặc do chính các thay đổi trong HBV còn cần được xác định, nhưng các bằng chứng cho thấy bộ gen HBV đột biến trong một số trường hợp. Đặc biệt, một mất đoạn nucleotit quan trọng trong gen X đã được xác định

trong các BN ở Nhật và Mỹ. Các đột biến tạo có thể sao chép ở các mức độ khá thấp để sản sinh HBsAg có thể đo được hoặc tăng đáp ứng miễn dịch đáng kể đối với các kháng nguyên HBV khác.

Tình trạng HBV DNA(+) đơn thuần có thể gây nhiễm hay không hiện còn nghiên cứu. Tuy nhiên, Prince và cs đã dùng máu của BN VG B đã hồi phục nhưng còn chứa HBV DNA đơn thuần, không có HBsAg tiêm vào 3 con hắc tinh tinh và theo dõi trong 15 tháng. Không có con vật nào bị nhiễm HBV, chứng tỏ huyết thanh chứa HBV DNA đơn thuần không gây nhiễm. Điều này phù hợp với một số nghiên cứu gần đây cho rằng sau khi hồi phục nhiễm HBV cấp, HBV DNA vẫn còn tồn tại trong nhiều năm ở một số nơi như bạch cầu đơn nhân máu ngoại vi...

8. TÓM TẮT

Các BN VG B cấp có một thời kỳ ủ bệnh từ 6 đến 8 tuần sau phơi nhiễm và trước các dấu hiệu lâm sàng. VG B cấp có dấu hiệu lâm sàng (đau khớp, phát ban, vàng da...) ở trẻ em hiếm xảy ra, nhưng chiếm 25% ở người lớn. VG B cấp cần xác định bằng IgM anti-HBc. HBeAg và HBV DNA được phát hiện trong huyết thanh của BN trước khi có các triệu chứng lâm sàng và gần cùng lúc với HBsAg. Chuyển huyết thanh anti-HBe thường có trước khi thải trừ HBsAg. Chỉ thị huyết thanh tốt nhất trong giai đoạn hồi phục là sự xuất hiện anti-HBs. Dưới 1% BN VG B cấp phát triển VG kịch phát.

HBsAg tồn tại quá 6 tháng được xác định tình trạng mang mạn tính do ít có khả năng hồi phục tự nhiên. Trong khi HBsAg và anti-HBc tồn tại, ALT trở về gần bình thường và chuyển huyết thanh từ HBeAg thành anti-HBe. Các kiểu ht đặc biệt như anti-HBc đơn thuần không chỉ biểu thị cho VG cấp, VG đã hồi phục, mà cho cả VG B mạn. Các trường hợp anti-HBs đơn thuần và HBV DNA đơn thuần cũng đã được mô tả.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. **Decker-RH**. Diagnosis of acute and chronic hepatitis B. In Zuckerman AJ, Thomas HC, editors. Viral Hepatitis. 2nd ed. London. Churchill Livingstone; 1998: 217-26.

2. **Vyas-NG; Yen TSB**. Hepatitis B virus: In S. Specter editor. Viral hepatitis: Diagnosis, Therapy, and Prevention.Totowa, NJ. Humana Press Inc. 1999:50-60.

3. **Grob P; Jilg W; Bornhark H et al**. Serological pattern "anti-HBc alone": Report on a Workshop. J of Med Virol, 2000, 62:450-55.

4. **Okada-S; Sato-T; Okusaka-T; Ishii-H; Ikeda-M; Nakasuka-H; Kosakamoto-H; Yoshimori-M; Wakabayashi-K**. Past exposure to hepatitis B virus as a risk factor for hepatocellular carcinoma in patients with chronic liver disease. Br-J-Cancer. 1998 Jun; 77(11): 2028-31

5. **Châu Hữu Hầu**. Nghiên cứu một số đặc điểm dịch tễ học nhiễm virút viêm gan trong cộng đồng dân cư tại huyện Tân Châu, Tỉnh An Giang. Luận Án PTS khoa học y dược. Học viện Quân Y. Hà Nội. 1995.

6. **Lã thị Nhẫn**. Nghiên cứu nhiễm virut viêm gan B và virus viêm gan C trên một số nhóm người ở miền Nam Việt Nam để góp phần tìm nguồn cho máu. Luận Án PTS khoa học y dược. TĐHY Hà Nội. 1995.

7. **Quaglio G; Lugoboni F, Vento S et al**. Isolate Presence of antibody to hepatitis B core antigen in injection drug users: Do they need to be vaccinated? Clin Infect Dis May 15, 2001, 32(10): E143-E144.

8. **Prince et al**. HBV DNA-positive, antigen-negative blood may not be infectious. 2001 Apr. Available from URL: http://dispatch.mail-list.com/archives/hbv_research/msg02300.html.

9. **Trịnh Thị Minh Liên; Lê Đăng Hà; Nguyễn Kim Thư; Đỗ Duy Cường; Nguyễn Đức Hiền; Nguyễn Anh Tuấn**. Khảo sát nồng độ alpha foetoprotein (AFP) và mối tương quan của AFP với một số xét nghiệm chức năng gan trong viêm gan virut B cấp. Y học thực hành, 1998, số 6 (351), tr 20-22.

10. **Nguyễn Kim Nữ Hiếu, Lê Văn Don**. Nồng độ AFP (alpha foetoprotein) ở 37 bệnh nhân được chẩn đoán lâm sàng là viêm gan B cấp tính. Y học thực hành, 1996, số 3 (320), tr 1-3.

11. **Hoàng Vũ Hùng, Nguyễn văn Mùi, Đỗ Trung Phấn**. Diễn biến các marker của virut viêm gan B và một số yếu tố tiên lượng ở bệnh nhân viêm gan virut B cấp. Kỷ yếu công trình NCKH chuyên ngành truyền nhiễm. Bệnh viện 103, Học viện Quân Y. Hà Nội 2001, tr 10-16.

12. **Trịnh Thị Xuân Hòa, Nguyễn Văn Mùi, Nguyễn Đình Mão**. Một số biến đổi siêu cấu trúc gan ở bệnh nhân viêm gan B mạn hoạt động. Kỷ yếu công trình NCKH chuyên ngành truyền nhiễm. Bệnh viện 103, Học viện Quân Y. Hà Nội 2001, tr 87.

13. **Vignes R; Darmoni SJ; Lebbe J; Poynard T. Viraid**: Web computer-aided serological diagnosis of acute viral hepatitis, automatic creation of a clinical algorithm. http://www.chu-rouen.fr/ds11/publ1/viraidmednet97.html

Chương 11
ĐIỀU TRỊ VIÊM GAN B MẠN BẰNG INTERFERON

Trang

1. MỞ ĐẦU *301*
2. MỘT SỐ VẤN ĐỀ CẦN BIẾT TRONG ĐIỀU TRỊ VG B MẠN 302
2.1. Chu kỳ sao chép HBV *302*
2.2. Quá trình tiến triển và bệnh sinh của nhiễm HBV mạn *302*
2.2.1. Giai đoạn dung nạp miễn dịch *302*
2.2.2. Giai đoạn thải trừ miễn dịch *302*
2.2.3.Giai đoạn không sao chép tồn lưu *303*
2.3. Chuyển huyết thanh HBe Ag tự nhiên *303*
3. Cơ chế thải trừ virut trong đáp ứng miễn dịch bình thường *303*
4. Lịch sử điều trị Vg B mạn bằng IFN *304*
5. Các loại IFN *304*
6. Các tác dụng của IFN *305*
6.1. Tác dụng chung và cơ chế tác dụng *305*
6.2. Tác dụng điều biến miễn dịch *308*
6.3. Tác dụng kháng virut trực tiếp *309*
6.3.1.Phân cắt RNA virut qua các dòng khác men nội tế bào 2',5'OAS *309*
6.3.2. Ức chế sự tổng hợp protein thôn g qua men serin/threonin kinase P1. ..... *310*
7. Sự thải trừ VIRUT VG B *311*
7.1. Tác động điều biến miễn dịch *311*
7.2. Hoạt tính kháng virut trực tiếp *312*
8. ĐIỀU TRỊ VG B MẠN BẰNG IFN 312
8.1. Mục tiêu của điều trị *312*
8.2. Định nghĩa của viện nghiên cứu quốc gia về sức khỏe Mỹ năm 2000 về VGB mạn *312*
8.3. Chỉ định điều trị *312*
8.4. Chống chỉ định điều trị INF-α *313*
9. PHƯƠNG THỨC ĐIỀU TRỊ 314
9.1. Chế độ điều trị *314*
9.2. Chỗ tiêm và đường tiêm *314*
9.3. Chế phẩm IFN-α *314*
9.4. Hiệu quả của IFN-α *314*
9.5. Xét nghiệm theo dõi *315*
9.6. Các tác dụng phụ của IFN-α *315*

10. ĐÁP ỨNG VỚI ĐIỀU TRỊ 317
10.1. Định nghĩa đáp ứng *317*
10.2. Đáp ứng ngắn hạn *317*
10.2.1.Đáp ứng hoàn toàn *317*
10.2.2. Đáp ứng không hoàn toàn *318*
10.3. Đáp ứng lâu dài *321*
11. CÁC YẾU TỐ TIÊN LƯỢNG ĐÁP ỨNG 321
11.1. Các yếu tố tiên lượng đáp ứng *321*
11.2. Một số yếu tố khác *322*
12. Sự kết hợp của điều trị IFN với Corticoit *322*
12.1. Cơ chế của mẫn cảm ban đầu của Corticoit *322*
12.2. Một số kết quả nghiên cứu *323*
12.3. Chỉ định – chống chỉ định của điều trị mối corticoit *324*
13. ĐIỀU TRỊ IFN CHO CÁC NHÓM BN KHÁC *324*
13.1. Bệnh gan mất bù *324*
13.2. Ghép gan *325*
13.3. Các BN đồng nhiễm với HIV *325*
13.4. Các BN với kiểu huyết thanh học không điển hình *325*
13.4.1.VG B anti-HBe(+) *325*
13.4.2. Các BN HBsAg(+) và ALT tăng cao nhưng HBV DNA và HBeAg(-) *327*
13.5. Các biểu hiện ngoài gan *327*
13.5.1. Viêm cầu thận liên quan đến HBV *327*
13.5.2. Viêm đa động mạch nút liên quan đến HBV *327*
13.6. BN Châu Á và BN VGB có AL bình thường *328*
13.7. Các BN trẻ em *328*
13.8. Các BN không đáp ứng với IFN *329*
13.9. VG cấp và VG kịch phát *329*
13.10. Đồng nhiễm VG B và C *329*
14. TÓM TẮT *329*
TÀI LIỆU THAM KHẢO *330*

1. MỞ ĐẦU

Nhiễm virut VG B mạn vẫn còn là một trong các vấn đề y học chủ yếu trên thế giới bởi tỷ lệ mắc bệnh và tử vong còn rất cao. Trong số những người mang HBV mạn thì 40% sẽ chết vì các hậu quả của nó (xơ gan, UTTBG). Ngày nay, việc tiêm phòng bằng vacxin và giáo dục sức khỏe đã có thể hạn chế tỷ lệ nhiễm VG B trong một số quốc gia, nhưng số người mang HBV cần được điều trị trong thế kỷ 21 vẫn còn nhiều.

Các BN HBeAg(+) từ 6 tháng trở lên được xem là những người cần được điều trị kháng virut. Đáp ứng thành công với điều trị được xác định bằng sự thải trừ HBeAg và HBV DNA kéo dài và sau cùng là mất HBsAg. Ngoài những người mang virut kiểu nguyên sinh, còn có những người mang virut biến dị tiền lõi hoặc biến dị anti-HBe. Một số các BN này cũng có thể là ứng viên cho điều trị kháng virut và đáp ứng thành công được xác định bằng sự thải trừ kéo dài của HBV DNA và cuối cùng mất HBsAg.

Chế độ điều trị bằng IFN-alpha là đột phá đầu tiên với tỷ lệ hồi phục lâu dài khoảng 30-40% BN nhiễm HBV mạn. Mục tiêu cuối cùng của điều trị VG B mạn là nhằm loại trừ sao chép virut. Điều trị được xem là thành công khi cải thiện được tình trạng VG, ngăn chận sự tiến triển của các tổn thương gan, ngăn cản sự nhân lên của virut và ngăn ngừa tiến triển đến xơ gan và UTTBG. Gần đây, sự phát triển của các tác nhân tương tự nucleosit có hoạt tính kháng virut mạnh đã được đưa vào điều trị BN nhiễm HBV, nhất là các BN không có chỉ định điều trị hoặc điều trị thất bại với IFN.

2. MỘT SỐ VẤN ĐỀ CẦN BIẾT TRONG ĐIỀU TRỊ VG B MẠN

2.1. CHU KỲ SAO CHÉP HBV

HBV DNA mạch kép đi vào nguyên sinh chất không có mang vỏ ngoài và bộ gen của chúng chuyển vị vào nhân trở thành DNA vòng xoắn đồng hóa trị (cccDNA). Thể trung gian sao chép này trở thành khuôn mẫu cho phiên mã RNA virut và dịch mã của các protein sao chép và protein cấu trúc. Sau đó, phiên mã ngược của RNA tiền bộ gen, qua xúc tác của HBV polymerase, sinh DNA virut, rồi lắp ráp và bài tiết virion HBV và cũng để khuếch đại cccDNA bên trong tế bào. Vì thời gian bán tồn của cccDNA khá dài và sự thải trừ cccDNA có vẻ phụ thuộc vào sự tiêu hủy tế bào gan, cccDNA giữ một vai trò then chốt trong việc duy trì tình trạng nhiễm HBV mạn.

2.2. QUÁ TRÌNH TIẾN TRIỂN VÀ BỆNH SINH CỦA NHIỄM HBV MẠN

Sự tiến triển và bệnh sinh của nhiễm HBV mạn bao gồm 3 giai đoạn:

2.2.1. Giai đoạn dung nạp miễn dịch

Đây là giai đoạn sao chép cao, thường trước 20 tuổi, có bệnh nhẹ hoặc ngay cả không nhận biết trên lâm sàng, HBV DNA huyết thanh tăng cao, HBeAg(+), HBcAg lan tỏa trong nhân của tế bào gan, có hoạt tính mô học nhẹ, không có biểu hiện HLA lớp I.

2.2.2. Giai đoạn thải trừ miễn dịch

Trong giai đoạn này, sao chép giảm xuống, thường giữa tuổi 20 và 40, có nhiều đợt bùng phát và hồi phục, nhưng đa số không có biểu hiện lâm sàng. Trong lúc

bùng phát, có tổn thương gan từ trung bình đến nặng, hoặc ngay cả hoại tử cầu nối gan (BHN= bridging hepatic necrosis). Các thay đổi này thường kết hợp với biểu hiện HLA lớp I trên tế bào gan và biểu hiện HBcAg ở màng hoặc nguyên sinh chất, cũng như thâm nhiễm tế bào T gây độc tế bào (TBTGĐTB) gây phân giải tế bào qua trung gian HLA lớp I hạn chế TBTGĐTB. Nồng độ HBV DNA huyết thanh giảm và HBeAg huyết thanh có thể biến mất và sau đó chuyển huyết thanh anti-HBe.

2.2.3. Giai đoạn không sao chép tồn lưu

Từ tuổi 40 trở đi, khi hồi phục lâm sàng đã xảy ra, anti-HBe(+), nồng độ HBV DNA và HBcAg ở mô không thể phát hiện được và hoạt tính mô học giảm xuống. Thải trừ HBsAg huyết thanh đôi khi xảy ra nhưng rất hiếm. Hiện tượng tái hoạt có thể xảy ra do hồi chuyển huyết thanh thành HBeAg hoặc xuất hiện các đột biến tiền lõi. Mặt khác, bội nhiễm với các virut hướng gan khác có thể xảy ra. Mức độ trầm trọng, qui mô lan tỏa, kiểu virut, thời gian nhiễm và tần số của các biến đổi tiểu thùy gan trong các đợt bùng phát có ý nghĩa tiên lượng hậu quả cuối cùng của nhiễm HBV mạn.

2.3. CHUYỂN HUYẾT THANH HBe Ag TỰ NHIÊN

VG B mạn bột phát có ALT tăng trong quá trình nhiễm HBV mạn là hậu quả của phân giải tế bào gan qua trung gian miễn dịch. Các đợt bùng phát cấp thường kèm theo sự gia tăng α-fetoprotein (AFP) huyết thanh trên 100 ng/ml. Mặt khác, có tương quan chặt chẽ giữa AFP cao hơn 100 ng/ml và hoại tử cầu nối. Bởi thế, AFP lớn hơn 100 ng/ml trong đợt bùng phát cấp hoặc kết hợp với ALT tăng cao có thể được coi như một dấu ấn của hoại tử cầu nối gan. Thải trừ HBV DNA và HBeAg có thể xảy ra sau các đợt bùng phát nặng. Thải trừ HBeAg huyết thanh tự nhiên xảy ra trong vòng 18 tháng trong hơn 60% các BN có ALT tăng gấp 5 lần giới hạn trên của mức độ bình thường hoặc mức độ AFP tăng bất thường. AFP và ALT là các chỉ số tiên lượng ý nghĩa trong chuyển huyết thanh tự nhiên HBeAg trong vòng 18 tháng. Hơn nữa, hơn 70% các đợt bùng phát kết hợp với hoại tử cầu nối gan hoặc AFP tăng cao hơn 100 ng/ml sẽ có thải trừ HBV DNA/HBeAg trong vòng 3 tháng. Các đặc trưng này cần nhớ khi chọn lọc BN để điều trị. Mặt khác, chuyển huyết thanh HBeAg thành anti-HBe thường kéo dài và có thể được xem là bước then chốt nhằm bảo đảm ngừng hoặc ức chế sao chép HBV có thể xem đây là một "khóa miễn dịch". Đây là điều cần cân nhắc khi quyết định ngưng điều trị.

3. CƠ CHẾ THẢI TRỪ VIRUT TRONG ĐÁP ỨNG MIỄN DỊCH BÌNH THƯỜNG

Đáp ứng miễn dịch bình thường đối với VG virut bao gồm bảo vệ thể dịch (các tế bào B sản xuất các kháng thể trung hòa), bảo vệ qua trung gian tế bào (các tế bào giết tự nhiên và các TBTGĐTB) và các tác động của cytokin cùng với các men bên trong tế bào.

Phần lớn các BN nhiễm HBV khỏi bệnh một cách tự nhiên. Cả miễn dịch tế bào và thể dịch có vẻ giữ một vai trò then chốt trong quá trình này. Các BN thải trừ HBV tự nhiên tăng mạnh đáp ứng $CD4^+$ đa clon và tế bào T gây độc tế bào đối với việc nhân lên các protein HBV. Ở người nhiễm HBV mạn, các đáp ứng miễn dịch tế bào rất yếu. Kháng thể đối với HBsAg (anti-HBs) là kháng thể bảo vệ và thường báo trước bệnh sẽ hồi phục.

4. LỊCH SỬ ĐIỀU TRỊ VG B MẠN BẰNG IFN

Từ lâu người ta đã nhận thấy khi bị nhiễm virut thì BN có khả năng đề kháng lại virut sau đó. Đến năm 1957, Isaacs và Lindenmann đã mô tả lần đầu tiên IFN, đó là một loại protein được sản xuất bởi những tế bào bào thai gà bị nhiễm một loại virut bất hoạt của bệnh cúm. Môi trường nuôi cấy các tế bào có các đặc tính kháng virut, còn protein gây ra hiện tượng đó là IFN, là do can thiệp bảo vệ cơ thể, không cho các virut khác xâm nhập vào. Sau này nghiên cứu về đáp ứng miễn dịch tế bào đã phát hiện IFN là cytokin mà các tế bào sản xuất để chống lại virut. Do đó, người ta đã bắt đầu nghĩ đến việc dùng IFN trong điều trị kháng virut.

Năm 1976, công trình đầu tiên điều trị VG B mạn bằng IFN của Greenberg và cs. Các tác giả đã dùng IFN của tế bào bạch cầu do Kari Cantell ở Phần Lan cung cấp để điều trị cho 4 BN VG B với các kết quả khả quan. Từ đó, IFN đã trở thành phương thức điều trị chủ yếu ở các BN VG B và C mạn. Nhất là khi công nghệ gen phát triển từ đầu thập niên 80 của thế kỷ 20, đã tạo ra các IFN tái tổ hợp, góp phần trong điều trị các bệnh gây ra do virut, trong đó có VG virut.

5. CÁC LOẠI IFN

IFN là một họ các protein liên quan có thể xếp vào 2 lớp: I và II:

- IFN lớp I: do nhiễm virut tạo ra và gồm các IFN alpha (α_I, do bạch cầu), beta (β, do nguyên bào sợi) và omega (α_{II}, do lá nuôi phôi=trophoblast). IFN alpha và beta được sản xuất bởi gần như tất cả các tế bào đáp ứng với nhiễm virut và nhiều kích thích khác, gồm cả RNA mạch kép và một vài cytokin (như interleukin-1, interleukin-2 và yếu tố hoại tử u). Gần đây, một loại tế bào đơn nhân đặc hiệu có khả năng tổng hợp IFN-α với tỷ lệ cao đã được mô tả, được gọi là tế bào sản xuất IFN tự nhiên (NIPC, Natural IFN-Producing Cell).

- IFN lớp II là IFN gamma (γ, miễn dịch), được tạo ra do sự kích thích phân bào và kháng nguyên, được tổng hợp ít nhất bởi 3 kiểu tế bào của hệ miễn dịch: các tế bào CD4 (T_{HI}), tế bào giết tự nhiên và tế bào T ức chế CD8. IFN gamma ít có hoạt tính kháng virut nhưng có tác dụng điều hòa miễn dịch mạnh hơn IFN alpha và beta, nhất là hoạt hóa đại thực bào, biểu hiện các KNPHTCC chính lớp II và trung gian trong các đáp ứng viêm tại chỗ.

Đa số các virut động vật nhạy với tính kháng virut của IFN, tuy nhiên nhiều DNA virut tương đối ít nhạy cảm. Hiệu lực kháng virut của IFN được xác định qua 3 vấn đề chính: loại IFN được sử dụng, loại tế bào được điều trị và loại virut với ký chủ bị nhiễm được điều trị bằng IFN.

IFN-β và γ chỉ được mã hóa bởi một gen duy nhất. Trong khi đó, lại có trên 24 gen mã hóa cho IFN-α. Tính tương đồng giữa 24 gen này khoảng 85-90%. Vì vậy, trong trường hợp nhiễm virut, IFN-α phóng thích trong đáp ứng miễn dịch ở người bình thường bao gồm tất cả các kiểu phụ (>24). Trái lại, các IFN tái tổ hợp chỉ biểu thị một loại IFN duy nhất.

IFN-α được bào chế bằng 2 phương pháp chính:

- Phương pháp sản xuất tự nhiên của Cantell, năm 1980: ủ bạch cầu với virut Sendai. Sau 24 giờ, tách bạch cầu và virut, phần còn lại là một hỗn hợp tự nhiên IFN-α và một ít IFN-β. Sau đó, IFN được tinh khiết và chuẩn hóa theo hoạt tính sinh học dựa vào chuẩn quốc tế.

- Một phương pháp khác tổng hợp IFN là kỹ thuật tái tổ hợp với các bước như sau:

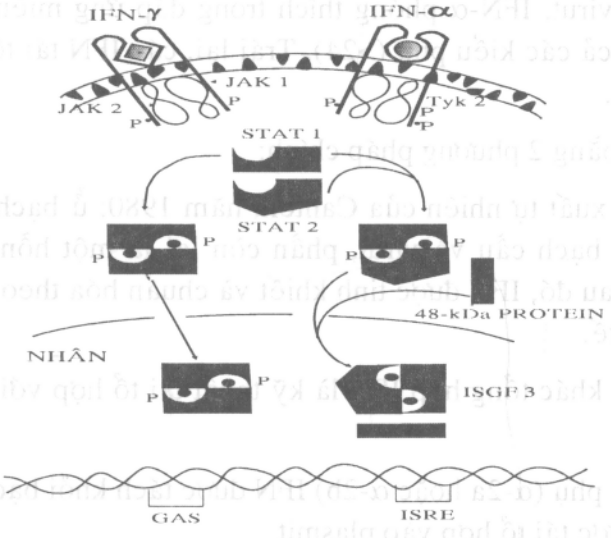
  - Gen của một kiểu phụ (α-2a hoặc α-2b) IFN được tách khỏi bạch cầu người.
  - Gen IFN người được tái tổ hợp vào plasmit
  - Biến nạp plasmit tái tổ hợp vào *Escherichia coli*.
  - Sản xuất E. coli chứa plasmit tái tổ hợp
  - E. coli có plasmit tái tổ hợp sản xuất IFN
  - Giết chết E. coli và chiết tách IFN
  - Lọc ra IFN và chất bẩn
  - Làm sạch và thu IFN tinh khiết

6. CÁC TÁC DỤNG CỦA IFN

6.1. TÁC DỤNG CHUNG VÀ CƠ CHẾ TÁC DỤNG

Cả IFN-α và IFN-β có chung một thụ thể bề mặt tế bào, trong khi IFN-γ dùng một thụ thể riêng biệt. IFN-α tương tác với một thụ thể bề mặt tế bào đặc hiệu, hiện diện trên nhiều tế bào người khác nhau. Gen mã hóa thụ thể IFN-α ở trên nhiễm sắc thể 21 và gen mã hóa IFN-α ở nhiễm sắc thể 9. IFN-α gắn kết vào thụ thể bề mặt tế bào, nhập nội bào qua trung gian thụ thể và sau đó thoái hóa. Thụ thể IFN-α phối hợp với protein kinase thuộc họ Jak mà các protein này được hoạt hóa khi việc gắn kết phối tử xảy ra. Jak kinase phosphoryl hóa tyrosine nằm trên protein tế bào chất được gọi là STAT (Signal-Transducing Transcriptional Activators). Protein STAT được phosphoryl hóa gắn kết vào một số chuỗi mã gen khởi đầu bên trong nhân của tế bào ký chủ. Sau đó, các gen dưới dòng sao chép thành nhiều RNA mã hóa một

loạt các protein kháng virut (hình 11-2). Trong trường hợp IFN-α, STAT đặc hiệu được gọi là yếu tố 3 gen kích thích IFN (ISGF-3, INF-Stimulate Gene Factor-3) và chuỗi mã DNA được kích thích được gọi là gen kích thích IFN (ISG). Đa số ISG có một thành phần đáp ứng kích thích IFN, một chuỗi mã 12-15 cặp bazơ bảo tồn cao, bên trong 200 cặp bazơ của điểm khởi đầu phiên mã. Các protein kháng virut tăng cường hoạt hóa một số dòng men nội tế bào.



Hình 11-1. *Sự hoạt hóa của phiên mã gen bởi IFN.*

Sau khi IFN-α và IFN-γ gắn kết vào thụ thể của chúng, các thụ thể hình thành các dimer. Các dimer gắn kết 2 Janus kinase (Jak), Jak 1 và tyrosine kinase 2 (Tyk 2) đối với IFN-α, hoặc Jak 1 và Jak 2 đối với IFN-γ. Các thụ thể và Jak bị phosphoryl hóa và phức hợp bị phosphoryl hóa này là chất xúc tác phosphoryl hóa STAT. Phức hợp thụ thể IFN-α nhận biết STAT 1 và STAT 2. Các STAT bị phosphoryl hóa dimer hóa và các STAT heterodimer cảm ứng bởi IFN-α phức hợp với một protein gắn kết 48-kDa DNA để tạo thành yếu tố điều hòa gen hoạt động, ISGF-3. Thành phần của bộ gen được hoạt hóa bởi STAT cảm ứng bởi IFN-γ được gọi là GAS (điểm hoạt hóa gamma, gamma activation site). Sự phiên mã của các gen này sau đó gây dịch mã thông tin và tổng hợp protein hoàn thành tác dụng được kích thích bởi IFN. (Theo R&D Systems, Mineapolis, MN).

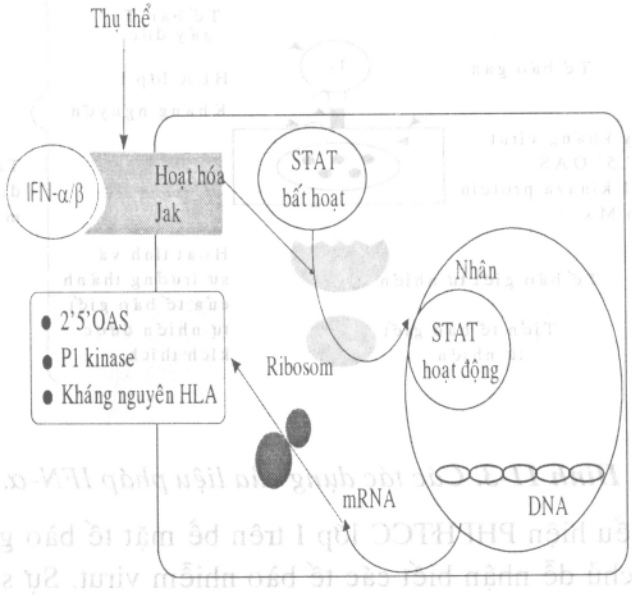
Protein STAT phosphoryl hóa cũng gắn kết vào các chuỗi mã gen khởi đầu khác để tổng hợp và cuối cùng tăng biểu hiện kháng nguyên bạch cầu người (HLA) lớp I trên bề mặt tế bào ký chủ. Sự gia tăng biểu hiện HLA lớp I trên các tế bào ký chủ không nhiễm virut bảo vệ chúng khỏi sự tấn công của các tế bào NK. Protein virut bị thoái hóa bởi phức hợp enzym tiêu đạm gọi là proteasom. Các sản phẩm thoái hóa sẽ được chuyển đến mạng lưới nội nguyên sinh nhờ hệ thống protein chuyển (do gen

TAP). Gen vận chuyển TAP đưa các peptit virut từ phần bào tương vào bên trong lưới nội bào tương, nơi đây nó gắn vào các phân tử HLA lớp I và hoàn thành sự tạo nếp gấp của phân tử HLA lớp I. Peptit virut phức hợp với kháng nguyên HLA lớp I đi qua Golgi đến bề mặt tế bào, tại đây nó được nhận biết bởi TBTGĐTB CD8 (+).

Các phiên mã gen kích thích IFN mã hóa nhiều protein khác nhau; chức năng của các protein này chưa được hiểu rõ hoàn toàn, nhưng được cho là có nhiều **tác dụng kháng virut, kháng ung thư và điều biến miễn dịch**.

IFN-α có tác dụng chống tạo khối u; làm giảm tốc độ phân bào, làm giảm biểu hiện gen ung thư và gây độc tế bào chống lại các tế bào tạo u. Về tác dụng kháng virut, IFN-α làm giảm sự thoát khỏi vỏ của virut, tổng hợp mRNA và tổng hợp protein. Cả IFN-α và IFN-β đều có tác dụng điều hòa miễn dịch như kích thích biểu hiện kháng nguyên HLA-I và II trên bề mặt tế bào, hoạt hóa các đại thực bào và các TBGTN, có thể chấm dứt nhiễm virut bằng cách phá hủy và thải trừ các tế bào nhiễm virut.

Các protein kích thích IFN được nghiên cứu nhiều nhất là 2'5'oligoadenylate synthetase (2'5'OAS) và protein kinase. Các men này hoạt động đặc biệt khi có mặt của RNA mạch kép gặp ở các tế bào nhiễm virut. IFN-α hoạt hóa biểu hiện 2'5'OAS ở mức độ phiên mã. Một gen duy nhất cho men này nằm ở nhiễm sắc thể 11. 2'5'OAS hoạt hóa RNase L, ưu tiên tách RNA virut hơn là RNA ký chủ. Tác dụng của OAS trên virut DNA hiện chưa rõ. Nồng độ 2'5'OAS tương quan với tác dụng kháng virut của IFN.



Hình 11-2. *Sự gắn kết của IFNα/β trên các thụ thể tế bào* gây hoạt hóa Jak.

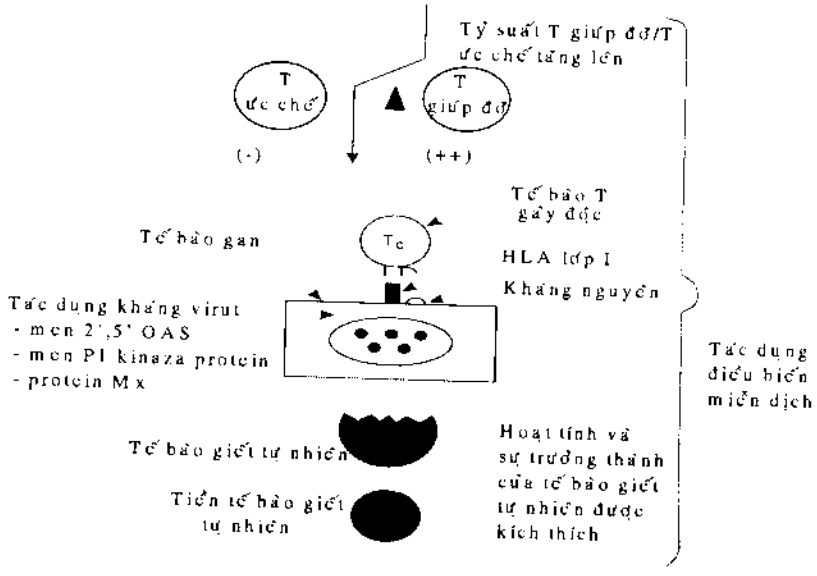
Hoạt hóa Jak phosphoryl hóa protein STAT. Protein STAT được phosphoryl hóa gắn kết vào một số chuỗi mã gen khởi đầu trong nhân của tế bào ký chủ. Sau đó, các gen dưới dòng sao chép thành nhiều RNA mã hóa một loạt protein kháng virut

Protein kinase được kích thích bởi IFN xúc tác sự phosphoryl hóa nhiều protein tế bào. Một số protein này liên quan với sự đề kháng virut *in vitro*. Mặt khác, IFN-α còn có các tác dụng khác, như điều hòa giảm sự tổng hợp thụ thể và tương tác với các IFN khác.

Bảng 11-1. Các tác dụng chính của IFN

Ức chế tiến triển virut	Điều biến miễn dịch	Ức chế tăng trưởng u
Nhập vào tế bào ký chủ Bỏ vỏ ngoài virut Tổng hợp mRNA Tổng hợp protein Lắp ráp virut	Biểu hiện HLA-I và II trên bề mặt tế bào Hoạt hóa đại thực bào, TBTGĐTB, TBGTN Tăng sản xuất cytokin Biệt hóa các nhóm nhỏ tế bào T Biến đổi sự sản xuất globulin miễn dịch	Giảm tốc độ phân bào Giảm biểu hiện gen ung thư Ức chế sự tạo mạch máu.

6.2. TÁC DỤNG ĐIỀU BIẾN MIỄN DỊCH



***Hình 11-3.** Các tác dụng của liệu pháp IFN-α.*

Tăng cường biểu hiện PHPHTCC lớp I trên bề mặt tế bào gan, làm các tế bào miễn dịch của ký chủ dễ nhận biết các tế bào nhiễm virut. Sự sao chép virut bị ức chế bởi sự hoạt hoá nội bào của 2',5'OAS, men PI kinase protein và protein Mx. Sự

kích thích của các TBGTN (NK) và gia tăng tỷ suất các tế bào lympho T hỗ trợ/ức chế cũng xảy ra.

Các tác dụng này bao gồm sự gia tăng biểu hiện phức hợp phù hợp tổ chức chính (PHPHTCC) lớp I của tế bào gan. Các tế bào gan bình thường biểu hiện rất ít PHPHTCC lớp I, và điều này được cho là yếu tố khiến gan dễ nhiễm virut mạn. Bằng cách gia tăng biểu hiện PHPHTCC lớp I, IFN khiến hệ miễn dịch có thể nhận biết được các tế bào gan nhiễm virut và sau đó các TBTGĐTB đến hủy hoại chúng. Hoạt tính của tế bào giết tự nhiên cũng được ghi nhận gia tăng.

Cả IFN-α và IFN-β có chung một thụ thể bề mặt tế bào, trong khi IFN-γ dùng một thụ thể riêng biệt. Sự gắn kết các loại IFN vào thụ thể của chúng gây nên sự hoạt hóa Jak, đây là một tyrosin kinase. Hoạt hóa Jak gây phosphoryl hóa protein STAT. Protein STAT được phosphoryl hóa gắn kết vào một số chuỗi mã gen khởi đầu bên trong nhân của tế bào ký chủ. Sau đó, các gen dưới dòng sao chép thành nhiều RNA mã hóa một loạt các protein kháng virut (hình 11-3). Các protein kháng virut tăng cường hoạt hóa một số men nội tế bào.

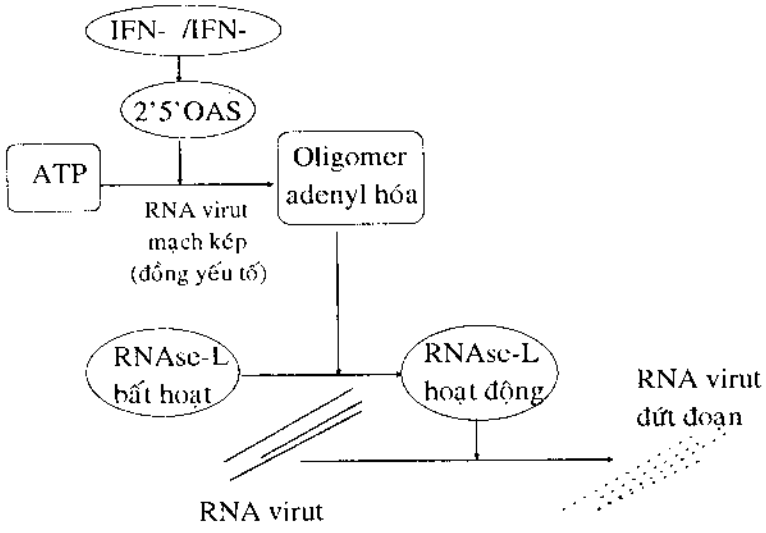
Protein STAT phosphoryl hóa cũng gắn kết vào các chuỗi mã gen khởi đầu khác để tổng hợp và cuối cùng tăng biểu hiện kháng nguyên bạch cầu người (HLA) lớp I trên bề mặt tế bào ký chủ. Sự tăng biểu hiện HLA lớp I trên các tế bào ký chủ không nhiễm virut bảo vệ chúng khỏi sự tấn công của các tế bào NK. Protein virut bị thoái hóa bởi phức hợp enzym tiêu đạm gọi là proteasom. Các sản phẩm thoái hóa sẽ được chuyển đến mạng lưới nội nguyên sinh nhờ hệ thống protein chuyển (do gen TAP). Gen vận chuyển TAP đưa các peptit virut từ phần bào tương (cytosol) vào bên trong lưới nội bào tương, nơi đây nó gắn vào các phân tử HLA lớp I và hoàn thành sự tạo nếp gấp của phân tử HLA lớp I. Peptit virut phức hợp với kháng nguyên HLA lớp I đi qua Golgi đến bề mặt tế bào, tại đây nó được nhận biết bởi tế bào T $CD8^+$.

6.3. TÁC DỤNG KHÁNG VIRUT TRỰC TIẾP

Ngoài tác động miễn dịch, IFN còn có các tác động kháng virut đặc hiệu riêng biệt. Sau khi gắn kết vào thụ thể của tế bào, IFN dẫn đến sự tổng hợp khoảng 24 protein có khả năng kháng virut qua các men như: 2'5'OAS, men serin/threonin kinase P1, protein Mx.... Tuy IFN có nhiều cơ chế kháng virut, nhưng chỉ có 3 cơ chế chính ở trên được khảo sát.

6.3.1. Phân cắt RNA virut qua các dòng thác men nội tế bào 2',5'OAS.

Men nội bào được biểu hiện rõ nhất là 2'-5'oligoadenylat synthetase (2'-5' OAS) (hình 11-4).

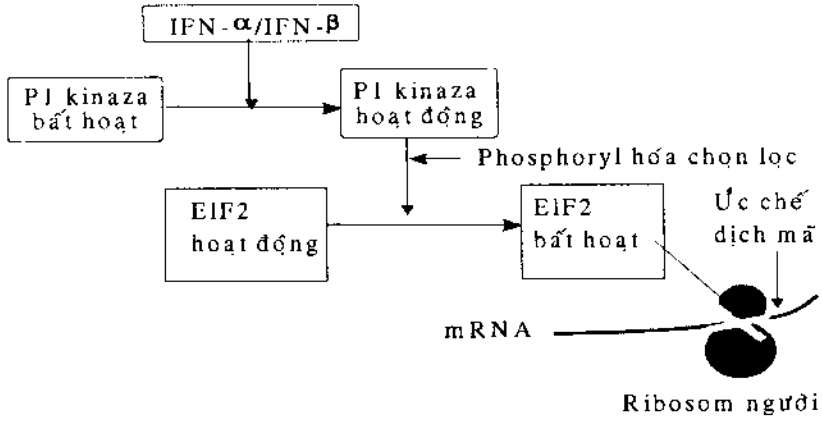


Hình 11-4. *Sự hoạt hóa của IFN với 2'-5'OAS.*

IFN-α và IFN-β với RNA virut mạch kép như một đồng yếu tố hoạt hóa 2'-5'OAS. 2'-5' OAS hoạt hóa chuyển ATP vào một nhóm oligomer gắn kết 2'-5'. Các oligomer adenyl hóa này tiếp tục hoạt hóa RNAse-L bất hoạt thành dạng hoạt động có khả năng tách RNA virut thành RNA đứt đoạn.

6.3.2. Ức chế sự tổng hợp protein thông qua men serin/threonin kinase P1.

P1 kinase protein phosphoryl hóa chọn lọc có tác dụng bất hoạt (eIF-2=eukaryotic initiation factor 2, yếu tố khởi đầu dịch mã nhân chuẩn). Chức năng bình thường của eIF-2 tế bào ký chủ là gây nên sự chuyển vị mRNA vào ribosom. Ribosom không thể dịch mã mRNA virut nếu không có eIF-2 thích hợp. (Hình 11-5)



Hình 11-5. *Hoạt hóa IFN của men serin/threonin P1 kinase.*

6.3.3. Ức chế quá trình sao chép qua các protein Mx

Protein Mx, chỉ được sản xuất bởi IFN-α và IFN-β, có khả năng ức chế sự sản xuất RNA virut. Ngoài ra, IFN còn hoạt hóa men phosphodiesterase, men này làm tách mất một phần RNA vận chuyển qua đó ức chế RNA vận chuyển không cho chuỗi peptit của virut kéo dài thêm. Các tác dụng kháng virut của IFN còn bằng sự ức chế xâm nhập và phóng thích lõi (uncoating) của virut, sự tổng hợp mRNA, dịch mã các protein, lắp ráp và phóng thích virut.

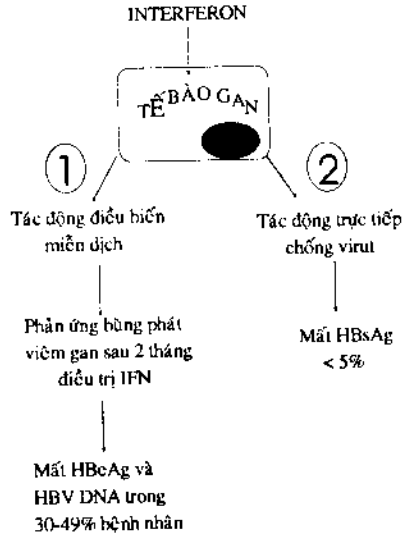
7. SỰ THẢI TRỪ VIRUT VG B

Hai cơ chế tác dụng chính lên tế bào gan bị nhiễm HBV là điều biến miễn dịch và tác dụng trực tiếp chống virut. (hình 11-6).

7.1. TÁC ĐỘNG ĐIỀU BIẾN MIỄN DỊCH

Cơ chế IFN tác động lên virut ở các BN HBV hiện nay chưa rõ, nhưng nhiều quan sát nhấn mạnh đến tác động điều biến miễn dịch. IFN có khả năng làm tăng đáp ứng tăng sinh TBTGĐTB với protein HBV. Nhiều nghiên cứu cho thấy BN đáp ứng với IFN có đáp ứng miễn dịch trước đó với HBV được chứng minh bằng HBV DNA huyết thanh thấp (dưới 100 pg/ml) và ALT cao (ALT > 100 IU/l). Ngược lại, các BN có HBV DNA huyết thanh cao (>100 pg/ml) và ALT thấp (ALT <100 IU/l) ít đáp ứng hơn.

Cuối cùng, độ 2/3 những người đáp ứng có một bùng phát giống VG cấp rõ rệt sau 2 tháng điều trị và các dấu ấn sao chép virut biến mất sau đó. Người ta cho rằng sự bùng phát đó là do tác động qua trung gian miễn dịch trên các tế bào gan nhiễm virut.



***Hình 11-6**. Hai cơ chế tác dụng chính của IFN lên tế bào gan nhiễm virut*

7.2. HOẠT TÍNH KHÁNG VIRUT TRỰC TIẾP

IFN còn có hoạt tính kháng virut trực tiếp, nhất là IFN-α. Mặt khác, các đáp ứng đối với IFN có vẻ tương quan với nồng độ cao của 2,5' OAS trong các tế bào lympho máu ngoại vi.

8. ĐIỀU TRỊ VG MẠN BẰNG IFN

8.1. MỤC TIÊU CỦA ĐIỀU TRỊ

Mục tiêu ngắn hạn của liệu pháp là giảm gánh nặng của virut sao chép trong cơ thể, ức chế bệnh về mặt mô học và làm giảm tính gây nhiễm. Các mục tiêu này có thể đạt được dễ dàng khi các dấu ấn sao chép virut như HBeAg và HBV DNA biến mất.

Mục tiêu lâu dài của liệu pháp nhiễm HBV mạn là loại trừ virut khỏi cơ thể. Ức chế đáp ứng viêm trong gan có thể ngăn ngừa tiến triển đến xơ gan và cuối cùng giảm nguy cơ phát triển UTTBG. Nguy cơ ung thư có thể giảm nếu BN được điều trị trước khi xơ gan, vì sự tái sinh tế bào gan phối hợp với xơ gan thúc đẩy sinh UTTBG mạnh nhất.

8.2. ĐỊNH NGHĨA CỦA VIỆN NGHIÊN CỨU QUỐC GIA VỀ SỨC KHỎE MỸ NĂM 2000 VỀ VGB MẠN.

Bảng 11-2. Người mang HBsAg bất hoạt (inactive HBsAg carrier).

• Hiện diện HBsAg và anti-HBe trong huyết thanh
• HBV DNA huyết thanh < 100.000 bản sao/ml
• ALT bình thường kéo dài > 6 tháng.
• Sinh thiết gan (không luôn luôn cần thiết) với độ HAI < 3

Bảng 11-3. VG B mạn = nhiễm HBV mạn hoạt động (chronic hepatitis B).

• HBsAg huyết thanh dương
• HBV DNA huyết thanh > 100.000 bản sao/ml hoặc HBcAg trong gan.
• ALT tăng cao kéo dài > 6 tháng.
• Sinh thiết gan (không luôn luôn cần thiết) với độ HAI > 4

8.3. CHỈ ĐỊNH ĐIỀU TRỊ

BN lý tưởng có chỉ định với liệu pháp INF-α là HBsAg(+) hoặc HBsAg và HBeAg(+) ít nhất sau 6 tháng với ALT cao nhưng ổn định, không có xơ gan. Các BN có men gan tăng quá cao (gấp 4 lần giới hạn trên bình thường) cần theo dõi ít ra là 6 tháng vì tỷ lệ thải trừ tự nhiên khoảng 94% sau một năm theo dõi. Lý tưởng nhất, xét nghiệm HBV DNA huyết thanh và sinh thiết gan để tìm bằng chứng nhiễm HBV mạn (bảng 11-4).

Trẻ em, những người nhiễm virut lúc sơ sinh, các BN có xơ gan và các BN HBeAg(-) cần xem xét đặc biệt khi bội nhiễm virut delta.

Các BN châu Á-Thái Bình Dương được khuyến cáo như sau: BN có HBeAg (+) hoặc HBV DNA (+):

- ALT tăng 2 lần giới hạn trên của mức bình thường, cần được xem xét vấn đề điều trị.
- ALT tăng 2-5 lần giới hạn trên của mức bình thường, điều trị bằng IFN hoặc lamivudine.
- ALT tăng trên 5 lần giới hạn trên của mức bình thường, điều trị bằng lamivudine.

Bảng 11-4. Tiêu chuẩnBN lý tưởng cho liệu pháp INF-α

Nhiễm virut ở tuổi trưởng thành
Thời gian mắc bệnh ngắn (từ 6 tháng cho đến 2 năm)
Transaminase tăng cao (gấp 2-5 lần GHTBT)
Sinh thiết gan thấy có hiện tượng viêm hoạt động
HBeAg(+)
Mức độ HBV DNA trước khi điều trị thấp
Người có khả năng miễn dịch
Giới nữ
Kháng thể HDV(-)

8.4. CHỐNG CHỈ ĐỊNH ĐIỀU TRỊ INF-α

Bảng 11-5. Những chống chỉ định tương đối.

- Các BN có bệnh lý đi kèm: bệnh tim, suy thận, tiểu đường, động kinh...
- Những người trên 65 tuổi. Nhưng nếu cần, phải được đánh giá đầy đủ về tình trạng mạch vành.
- Bạch cầu trung tính dưới 1.500/mm^3 hoặc tiểu cầu dưới 80.000/mm^3. Nhưng nếu là do hậu quả của xơ gan, có thể cần INF-α với liều thấp hơn.
- Các IFN kích thích hệ miễn dịch và có thể bộc lộ bệnh tự miễn mà trước đây chưa biết, như bệnh tuyến giáp. Vì thế, tất cả các BN phải xét nghiệm TSH và ANA trước khi điều trị. Nồng độ ANA trên 1/160 và có bệnh sử gợi ý đến bệnh tự miễn là chống chỉ định
- BN có tiền sử bệnh tâm thần cần được đánh giá và giám sát chặt chẽ theo chuyên khoa
- Phụ nữ mang thai. Khi dùng liệu pháp INF, BN cũng cần dùng các biện pháp ngừa thai.

Các BN nhiễm HBV châu Á được khuyến cáo là không cần điều trị khi ALT bình thường. Ngoài ra còn một số chống chỉ định khác như bệnh lý gan mất bù, anti-HBe(+).

9. PHƯƠNG THỨC ĐIỀU TRỊ

9.1. CHẾ ĐỘ ĐIỀU TRỊ

Chế độ chuẩn của IFN-α nhằm điều trị VG B mạn là 5 triệu đơn vị quốc tế (MIU) dùng dưới da mỗi ngày trong 4 tháng. Chế độ điều trị hàng ngày thường dùng cho người dung nạp tốt. BN có thể tiêm vào ban đêm để giảm các tác dụng phụ.

Chế độ thay thế là 10 MIU mỗi ngày thứ Hai, Tư và Sáu cũng được dùng. Chế độ này có hiệu quả tương tự và có ít tác dụng phụ hơn chế độ tiêm hàng ngày. Đối với người châu Á, chế độ điều trị được khuyến cáo với liều 5 MIU, 3 lần một tuần và kéo dài 4-6 tháng, có bằng chứng liệu pháp kéo dài 12 tháng có thể cải thiện tỷ lệ chuyển huyết thanh HBeAg.

9.2. CHỖ TIÊM VÀ ĐƯỜNG TIÊM

BN được hướng dẫn luân phiên tiêm bắp hoặc dưới da sâu giữa phần trên cánh tay, bụng và đùi. Nhiều BN nhân thường tránh tiêm vùng bụng và khó tự tiêm vào vùng trên cánh tay.

9.3. CHẾ PHẨM IFN-α

Cả IFN tái tổ hợp alfa-2b (Intron-A: Schering-Plough Corp.) và IFN alfa-2a, (Roferon-A: Hoffmann-Roche) đều chứa trong lọ dùng một lần duy nhất. Các IFN tái tổ hợp gồm 166 aa và khác nhau giữa chúng bằng aa ở vị trí 24, arginin (Intron-A) được thay bằng lysin (Roferon-A). Chế phẩm không tái tổ hợp IFN-α-N_1 như Alfron, Wellferon, Superferon do Ucraina sản xuất và Việt Nam đóng ống, được sản xuất bằng bạch cầu người bị gây nhiễm virut *in vitro*.

9.4. HIỆU QUẢ CỦA IFN-α

IFN ức chế sao chép HBV được ghi nhận bằng nồng độ HBV DNA huyết thanh giảm. Khi đáp ứng thành công sau 6-8 tuần điều trị, ALT tăng lên, do nhận biết miễn dịch và phân giải tế bào gan nhiễm virut, sau đó là thải trừ HBeAg và xuất hiện kháng thể anti-HBe. Trường hợp này thường không có triệu chứng, trừ khi bệnh nặng, khi đó mất bù gan có thể xảy ra. Các BN là người mang HBsAg chỉ trong vài năm thường có thải trừ HBsAg và xuất hiện các kháng thể anti-HBs. Chuyển huyết thanh HBeAg thành anti-HBe xảy ra khoảng 30-40% ở người lớn mắc bệnh. Sự kiện này có thể tồn tại trong hơn 80% BN (bảng 11-6).

Bảng 11-6. Thử nghiệm điều trị nhiễm HBV mạn HBeAg(+) với IFN dạng nguyên bào lympho.

Chế độ	Mất HBeAg		Tham khảo
	Không điều trị	Điều trị	
2,5-7,5 MIU/m^2 mỗi ngày trong 28 ngày	0/16 (0%)	2/14 (14%0	Anderson và cs
5-10 MIU/m^2 3 lần trong tuần/3 tháng	1/24 (4%)	12/37 (32%)	Brook và cs.
2,5-5,0 MIU/m^2 1 ngày/1 tháng, sau 3 lần tuần/5 tháng	2/9 (22%)	8/9 (88%)	Barbara và cs
10 MIU/m^2 3 lần tuần trong 6 tháng	0/23 (0%)	6/23 (26%)	Alexandervà cs

BN có tiền sử lâu dài là người mang HBV, HBsAg(+) có thể tồn tại một khoảng thời gian và được nghĩ là do hòa nhập HBV vào vật chủ. Nếu BN được theo dõi lâu dài, thải trừ HBsAg có thể xảy ra.

Ở các BN không đáp ứng với IFN, điều trị bằng IFN ban đầu có giảm nồng độ HBV DNA, như các trường hợp thành công. Tuy nhiên, dù vẫn đang điều trị, nồng độ HBV DNA vẫn tăng lên về mức độ ban đầu. Điều này chưa được giải thích và không liên quan với sự phát triển của các kháng thể đối với IFN. Ở các BN này, ít gặp sự tăng men ALT khi điều trị IFN và thường thấy ở những BN bị ức chế miễn dịch.

9.5. XÉT NGHIỆM THEO DÕI

Trong lúc điều trị: xét nghiệm máu, gồm cả huyết đồ và ALT huyết thanh, được làm 1, 2 và 4 tuần sau khi bắt đầu điều trị và sau đó, mỗi tháng một lần. Xét nghiệm HBeAg mỗi tháng và HBV DNA huyết thanh mỗi 3 tháng. Sau cuối đợt điều trị; theo dõi ALT và các dấu ấn HBV (có thể HBV DNA) mỗi 3-6 tháng. Những người không đáp ứng điều trị cần theo dõi lâu hơn vì có thể có đáp ứng muộn hoặc để có kế hoạch điều trị lại.

9.6. CÁC TÁC DỤNG PHỤ CỦA IFN-α

Bảng 11-7. Các tác dụng phụ của IFN alpha

Triệu chứng giống cúm: mệt mỏi, sốt, ớn lạnh, đau cơ và nhức đầu. Triệu chứng giảm với các liều sau
Hói đầu, biếng ăn, buồn nôn, cơn đau quặn bụng, tiêu chảy và giảm cân
Rối loạn tâm thần: lo âu, giảm tập trung, kích động, hoang tưởng, loạn tâm thần cấp và trầm cảm
Ức chế tủy xương – giám sát đều đặn huyết đồ là cần thiết
Rối loạn chức năng gan: ALT tăng, làm kịch phát bệnh gan tiến triển, VG tự miễn sẵn có
Khởi phát bệnh tự miễn: phát triển tự kháng thể IFN, viêm tuyến giáp, tiểu đường, giảm tiểu cầu, thiếu máu tán huyết và VG tự miễn
Các tác dụng phụ hiếm gặp khác: bệnh võng mạc, ngộ độc trên thận và mất thính giác

Các tác dụng có hại của IFN phụ thuộc vào liều lượng và có thể phục hồi. Các tác dụng này ít gặp với liều dùng trong điều trị VG và nếu cần phải điều chỉnh liều lượng (bảng 11-7).

- Các triệu chứng giống cúm: các triệu chứng này xảy ra ở hầu hết các BN gồm mệt mỏi, sốt, ớn lạnh, đau cơ và nhức đầu. Tuy nhiên, các tác dụng phụ này thường nặng vào tuần đầu điều trị và giảm dần khi tiếp tục điều trị. Trong một số trường hợp, phải dùng liều thấp trong tuần đầu. Các triệu chứng này có thể được điều trị với acetaminophen ngay lúc tiêm hoặc các thuốc kháng viêm không corticoit trong suốt thời gian điều trị. Mặt khác, nhiều BN đã thấy dùng thuốc vào ban đêm cho phép họ ngủ để tránh né các tác dụng có hại.
- Hói đầu, biếng ăn, buồn nôn, cơn đau quặn bụng, tiêu chảy và giảm cân.
- Các tác dụng có hại về mặt tâm thần xảy ra độ 15% BN, gồm các triệu chứng như lo âu, giảm tập trung, kích động, hoang tưởng, loạn tâm thần cấp và trầm cảm. BN bị trầm cảm thường đáp ứng tốt với các thuốc chống trầm cảm. Loạn tâm thần cấp và mê sảng thường gặp ở các BN trước đây có rối loạn chức năng não. Các biến chứng tâm thần nặng và dai dẳng có thể dẫn đến tự tử, phải cần ngưng IFN.
- Tác dụng phụ nghiêm trọng của IFN chủ yếu là gây độc tủy xương. Bởi thế, phải theo dõi chặt chẽ các thay đổi của tế bào máu ở BN. Nếu cần, nên dùng các chế độ điều trị liều thấp cho các BN có bệnh gan tiến triển và cường lách vì số lượng bạch cầu dưới mức cơ sở và cũng vì nguy cơ mất bù gan nếu sự phân giải miễn dịch xảy ra. Ức chế tủy xương được biểu hiện bằng giảm tiểu cầu hoặc bạch cầu, trong khoảng 10% BN. Trong một nghiên cứu cho thấy tiểu cầu giảm độ 30-50%, bạch cầu giảm 20-40% và hemoglobin giảm 3-5%, nên luôn phải cân nhắc ở BN ít nhiều có giảm tiểu cầu. Nhiễm khuẩn cũng hay gặp ở các BN điều trị bằng INF-α, có lẽ do giảm bạch cầu trung tính. Cần quan tâm nhiều hơn về tác dụng ức chế tủy xương và nhiễm khuẩn ở các BN có tăng áp tĩnh mạch cửa với hội chứng cường lách.

Rối loạn chức năng gan: ALT huyết thanh tăng lên trong lúc điều trị vì nhiều cơ chế. Sự gia tăng hay gặp từ 4-8 tuần sau khi bắt đầu INF-α. Nhưng một bùng phát ALT huyết thanh gây nên do INF-α cũng có thể gây ra rối loạn chức năng gan ở các BN có bệnh gan tiến triển. IFN cũng có thể làm kịch phát một VG tự miễn có sẵn trong một ít trường hợp.

IFN và bệnh tự miễn:. sự phát triển tự kháng thể trong lúc dùng IFN thường gặp. Vai trò của các kháng thể này hiện chưa rõ. Chúng được cho là góp phần vào sinh lý học của cytokin bình thường. Kháng thể IFN đã được phát hiện ở 35-50% các BN điều trị VG B mạn với IFN-α tái tổ hợp. Giám sát kháng thể IFN trong khi điều trị VG B mạn không cần thiết và không được khuyến cáo. IFN cũng phối hợp với nhiều bệnh tự miễn khác, tuy nguyên nhân và tác động không phải lúc nào cũng rõ ràng.

Biểu hiện tự miễn thường thấy nhất là viêm tuyến giáp có thể biểu hiện bằng cường giáp hoặc suy giáp. Bệnh được gặp trong khoảng 5% có VG C và 2% BN VG B được điều trị với INF-α. Các bệnh tự miễn khác hiếm gặp gồm tiểu đường kiểu I và kiểu II, giảm tiểu cầu tự miễn, thiếu máu tán huyết và VG tự miễn. Thế nhưng, IFN anpha đã được dùng và được dung nạp ở các BN đã biết có bệnh tự miễn.

Tác dụng phụ hiếm gặp khác là bệnh võng mạc, ngộ độc trên thận và mất thính giác.

10. ĐÁP ỨNG VỚI ĐIỀU TRỊ

10.1. ĐỊNH NGHĨA ĐÁP ỨNG

Bảng 11-8. Định nghĩa của Viện nghiên cứu quốc gia về Sức khỏe của Mỹ (NIH) năm 2000 về đáp ứng với điều trị kháng virut.

- Đáp ứng sinh hóa = ALT bình thường
- Đáp ứng virut học = HBV DNA $<10^5$ bản sao/ml hoặc giảm >2 log so với nồng độ ban đầu
- Đáp ứng mô học = Cải thiện mô học gan (HAI giảm trên 2 điểm và tổng số điểm dưới 7)
- Đáp ứng hoàn toàn = đáp ứng sinh hóa + virut học + mất HBsAg.

Về đáp ứng virut học, độ nhạy của xét nghiệm HBV DNA tùy theo phương pháp được sử dụng mà có phạm vi định tính khác nhau, theo như bảng 11-9:

Bảng 11-9. Độ nhạy của các xét nghiệm HBV DNA.

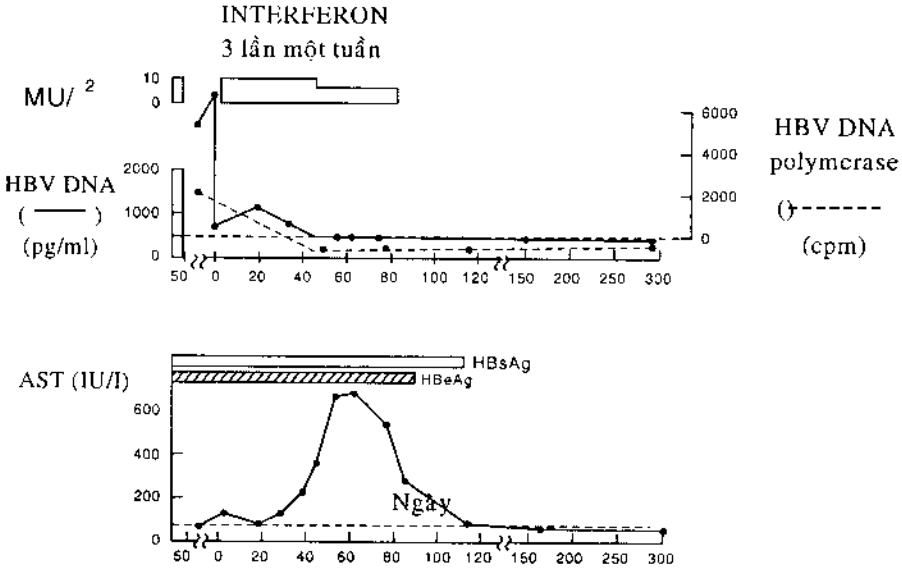
Xét nghiệm	Phương pháp	Phạm vi định lượng
Digen	Lai RNA-DNA	$1,4 \times 10^5 - 5,6 \times 109$ bộ gen/ml
Abbott	Phương pháp lai dung dịch	$< 10^6$ - ? bộ gen/ml
Bayer	DNA nhánh	$7 \times 10^5 - 5 \times 10^9$ DNA Equiv/ml
Amplicor, Monitor	PCR định lượng	$4 \times 10^2 - 4 \times 10^7$ bộ gen/ml

10.2. ĐÁP ỨNG NGẮN HẠN

10.2.1. Đáp ứng hoàn toàn

Nhiều tháng hoặc nhiều năm sau, trên 70% BN VG B mạn sẽ thải trừ HBsAg. Điều này kết hợp cùng với sự biến mất hoàn toàn HBV DNA huyết thanh khi đo bằng PCR siêu nhạy. Đây là đáp ứng hoàn toàn. Các nghiên cứu về sinh thiết gan của các BN này cho thấy hiện tượng VG giảm đáng kể, nhưng hoạt tính nhẹ thường tồn tại. Mặt khác, HBV DNA có thể còn được phát hiện trong gan mà ý nghĩa của phát hiện này chưa được hiểu rõ và đây có thể là dạng hòa nhập (cccDNA). Đa số các đáp ứng một phần hay hoàn toàn còn tồn tại, trong một nghiên cứu dài hạn, chỉ

có 3/23 (13%) các BN tái phát và HBeAg(+) trở lại. Các trường hợp tái phát thường xảy ra trong vòng một năm sau điều trị (hình 11-7).



Hình 11-7. *Đáp ứng hoàn toàn, ức chế sao chép HBV và thải trừ HBsAg.*

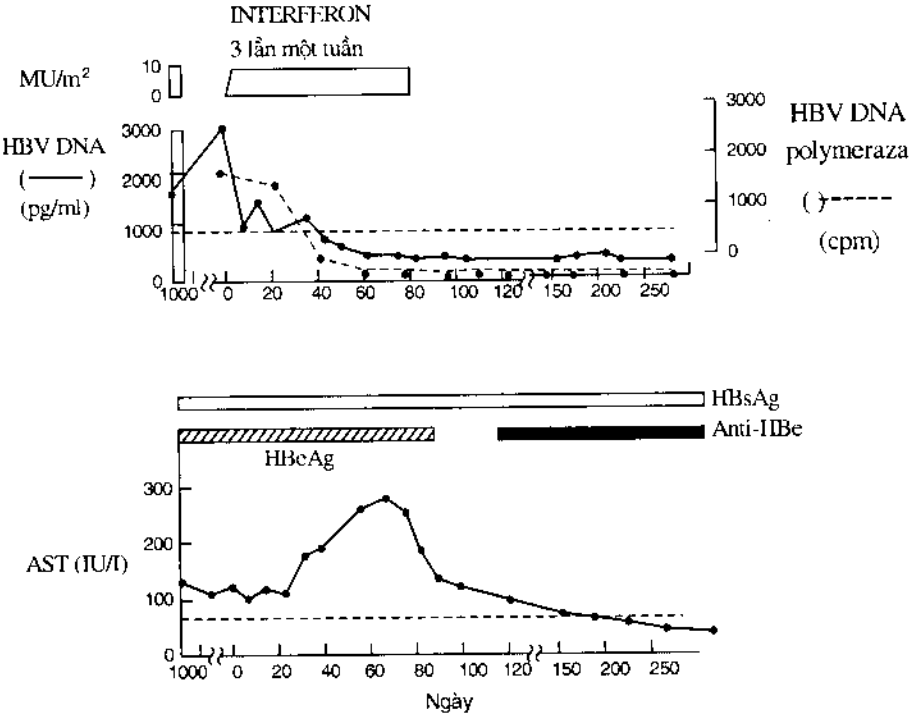
ALT tăng lên vào khoảng ngày 30 đến 100 được cho là biểu thị sự phân giải tế bào gan qua trung gian miễn dịch.

10.2.2. Đáp ứng không hoàn toàn

Trong những tuần lễ sau khi bắt đầu điều trị với INF-α, một số BN sẽ có nồng độ ALT huyết thanh giảm dần cùng với giảm nồng độ HBV DNA huyết thanh. Điều này có thể hoặc không thể đưa đến thải trừ virut. Kiểu đáp ứng thường gặp ở các BN đáp ứng với điều trị, là sự gia tăng ALT huyết thanh lên rất cao, có thể gấp 10 lần bình thường, giữa tuần thứ 7 và 12 của liệu trình. Sự bùng phát này trong VG thường kèm theo giảm nồng độ HBV DNA. Khi đợt bùng phát thuyên giảm, ALT thường trở về mức độ ban đầu và HBV DNA trở nên không phát hiện được. Nhiều tuần hoặc nhiều tháng sau đó là sự biến mất của HBeAg. Bệnh cảnh này được gọi là đáp ứng không hoàn toàn (hình 11-8).

Chuyển huyết thanh HBeAg và biến mất HBV DNA đáng kể ở nhóm có điều trị bằng chế độ prednisone sau đó là 5 MIU INF-α và nhóm chỉ điều trị 5 MIU INF-α khác biệt với nhóm không điều trị ($p < 0,001$). Trong khi đó sự khác biệt của nhóm điều trị bằng 1 MIU INF-α đơn thuần không khác biệt có ý nghĩa thống kê với lô không điều trị.

Nghiên cứu chuẩn về đáp ứng ngắn hạn của INF-alfa-2b ở các BN VG mạn được thực hiện do Perrillo và cs ở Mỹ trong một nghiên cứu đa trung tâm. Thử nghiệm được thực hiện ngẫu nhiên, có đối chứng, trên 4 nhóm BN với kết quả như sau (bảng 11-10).



***Hình 11-8**. Đáp ứng với IFN không hoàn toàn, chỉ ức chế sao chép HBV.*

Mất HBsAg có thể xảy ra trong nhiều năm sau đó. ALT tăng vào ngày 20-80, được tin là do phân giải miễn dịch.

Bảng 11-10. Thử nghiệm về đáp ứng ngắn hạn của INF-alfa-2b của Perrillo và cs năm 1990.

Số	Nhóm thử nghiệm	Số người tham gia nghiên cứu	Có đáp ứng (Mất HBV DNA và chuyển huyết thanh anti-HBe)
1	Nhóm dùng prednisone 6 tuần sau đó 5MIU INF-alfa-2b/ngày/16 tuần	46	16 (36%)
2	Nhóm placebo và sau đó 5MIU INF-alfa-2b/ngày/16 tuần	41	15 (37%)
3	Nhóm placebo và sau đó 1MIU INF-alfa-2b/ngày/16 tuần	41	7 (17%)
4	Quan sát và không điều trị	43	3 (7%)

Ba chỉ số có ý nghĩa dự báo đối với đáp ứng điều trị là ALT > 150 U/L, HBV DNA < 200 pg/ml, thời gian nhiễm virut ngắn.

Ở 31 người có đáp ứng trong nghiên cứu của Perrillo, 10 BN cũng mất HBsAg trong khoảng thời gian theo dõi 1 năm, và một BN tái phát sao chép virut. 87% những người đáp ứng có ALT huyết thanh bình thường vào lúc theo dõi sau cùng. Các BN đáp ứng có một cải thiện trong mô học. Trong lô chứng, không có người nào mất HBsAg và hình ảnh mô học xấu đi. Nghiên cứu này cho thấy điều trị với INF-alfa-2b với 5 MIU mỗi ngày trong 16 tuần có hiệu quả làm mất sao chép virut và đạt được sự phục hồi được đánh giá bằng sinh hóa và mô học trên 1/3 BN. Hơn nữa, khoảng 10% BN được điều trị bằng IFN sẽ mất HBsAg.

Nghiên cứu này đưa ra các quan sát thú vị khác. Qua ghi nhận sau đó bởi Perrillo trong một bài điểm báo, độ 2/3 những người đáp ứng và dưới 1/3 những người không đáp ứng, có một sự gia tăng tạm thời mức độ ALT khoảng 4-8 tuần sau khi bắt đầu điều trị. Sự gia tăng này được xem là tốt, thường được dung nạp tốt, và xảy ra đồng thời với một sự giảm sao chép virut. Mặt khác, 7 BN được điều trị với 5 MIU của IFN-α mất HBV DNA, nhưng không mất HBeAg. Các BN này được gọi là những người đáp ứng không xác định nhưng có các cải thiện đáng kể trong mô học gan. Tuy đa số những người đáp ứng mất HBV DNA sau 2 tháng bắt đầu IFN-α, các BN tiếp tục mất HBV DNA trong suốt thời gian điều trị và ngay cả sau khi hoàn tất điều trị. Mất HBeAg muộn sau khi mất HBV DNA khoảng một đến nhiều tháng. Cuối cùng, tỷ lệ đáp ứng ở các BN điều trị với 1 MIU mỗi ngày thì không khác biệt có ý nghĩa thống kê so với lô chứng không điều trị (17% so với 7%).

Wong và cs (1993) phân tích 15 thử nghiệm có đối chứng, thực hiện từ 1986 đến 1992, cho thấy các BN VG B mạn được điều trị với IFN-α từ 3-6 tháng và theo dõi từ 6-12 tháng, khi so với lô chứng không điều trị, có nhiều khả năng về mặt thống kê mất HBV DNA khoảng 20% (37 so với 17%), mất HBeAg khoảng 20% (33 so với 12%) và mất HBsAg khoảng 6% (8 so với 2%) (bảng 11-11). Các kết quả cộng dồn thu thập được dù các cộng đồng BN khác nhau tiêu biểu cho 5 lục địa và khác biệt trong liều lượng và trong công thức của IFN-α. Tổng cộng 5% các BN không thể dung nạp một liệu trình liệu trị đầy đủ.

Bảng 11-11. Kết quả hậu phân tích về hiệu quả của điều trị INF-α qua 15 thử nghiệm

Nhóm BN	***% mất HBsAg, p=0,001***	***% mất HBeAg, p=0,0001***	***% mất HBV DNA, p=0,0001***
Có điều trị INF-α	8	33	37
Không điều trị	2	12	17

Tại Việt Nam, công trình của Nguyễn Văn Mùi và cs nghiên cứu dùng Intron-A điều trị cho 12 BN với 2 chế độ điều trị: liều 5 MIU x 6 tháng và 3 MIU x 4 tháng.

Sau điều trị, chỉ có một BN mất HBsAg. Tuy nhiên, men gan trở về bình thường ở 100% BN sau 3 tháng điều trị và ổn định trong suốt quá trình theo dõi. Các triệu chứng lâm sàng chỉ giảm hoặc mất đi sau khi ngưng điều trị.

10.3. ĐÁP ỨNG LÂU DÀI

Hiện chưa có nghiên cứu nào đã chứng minh rằng liệu pháp IFN-α trong các BN VG B mạn ảnh hưởng đến tốc độ phát triển xơ gan hoặc UTTBG. Tuy nhiên, các số liệu nghiên cứu cho thấy đáp ứng với IFN-α thường kéo dài và kết hợp với sự cải thiện mô học gan và hậu quả lâm sàng.

Bảng 11-12. Nghiên cứu của Niederau và cs về theo dõi lâu dài các BN HBeAg(+) điều trị với INF-alfa.

Nhóm nghiên cứu	Số BN	Số BN mất HBsAg	Số BN tiến triển đến xơ gan	Số BN chết hoặc cần ghép gan
Nhóm điều trị IFN có đáp ứng	53	10	1	0
Nhóm điều trị IFN không đáp ứng	50	0	8	8
Nhóm không điều trị	53	0	8	5

Các nghiên cứu về hậu quả lâu dài ở những người đáp ứng IFN-α đã cho thấy tỷ lệ tái phát ở những người đáp ứng từ 0 đến 15%. Ở những người đáp ứng, từ 19 đến 57% sẽ mất HBsAg. Nghiên cứu của Viện Nghiên cứu Quốc gia về Sức khỏe của Mỹ trên 23 BN có đáp ứng được theo dõi từ 3 đến 7 năm sau điều trị. Ba BN tái phát và 13 BN cuối cùng mất HBsAg (57%). Các số liệu sinh thiết gan dài hạn có giá trị ở các BN thải trừ HBsAg trong đáp ứng điều trị. Sự mất HBsAg kéo dài đi đôi với sự cải thiện về mô học. Các BN đã mất HBsAg dưới 2 năm có 50% cải thiện, trong khi các BN mất HBsAg hơn 2 năm có 83% cải thiện về mặt mô học. Sinh thiết gan các BN có HBsAg huyết thanh âm tính, vẫn là âm tính khi nhuộm đặc hiệu đối với HBsAg và HBcAg.

Niedrau và cs nghiên cứu về các hậu quả lâu dài ở các BN điều trị với IFN anfa-2b (bảng 11-12) cho thấy nhóm điều trị IFN có đáp ứng ít tiến triển đến xơ gan hoặc tử vong hơn nhóm điều trị IFN không đáp ứng và nhóm không điều trị.

11. CÁC YẾU TỐ TIÊN LƯỢNG ĐÁP ỨNG

11.1. CÁC YẾU TỐ TIÊN LƯỢNG

Vì IFN-α đắt tiền, có nhiều tác dụng phụ, và thất bại trong phần lớn BN VG B, đã có nhiều nỗ lực nhằm xác định các nhóm BN có nhiều khả năng đáp ứng điều trị. Các yếu tố ký chủ và virut là quan trọng để dự đoán sự đáp ứng (bảng 11-13).

Bảng 11-13. Các yếu tố tiên lượng đáp ứng điều trị bằng IFN.

Yếu tố	Đáp ứng tốt hơn	Đáp ứng kém
Tuổi mắc bệnh	Trưởng thành (nhiễm chiều ngang)	Trẻ sơ sinh (nhiễm chiều dọc)
Giống dân	Không phải gốc châu Á	Gốc châu Á
Tình trạng miễn dịch HIV	Nguyên vẹn Âm	Tổn thương Dương
Mức độ HBV DNA trước điều trị	Thấp (<100pg/ml)	Cao
Mức độ ALT trước điều trị	Cao (>100 IU/l) VG mạn hoạt động	Thấp VG mạn tồn tại
Sinh thiết gan		

11.2. MỘT SỐ YẾU TỐ KHÁC

- Nhiễm HBV chu sinh (chiều dọc), khi chưa trưởng thành và ở cộng đồng dân cư châu Á, người đang dùng thuốc ức chế miễn dịch và người nhiễm HIV có đáp ứng kém với IFN

- Xơ gan còn bù vẫn có đáp ứng với điều trị IFN như những trường hợp chưa xơ gan.

- Nhiễm HBV có triệu chứng, có HBeAg(+), giới tính nữ, HDV(-), thời gian mắc bệnh ngắn, có tiền sử VG cấp, thể virut không biến dị, có đáp ứng tối với điều trị IFN.

12. SỰ KẾT HỢP CỦA ĐIỀU TRỊ IFN VỚI CORTICOIT

12.1. CƠ CHẾ CỦA MẪN CẢM BAN ĐẦU CỦA CORTICOIT

Các BN nhiễm HBV được điều trị bằng corticoit vì một bệnh khác vài tuần, sau khi ngưng corticoit thường gây nên "một bùng phát giống VG cấp". Hiện tượng này lúc đầu nồng độ HBV DNA huyết thanh tăng lên. Nhưng về sau, ALT huyết thanh cũng tăng đồng thời HBV DNA giảm. Bảng 11-14 cho thấy sau khi cai steroit, DNA polymerase có thể giảm và HBeAg có thể âm. Tuy nhiên, các các kết quả thử nghiệm có nhiều mâu thuẫn với nhau.

Bảng 11-14. Hiệu quả của liệu pháp cai steroit trên VG B mạn.

Tác giả	Liệu pháp cai steroit			Liệu pháp cai steroit	
	DNA polymerase giảm	Chuyển đảo HBeAg	Lô chứng	Chuyển đảo HBcAg	Lô chứng
Scullard và cs	8/12 (38%)	Không xác định	-		
Muller và cs	Không xác định	5/11 (45%)	-		
Rakela và cs	3/6 (50%)	0/6 (0%)	-		
Nair và cs				10/16 (63%)	2/15 (13%)
Hoofnagle và cs				0/110 (0%)	0/5 (0%)
Lee và cs				9/18 (50%)	14/23 (61%)

Điều trị như thế được gọi điều trị mồi bằng corticoit. Lý do trong điều trị mồi prednison này là BN VG B có một mặt bằng sinh hóa và miễn dịch không thuận lợi có thể chuyển thành mặt bằng thuận lợi hơn với ALT huyết thanh cao và HBV DNA huyết thanh thấp.

12.2. MỘT SỐ KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

Các thử nghiệm có đối chứng đã cho nhiều kết quả rất khác nhau. Trong các nghiên cứu ban đầu, điều trị mồi prednison sau đó điều trị tiếp theo bằng IFN cho nhiều kết quả đáng phấn khởi (bảng 11-15). Tuy nhiên, trong các nghiên cứu đối chứng lớn hơn, việc điều trị trước prednison và sau đó là IFN không tỏ ra hiệu quả hơn khi dùng IFN đơn thuần.

Bảng 11-15. Các nghiên cứu đối chứng giữa 2 nhóm có và không có điều trị mồi corticoit.

Tác giả	Đáp ứng trong nhóm dùng corticoit + IFN	Đáp ứng trong nhóm dùng IFN đơn thuần
Omata và cs	3/5 (60%)	0/15 (0%)
Perrillo và cs 1990	16/44 (36%)	15/41 (37%)
Fevery và cs	6/15 (40%)	4/13 (31%)
Perez và cs	10/17 (59%)	7/15 (47%)
Niederau và cs 1992	10/20 (50%)	8/20 (40%)
Reichen và cs	10/18 (56%)	13/18 (72%)
Lok và cs	9/40 (23%)	6/39 (15%)
Liaw và cs	18/39 (46%)	9/37 (24%)
Gregorio và cs 1996	12/34 (35%)	12/30 (40%)
Krosgaard và cs	42/101 (42%)	26/99 (26%)

Tuy nhiên, nhiều nghiên cứu đã cho thấy có một nhóm BN có bệnh gan còn bù và có mức độ ALT huyết thanh thấp thực sự có lợi trong chiến lược điều trị này. Trong một thử nghiệm đa trung tâm ở Mỹ, một nhóm điều trị nhận prednison với liều hàng ngày giảm dần 60, 40 và 20 mg trong 2 tuần, sau đó là 2 tuần ngưng điều trị, rồi 16 tuần điều trị INF-α. Trong các BN có ALT thấp này (< 100 U/l) lúc vào điều trị, có một tỷ lệ đáp ứng cao trong các BN nhận prednisone và INF-α (8/18) hơn là những người chỉ nhận INF-αđơn thuần (2/12). 6/8 BN đáp ứng với sự phối hợp prednisone và INF-α có ALT ít nhất tăng gấp 2 lần trong giai đoạn nghỉ điều trị giữa prednisone và INF-α với sự giảm HBV DNA tương ứng.

Phương pháp điều trị mồi hy vọng có thể cải thiện tỷ lệ thành công trong các BN người châu Á. Trong một nghiên cứu lớn ở Đài Loan, Liaw và cs đã ghi nhận tỷ lệ đáp ứng là 46% trong những người được điều trị kết hợp và 24% ở những người điều trị đơn thuần bằng IFN. Ngược lại với các kết quả của các nghiên cứu điều trị IFN trước đây, những người với giá trị transaminase thấp hơn mức cơ bản (<200 IU/L) có nhiều khả năng đáp ứng với phương pháp kết hợp (48%). Trong một nghiên cứu

tương tự ở Hồng Kông, Lok và cs thấy tỷ lệ đáp ứng với mẫn cảm ban đầu prednisone thì cao ở những người có giá trị transaminase cao (23% so với 13%) nhưng đáp ứng không cao ở những người có giá trị transaminase bình thường.

12.3. CHỈ ĐỊNH – CHỐNG CHỈ ĐỊNH CỦA ĐIỀU TRỊ MỒI CORTICOIT

Điều trị mồi đã cho thấy có thể giúp ích cho những người có giá trị transaminase ban đầu thấp.

Cũng cần ghi nhận là một liệu trình prednisone giảm dần có thể làm bệnh gan xấu đi ở các BN có chức năng gan mất bù và vì thế, không nên dùng trong bệnh cảnh này.

13. ĐIỀU TRỊ IFN CHO CÁC NHÓM BN KHÁC

13.1. BỆNH GAN MẤT BÙ

Chế độ điều trị IFN chuẩn có thể nguy hiểm ở nhóm BN này, do:

- Sự phân giải miễn dịch của tế bào gan nhiễm virut sau khi điều trị IFN làm giảm khối tế bào chức năng của BN có bệnh giai đoạn cuối.
- BN xơ gan cũng có thể có bạch cầu và tiểu cầu dưới mức bình thường. Vì thế, nhóm BN này có nguy cơ nhiễm trùng huyết như viêm phúc mạc, nhiễm khuẩn tự nhiên. Chính điều trị IFN cũng làm suy giảm bạch cầu hạt, làm tăng nguy cơ nhiễm khuẩn huyết hơn nữa.

Trong một nghiên cứu ở Mỹ, 18 BN xơ gan tiến triển, có 6 người có một đáp ứng hoàn toàn và có cải thiện lâm sàng đáng kể. Các tác dụng phụ thường gặp và nặng nề hơn. Chỉ có 6 BN chịu được một liệu trình điều trị đầy đủ và 9 BN phải chấm dứt điều trị sớm. 5 BN có nhiễm khuẩn nặng trong đó một BN chết. 3 BN có rối loạn tâm thần nghiêm trọng. Tất cả 6 BN đáp ứng thuộc lớp A hoặc B của phân loại Child và 4/6 BN này thải trừ HBsAg. Tất cả BN vẫn khỏe sau 2-4 năm điều trị. Một thử nghiệm đa trung tâm khác dùng IFN liều thấp cho thấy tỷ lệ đáp ứng ở 50% BN lớp A hoặc B của phân loại Child nhưng không có người nào thuộc lớp C.

Đối với các BN có bệnh gan nhẹ, sự gia tăng ALT có thể xảy ra trong ít ngày bắt đầu điều trị và làm tăng tình trạng mất bù. Tử vong thường xảy ra sau khi đơn điều trị IFN hoặc sau khi ngưng corticoit. Trong nhóm này, IFN nên dùng liều rất thấp, hoặc nên dùng nhóm tương tự nucleosit như famciclovir và lamivudin, nhất là nếu đang xem xét dùng liệu pháp ghép gan.

Nhìn chung, nếu BN có bệnh gan mất bù, nhất là những người được xếp loại vào lớp C của phân loại Child, có nguy cơ biến chứng cao, ít có khả năng đáp ứng và không nên điều trị bằng IFN mà nên dùng liệu pháp thay thế ít độc tính hơn như các chất tương tự nucleosit.

13.2. GHÉP GAN

Đối với các BN có bệnh liên quan với HBV trong giai đoạn cuối, chỉ định điều trị chỉ có thể là ghép gan. Nhưng khi BN có HBeAg(+), nhiễm virut mảnh ghép không thể tránh được và sự sống sót mảnh ghép bị hạn chế.

Nếu không can thiệp bằng thuốc kháng virut, tỷ lệ sống sót một năm chỉ 50%, có nhiều trường hợp xơ gan phát triển trong 200 ngày và UTTBG trong 4 năm. Các mức độ sao chép virut cao được thấy trong trường hợp dùng ức chế miễn dịch có thể kết hợp với sự phát triển VG ứ mật xơ hóa.

Sử dụng anti-HBs siêu miễn dịch liều cao đã cải thiện tỷ lệ sống sót mảnh ghép, nhưng đây là một phương pháp tốn kém, phải điều trị lâu dài và dễ phát triển các đột biến thoát virut. HBIG có thể chứa thimerosal, một chất bảo tồn chứa thủy ngân, có thể gây ngộ độc.

Các thử nghiệm đang được tiến hành với lamivudin, ganciclovir, famciclovir trong cố gắng dự phòng tái nhiễm mảnh ghép hoặc điều trị duy trì. Các chiến lược điều trị khác cũng đã được thử nghiệm nhằm giảm tỷ lệ tái nhiễm mảnh ghép, giảm tải virut trước ghép khi dùng IFN và các tác nhân kháng virut khác. Mặc dầu các nguy cơ về sự thải loại mảnh ghép với điều trị IFN, đây không có vẻ là một vấn đề chính trong thực tiễn.

13.3. CÁC BN ĐỒNG NHIỄM VỚI HIV

BN nhiễm HBV và HIV thường không có ít khả năng đáp ứng với đơn điều trị IFN và các chiến lược điều trị thay thế phải được cân nhắc. Tuy nhiên, một số BN nhiễm HIV có thể có khả năng đáp ứng hoàn toàn đối với IFN và cần phải xem xét để điều trị, đặc biệt là các BN mới nhiễm HIV với số lượng CD4 tốt và còn ít tổn thương miễn dịch.

Điều trị hiệu quả bệnh do HBV ở các BN nhiễm HIV ngày càng được xem là quan trọng hơn do tiên lượng của các BN nhiễm HIV đã được cải thiện gần đây với các chế độ đa hóa trị liệu HIV hiệu quả hơn, và chính các thuốc dùng trong đa hóa trị liệu HIV có thể cũng có tác dụng chống HBV. Các BN người châu Á đồng nhiễm HBV và HIV được khuyến cáo điều trị bằng công thức: lamivudine + AZT + một thuốc kháng HIV khác.

13.4. CÁC BN VỚI KIỂU HUYẾT THANH HỌC KHÔNG ĐIỂN HÌNH

13.4.1. VG B anti-HBe(+)

Các BN VG B anti-HBe(+) chủ yếu ở ven bờ Địa Trung Hải, Trung Đông và Viễn Đông. Nhóm BN này phải được sàng lọc vì có khả năng đồng nhiễm với HDV. Đây là thể bệnh nặng hơn thể HBeAg(+). Điều trị IFN đã được thử nghiệm với nhiều kết quả khác nhau.

13.2. GHÉP GAN

Đối với các BN có bệnh liên quan với HBV trong giai đoạn cuối, chỉ định điều trị chỉ có thể là ghép gan. Nhưng khi BN có HBeAg(+), nhiễm virut mảnh ghép không thể tránh được và sự sống sót mảnh ghép bị hạn chế.

Nếu không can thiệp bằng thuốc kháng virut, tỷ lệ sống sót một năm chỉ 50%, có nhiều trường hợp xơ gan phát triển trong 200 ngày và UTTBG trong 4 năm. Các mức độ sao chép virut cao được thấy trong trường hợp dùng ức chế miễn dịch có thể kết hợp với sự phát triển VG ứ mật xơ hóa.

Sử dụng anti-HBs siêu miễn dịch liều cao đã cải thiện tỷ lệ sống sót mảnh ghép, nhưng đây là một phương pháp tốn kém, phải điều trị lâu dài và dễ phát triển các đột biến thoát virut. HBIG có thể chứa thimerosal, một chất bảo tồn chứa thủy ngân, có thể gây ngộ độc.

Các thử nghiệm đang được tiến hành với lamivudin, ganciclovir, famciclovir trong cố gắng dự phòng tái nhiễm mảnh ghép hoặc điều trị duy trì. Các chiến lược điều trị khác cũng đã được thử nghiệm nhằm giảm tỷ lệ tái nhiễm mảnh ghép, giảm tải virut trước ghép khi dùng IFN và các tác nhân kháng virut khác. Mặc dầu các nguy cơ về sự thải loại mảnh ghép với điều trị IFN, đây không có vẻ là một vấn đề chính trong thực tiễn.

13.3. CÁC BN ĐỒNG NHIỄM VỚI HIV

BN nhiễm HBV và HIV thường không có ít khả năng đáp ứng với đơn điều trị IFN và các chiến lược điều trị thay thế phải được cân nhắc. Tuy nhiên, một số BN nhiễm HIV có thể có khả năng đáp ứng hoàn toàn đối với IFN và cần phải xem xét để điều trị, đặc biệt là các BN mới nhiễm HIV với số lượng CD4 tốt và còn ít tổn thương miễn dịch.

Điều trị hiệu quả bệnh do HBV ở các BN nhiễm HIV ngày càng được xem là quan trọng hơn do tiên lượng của các BN nhiễm HIV đã được cải thiện gần đây với các chế độ đa hóa trị liệu HIV hiệu quả hơn, và chính các thuốc dùng trong đa hóa trị liệu HIV có thể cũng có tác dụng chống HBV. Các BN người châu Á đồng nhiễm HBV và HIV được khuyến cáo điều trị bằng công thức: lamivudine + AZT + một thuốc kháng HIV khác.

13.4. CÁC BN VỚI KIỂU HUYẾT THANH HỌC KHÔNG ĐIỂN HÌNH

13.4.1. VG B anti-HBe(+)

Các BN VG B anti-HBe(+) chủ yếu ở ven bờ Địa Trung Hải, Trung Đông và Viễn Đông. Nhóm BN này phải được sàng lọc vì có khả năng đồng nhiễm với HDV. Đây là thể bệnh nặng hơn thể HBeAg(+). Điều trị IFN đã được thử nghiệm với nhiều kết quả khác nhau.

IFN-alpha đã được thử nghiệm trong các BN VG mạn HBeAg(-) với nhiều kết quả thay đổi. Các nghiên cứu đã cho thấy các BN anti-HBe(+) đáp ứng với IFN kém hơn những người HBeAg(+). Một trong những nghiên cứu lớn, 50 BN được chọn ngẫu nhiên nhận hoặc IFN liều thấp (3MIU 3lần 1 tuần) hoặc không điều trị. Một năm sau khi bắt đầu điều trị, 11/17 (65%) các BN trong nhóm điều trị có giá trị transaminase bình thường. Các nghiên cứu khác cũng cho kết quả tượng tự (bảng 11-16). Nhưng sau này lại phát hiện một tỷ lệ tái phát cao và điều này cũng được xác nhận trong các nghiên cứu khác.

Brunetto và cs phân tích các kết quả điều trị IFN của 90 BN VG mạn anti-HBe(+) bao gồm 4 thử nghiệm lâm sàng ngẫu nhiên, có đối chứng. Tuy transaminase trở về bình thường trong độ 70% BN, lại có một tỷ lệ tái phát cao, từ 41 đến 90%. Sự khác biệt trong tỷ lệ tái phát trong 4 nghiên cứu này là do các cộng đồng được chọn không đồng nhất, có nhóm nghiên cứu gồm nhiều người xơ gan đáp ứng kém với liệu pháp IFN.

Bảng 11-16. Các thử nghiệm điều trị IFN có đối chứng ở BN VG B mạn HBeAg(-), HBV DNA(+).

Liều lượng	Số BN	Mất HBV DNA		Tham khảo
		Điều trị	Nhóm chứng	
5 MU 3 lần/tuần (13-26 tuần)	16	6/9 (67%)	2/7 (28%)	Alberti và cs
9 MU 3 lần/tuần (16 tuần)	24	8/12 (67%)	0/12 (0%)	Brunetto và cs
3-5 MU 3 lần/tuần (12 tuần)	33	11/17 (65%)	4/16 (25%)	Hadziyannis và cs

Đáp ứng lâu dài đối với IFN được đánh giá trong một nghiên cứu cũng của Brunetto và cs vào năm 1995 gồm 53 BN VG B mạn anti-HBe(+). 11 BN nhận 10 MIU IFN lymphoplastoid 3 lần 1 tuần trong 6 tháng, và 42 BN nhận 6 đến 18 MIU IFN α-2a tái tổ hợp. Vào cuối kỳ điều trị, mức độ HBV DNA không được phát hiện và giá trị ALT bình thường trong 34/53 BN (60%). Tuy nhiên, một đáp ứng kéo dài suốt thời kỳ theo dõi (trung bình 3 năm, biên độ 2 đến 7 năm) được ghi nhận trong chỉ 5 BN (9,4%). Sự tái hoạt hóa của HBV xảy ra trong các BN khác và được ghi nhận trong vòng 12 tháng ngưng điều trị. Các thử nghiệm cho thấy tỷ lệ đáp ứng với IFN ở thể đột biến tiền lõi thấp hơn nhiễm kiểu nguyên sinh và với một tỷ lệ tái phát cao. Bởi thế, cần theo dõi các BN này cẩn thận sau một đáp ứng thành công đối với IFN.

Guptan và cs khi nghiên cứu điều trị IFN trên BN Ấn Độ (bảng 11-17) đã đưa ra các kết luận như sau: (1) IFN vẫn có ích lợi, tuy có mức độ hạn chế hơn, ở BN Ấn Độ gốc châu Á có bệnh gan mạn do đột biến tiền lõi của VG B. (2) Tỷ lệ tái phát cao là do thuốc không hiệu quả trong việc loại trừ nhiễm HBV đột biến. (3) Ở các BN này, cần cân nhắc đến liệu pháp IFN đơn thuần liều thấp kéo dài hoặc phối hợp với các thuốc tương tự nucleosit khác.

Bảng 11-17. Tỷ lệ tái phát cao ở các BN anti-HBe(+) được điều trị bằng INF-α

Tác giả	Số BN nghiên cứu	Ức chế sao chép virut và ALT bình thường	Tái phát
Brunetto và cs 1991	90	70%	41-90%
Brunetto và cs 1995	53	60%	90%
Guptan và cs 1998	18	72,2%	54%

13.4.2. Các BN HBsAg(+) và ALT tăng cao nhưng HBV DNA và HBeAg(-)

Một vài BN có HBsAg và ALT tăng; nhưng HBV DNA và HBeAg không phát hiện được. Trong các BN này, vấn đề then chốt là loại trừ tất cả các nguyên nhân khác của bệnh gan. Có khả năng là một vài BN có HBV DNA trong huyết thanh nhưng mức độ thấp hơn ngưỡng phát hiện của các xét nghiệm HBV DNA thương mại hiện có. Các xét nghiệm PCR định lượng mới hiện đang được phát triển có độ nhạy cao hơn có thể dùng để xác định HBV DNA trong một số các BN này. Điều trị cho các BN này chưa được xác định rõ ràng, nhưng một liệu trình INF-α có thể là hợp lý nếu sinh thiết gan phù hợp với VG virut và nhuộm sinh thiết gan thấy HBcAg(+).

13.5. CÁC BIỂU HIỆN NGOÀI GAN

Nhiễm HBV kết hợp với nhiều biểu hiện ngoài gan tương đối ít gặp, bao gồm viêm cầu thận, viêm đa khớp, cryoglobulinemia và viêm động mạch. Bằng chứng cho thấy các biểu hiện ngoài gan thường thuyên giảm nếu bệnh nhiễm virut đáp ứng đối với INF.

13.5.1. Viêm cầu thận liên quan đến HBV

Là biểu hiện ngoài gan được nghiên cứu rộng rãi nhất. Bệnh do sự lắng đọng phức hợp miễn dịch trong các mao mạch vi cầu thận. Bệnh thường gặp nhất ở trẻ em và thường lành bệnh một cách tự nhiên. Tuy nhiên, sự hồi phục tự nhiên ít gặp ở người lớn và khoảng 1/3 có một quá trình "tiến triển không ngừng".

Tại Viện Nghiên cứu Sức khỏe Mỹ (NIH), 15 BN người lớn nhiễm VG B mạn, viêm cầu thận cấp và protein niệu được điều trị với INF-α từ năm 1985 -1993. 8 BN đáp ứng với điều trị mất HBV DNA và HBeAg kéo dài, trong số họ có 5 người mất HBsAg. 7/8 BN thuyên giảm hội chứng thận hư. Các BN còn lại có protein niệu kiểu thận hư tồn tại, do có đái đường và bệnh thận do đái đường trước liệu pháp INF-α. 7 người không đáp ứng tiếp tục có protein niệu đáng kể với sự thay đổi chút ít trong các chỉ số sinh hóa giữa các giá trị trước điều trị và các giá trị có được sau cùng. Các BN đáp ứng tiếp tục cho thấy cải thiện trong chức năng gan và thận vào những năm sau điều trị.

13.5.2. Viêm đa động mạch nút liên quan đến HBV

Kết quả lâm sàng ở 66 BN được mô tả trong một nghiên cứu ở Pháp. Nhiều phương pháp điều trị được thử ngiệm gồm cyclophosphamide, kết hợp với

prednisone, ara-A và thay thế huyết tương. Các tác giả ủng hộ việc điều trị phối hợp ức chế miễn dịch, kháng virut với prednisone và ara-A hơn là điều trị với cyclophosphamide.

Các bệnh khác như viêm đa khớp, cryoglobulinemia hỗn hợp nguyên phát kiểu II cũng đáp ứng với liệu pháp INF.

13.6. BN CHÂU Á VÀ BN VGB CÓ ALT BÌNH THƯỜNG

Nhiều thử nghiệm ở các BN người Trung quốc cho thấy, họ không đáp ứng tốt với IFN như các BN không phải gốc châu Á. Một tỷ lệ cao các BN VG B châu Á nhiễm virut vào lúc sinh hoặc một vài năm đầu tiên của cuộc sống do truyền nhiễm trong gia đình có thể gây dung nạp miễn dịch đối với virut với ALT huyết thanh tăng rất ít và đáp ứng kém đối với INF-α.

Lok và cs. đã thực hiện một nghiên cứu phân lớp các BN châu Á dựa vào mức ALT cơ sở và thấy các BN có ALT cao có tỷ lệ đáp ứng tốt với INF-α so với các BN không phải châu Á, trong khi những người có ALT bình thường không đáp ứng. Vai trò của corticoit mẫn cảm ban đầu cho INF-α không rõ ràng ở các BN người châu Á có ALT bình thường hoặc tăng tối thiểu. Một nghiên cứu thực hiện ở Đài Loan cho thấy mẫn cảm ban đầu bằng corticoit khá tốt trong khi thử nghiệm của Lok ở Hong Kong không thấy ích lợi gì.

Các BN châu Á là những người không thích hợp hoặc là những người không đáp ứng với INF-α có thể đáp ứng với các tác nhân tương tự nucleosit mới.

13.7. CÁC BN TRẺ EM

Các kết quả của các thử nghiệm INF-α ở trẻ em nhiễm HBV cho thấy những yếu tố dự báo đáp ứng kém ở người lớn cũng dự báo đáp ứng kém ở trẻ em. Các yếu tố này bao gồm HBV DNA cao và ALT thấp trước khi điều trị, phơi nhiễm đối với virut vào lúc sinh. Với các yếu tố trên, các thử nghiệm ở châu Âu ở trẻ em cho thấy các tỷ lệ đáp ứng tốt hơn khi so với người lớn. Ngược lại, ở châu Á, nơi truyền nhiễm theo chiều dọc thường gặp và ALT thường thấp, các thử nghiệm ghi nhận các kết quả kém hơn.

Brugera và cs đặc biệt thấy trẻ em nhiễm vào lúc sinh có tỷ lệ đáp ứng 7% so với đáp ứng 72% đối với những người nhiễm sau lúc sinh. Đáp ứng thấp ở BN VG B mạn phơi nhiễm vào lúc sinh cho thấy tầm quan trọng của dự phòng miễn dịch và các chiến lược tiêm chủng trong bệnh này. Ở Mỹ, CDC khuyến cáo sàng lọc HBsAg cho tất cả phụ nữ mang thai. Trẻ em sinh ra từ người mẹ có HBsAg(+) nên được tiêm HBIg và khởi đầu vacxin HBV trong vòng 12 đến 24 giờ sau sinh. Việc sử dụng chỉ một chiến lược như thế ở những phụ nữ người Mỹ gốc Châu Á nhiễm virut mạn bằng cách dùng vacxin HBV tái tổ hợp hạ thấp tỷ lệ mắc của nhiễm HBV ở trẻ em

xuống còn 7,8%, so với một tỷ lệ mắc dự báo của nhiễm virut mạn là 70-80% ở các đứa trẻ không được điều trị.

13.8. CÁC BN KHÔNG ĐÁP ỨNG VỚI IFN

Một bộ phận lớn các BN VG B mạn không đáp ứng với IFN. Việc xử trí các BN này còn nhiều khó khăn. Nếu liệu trình IFN ban đầu có liều lượng và thời gian đầy đủ, việc điều trị lại các BN này cũng sẽ khó thành công. Một thầy thuốc có thể cân nhắc liệu trình INF-α lặp lại nếu một BN có một mặt bằng sinh hóa không thuận lợi cho việc điều trị bằng IFN. Liệu pháp mồi bằng prednison cũng có thể được xem xét ở một BN có một mặt bằng sinh hóa không thuận lợi cho liệu pháp INF-α. Các BN này có thể áp dụng liệu pháp thay thế như các tác nhân tương tự nucleosit.

13.9. VG CẤP VÀ VG KỊCH PHÁT

Đa số các BN có VG B vàng da cấp sẽ hồi phục khỏi giai đoạn cấp của nhiễm virut chỉ với liệu pháp nâng đỡ đơn thuần và IFN không có lợi ích nào được chứng minh trong bệnh cảnh này. Một nghiên cứu tiền cứu ở Hy Lạp gồm 100 BN không có khác nhau giữa INF-α so với lô dùng giả dược. Tất cả BN đều hồi phục và không có BN nào phát triển VG mạn.

Trong một nghiên cứu không đối chứng, 12 BN VG B kịch phát được điều trị với INF-α và 83% đã chết, tương đương với lô chứng. Hiện nay, không có báo cáo nào trong việc dùng các tác nhân tương tự nucleosit trong VG B cấp hoặc kịch phát.

13.10. ĐỒNG NHIỄM VG B VÀ C

Độ 10% các BN nhiễm HBV đồng nhiễm với HCV, tuy số liệu thay đổi tùy theo cộng đồng BN. Điều trị cho các BN này rất phức tạp vì có khuynh hướng nặng hơn so với nhiễm một virut đơn thuần. Các virut lại can thiệp hoặc ức chế sao chép lẫn nhau.

Các BN nhiễm virut phối hợp nên được cho INF-α vì IFN hiệu lực cho cả 2 virut. Liều lượng và thời gian của INF-α được chọn lựa dựa vào cơ sở virut nào được xác định là hoạt động nhất. Tuy nhiên, đáp ứng đối với liệu pháp INF-α trong các BN đồng nhiễm HBV và HCV có vẻ nghèo nàn, việc loại trừ một virut có thể gây ra hoạt hóa virut còn lại. Đối với các BN người châu Á đồng nhiễm HBV và HCV, liệu pháp được đề nghị là IFN 4,5-5 MIU+ribavirin.

14. TÓM TẮT

Cho đến hiện nay, đã có nhiều tiến bộ trong điều trị VG B mạn. Sự phát triển các vacxin hiệu quả làm giảm đáng kể tỷ lệ mắc VG B mới trong những năm sắp tới. Điều trị VG B mạn bằng INF-α, được FDA cho phép từ năm 1991 đã là phương tiện điều trị đầu tiên với các thuận lợi như sau: liệu trình điều trị tương đối ngắn (4 đến 6 tháng);

đối ngắn (4 đến 6 tháng); làm chuyển huyết thanh HBeAg lâu dài trong 30-40% BN người lớn nhiễm virut mạn (gấp đôi nhóm chứng) trong thời gian theo dõi 50 tháng; về lâu dài sẽ có từ 19-57% mất HBsAg ở những người đáp ứng; các chỉ số dự báo mạnh nhất đối với đáp ứng điều trị là ALT > 150 U/L, HBV DNA < 200 pg/ml, thời gian nhiễm virut ngắn; và cuối cùng IFN làm thay đổi hậu quả xấu của bệnh gan mạn. Tuy nhiên, các kết quả nêu trên là của BN da trắng VG B mạn có nhiều đặc thù rất khác biệt với BN người châu Á. INF cũng có các bất lợi như sau: chỉ dùng được ở một số BN (IFN có tác dụng thấp trên BN nhiễm virut chu sinh, ALT thấp, BN có biến dị HBeAg(-)); dung nạp kém (thường có các tác dụng phụ gây khó chịu, đôi khi có tác dụng phụ nguy hiểm, làm nặng hơn tình trạng xơ gan, VG B mất bù); BN khó chấp nhận do thuốc cần phải tiêm và đắt tiền.

Bởi thế, nhiều tác giả cố gắng tìm kiếm các liệu pháp thay thế. Nhiều tác nhân tương tự nuccleosit có hoạt tính kháng virut mạnh không độc đang là các liệu pháp thay thế đầy hứa hẹn cho các BN vì lý do nào đó không dùng IFN để điều trị VG B mạn.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. **Main-J; Thomas-HC**. Hepadnaviridae. Treatment of chronic hepatitis B. In Zuckerman AJ, Thomas HC, editors. Viral Hepatitis. 2nd ed. London. Churchill Livingstone; 1998: 227-36.
2. **O'Brien-C; Moonka D**. Antiviral Chemotherapy for Viral Hepatitis. In S. Specter editor. Viral hepatitis: Diagnosis, Therapy, and Prevention.Totowa, NJ. Humana Press Inc. 1999:251-316.
3. **Perrillo R.P**. The management of chronic hepatitis B. The American Journal of Medicine, Vol 96 (suppl 1A) Jan 17, 1994: 1A-34S-1A-40S.
4. **Kawade Y**. Cytokines in the treatment of human diseases: Introduction and Summary of a plenary session. Proceedings of the ISVHLD, Tokyo, May 11-14, 1993. Viral Hepatitis and Liver Disease. 1994, 583-84.
5. **Trần Thiện Tuấn Huy, Đinh Dạ Lý Hương**. Điều trị VG siêu vi B mãn bằng IFN. Trong VG virut B: từ cấu trúc đến điều trị. Bộ Môn nội, TĐHYDTP.HCM. 2000: 149-63.
6. **Hayden FG**. Antimicrobial agents: Antiviral agents. In Goodman @ Gilman's The Pharmacological basis of Therapeutics. McGrawHill. 9th edition. 1996.
7. **Scully-LJ**. Therapy of chronic hepatitis B infection. Update 8, Jan 1997. Hepnet.http://.hepnet.com
8. **Perrillo-RP; Schiff-ER; Davis-GL; Bodenheimer-HC Jr; Lindsay-K; Payne-J; Dienstag-JL; O'Brien-C; Tamburro-C; Jacobson-IM; et-al**. A randomized, controlled trial of IFN alfa-2b alone and after prednisone withdrawal for the treatment of chronic hepatitis B. The Hepatitis Interventional Therapy Group. N-Engl-J-Med. 1990 Aug 2; 323(5): 295-301

9. **Wong-DK; Cheung-AM; O'Rourke-K; Naylor-CD; Detsky-AS; Heathcote-J**. Effect of alpha-IFN treatment in patients with hepatitis B e antigen-positive chronic hepatitis B. A meta-analysis. Ann-Intern-Med. 1993 Aug 15; 119(4): 312-23

10. **Niederau-C; Heintges-T; Lange-S; Goldmann-G; Niederau-CM; Mohr-L; Haussinger-D**. Long-term follow-up of HBeAg-positive patients treated with IFN alfa for chronic hepatitis B. N-Engl-J-Med. 1996 May 30; 334(22): 1422-7

11. **Gregorio-GV; Jara-P; Hierro-L; Diaz-C; de-la-Vega-A; Vegnente-A; Iorio-R; Bortolotti-F; Crivellaro-C; Zancan-L; Daniels-H; Portmann-B; Mieli-Vergani-G**. Lymphoblastoid IFN alfa with or without steroid pretreatment in children with chronic hepatitis B: a multicenter controlled trial. Hepatology. 1996 Apr;23:700-7

12. **Niederau-C; Heintges-T; Niederau-M; Stremmel-W; Strohmeyer-G**. Prospective randomized controlled trial of sequential treatment with corticoids and alpha-IFN versus treatment with IFN alone in patients with chronic active hepatitis B. Eur-J-Med. 1992 Nov; 1(7): 396-402.

13. **Liaw-YF; Lin-SM; Chen-TJ; Chien-RN; Sheen-IS; Chu-CM**. Beneficial effect of prednisolone withdrawal followed by human lymphoblastoid IFN on the treatment of chronic type B hepatitis in Asians: a randomized controlled trial. J-Hepatol. 1994 Feb; 20(2): 175-80

14. **Lok-AS; Wu-PC; Lai-CL; Lau-JY; Leung-EK; Wong-LS; Ma-OC; Lauder-IJ; Ng-CP; Chung-HT**. A controlled trial of IFN with or without prednisone priming for chronic hepatitis B. Gastroenterology. 1992 Jun; 102(6): 2091-7

15. **Brunetto-MR; Oliveri-F; Demartini-A; Calvo-P; Manzini-P; Cerenzia-MT; Bonino-F**. Treatment with IFN of chronic hepatitis B associated with antibody to hepatitis B e antigen. J-Hepatol. 1991; 13 Suppl 1: S8-11.

16. **Brunetto-MR; Oliveri-F; Colombatto-P; Capalbo-M; Barbera-C; Bonino-F**. Treatment of chronic anti-HBe-positive hepatitis B with IFN-alpha. J-Hepatol. 1995; 22(1 Suppl): 42-4.

17. **Guptan-RK; Thakur-V; Malhotra-V; Sarin-SK**. Low-dose recombinant IFN therapy in anti-HBe-positive chronic hepatitis B in Asian Indians. J-Gastroenterol-Hepatol. 1998 Jul; 13(7): 675-9

18. **Samuel CE**. Cytokines in the treament of human disease: The IFN system- from the laboratory to the clinic. Proceedings of the ISVHLD, Tokyo, May 11-14, 1993. Viral Hepatitis and Liver Disease. 1994, 585-90.

19. **Vũ Triệu An, Homberg JC**. Phức hợp chủ yếu hòa hợp mô. Miễn dịch học. NXB Y học. 1997. Tr 116.

20. **Consensus statement on prevention and management of hepatitis B and hepatitis C** in the Asia-Pacific region. J of Gastroenterol and Hepatol. 2000; 15: 824-841.

21. **Liaw YF**. Treatment of chronic hepatitis B virus infection: who, when, what for and how. J of Gastroenterol and Hepatol. 2000; 15 (Suppl): E31-E33.

22. **Niederau-C; Heintges-T; Lange-S; Goldmann-G; Niederau-CM; Mohr-L; Haussinger-D**. Long-term follow-up of HBeAg-positive patients treated with IFN alfa for chronic hepatitis B. N-Engl-J-Med. 1996 May 30; 334(22): 1422-7.

23. **Yokosuka O**. Role of steroid priming in the treatment of chronic hepatitis B. J of Gastroenterol and Hepatol. 2000; 15 (Suppl): E41-E45.

24. **Guan R**. Interferon monotherapy in chronic hepatitis B. J of Gastroenterol and Hepatol. 2000; 15:E34-E40.

25. **Nguyễn Văn Mùi, Nguyễn Hoàng Tuấn, Lê Đăng Hà, Vũ Bằng Đình**. Bước đầu theo dõi hiệu quả điều trị VG B mạn tính hoạt động bằng Intron-A. Kỷ yếu công trình NCKH chuyên ngành truyền nhiễm. Bệnh viện 103, Học viện Quân Y. Hà Nội 2001, tr 11-16.

26. **Kao JH**. Hepatitis B Genotype and the Response to Interferon Therapy. Hepatology, 2000; 33:998-1002.

27. **Jonas MM**. Interferon-α for Viral Hepatitis. J Pediatr Gastroenterl Nutr, 23 (2), 1996: 1-14.

28. **Hann HW**. The challenge of chronic hepatitis B. Treating Hepatitis at the Fronline. Sheraton Grande Sukhumvit, Bangkok, Thailand; 21-22 July 2001:14.

29. **Vũ Thị Minh Thục, Đái Duy Ban**. Cytokin phân tử và ứng dụng điều trị lâm sàng. NXB Y học. 1999: 265-283.

30. **Farrell G**. Management of chronic hepatitis B. Treating Hepatitis at the Fronline. Sheraton Grande Sukhumvit, Bangkok, Thailand; 21-22 July 2001.

Chương 12

ĐIỀU TRỊ VIÊM GAN B MẠN BẰNG CÁC CHẤT TƯƠNG TỰ NUCLEOSIT

Trang

1. MỞ ĐẦU ... 334
2. LỊCH SỬ CỦA CHẤT NUCLEOSIT TRONG ĐIỀU TRỊ VG B ... 336
3. LAMIVUDINE (LAM) ... 336
3.1. Dược tính ... 336
3.2. Cơ chế tác dụng ... 337
3.2.1. Tác dụng kháng virut trực tiếp ... 337
3.2.2. Tác dụng kháng virut gián tiếp ... 338
3.3. Chuyển hoá ... 338
3.4. Động học của LAM ... 339
3.5. Độc tính ... 339
3.6. Các thử nghiệm LAM trong điều trị HBV ... 339
3.6.1. LAM làm giảm sao chép ... 339
3.6.2. LAM vận chuyển huyết thanh HBeAg ... 340
3.6.3. LAM vận chuyển huyết thanh HBsAg ... 343
3.6.4. Các thay đổi ALT kết hợp với liệu pháp LAM ... 343
3.6.5. Các thay đổi mô học với LAM ... 344
3.6.6. Sự đề kháng thuốc ... 346
3.6.7. Lamivudin ở các BN virut huyết HBeAg(-) ... 349
3.7. Các thử nghiệm lâm sàng trong điều trị HBV ... 349
3.7.1. VG B mạn ở người Châu Á ... 349
3.7.2. VG B do HBV đột biến tiền lõi ... 350
3.7.3. Đồng nhiễm HBV và HIV ... 350
3.7.4. Ở những người được ghép cơ quan ... 351
3.7.5. VG B mạn giai đoạn cuối ... 352
3.8. Tiêu chuẩn chọn BN để điều trị LAM ... 353
3.9. Mục đích của điều trị ... 353
3.10. Liều dùng và cách dùng ... 354
3.11. Những yếu tố cân nhắc trong việc chọn lựa thuốc điều trị ... 354
3.11.1. Tính thuận tiện ... 354
3.11.2. Đặc điểm của BN ... 355
3.11.3. Tác dụng phụ ... 355
3.11.4. Chống chỉ định điều trị ... 355
3.11.5. Chi phí điều trị ... 356

3.12. Chỉ định điều trị *356*
3.13. Theo dõi BN trong khi điều trị *358*
3.14. Quản lý BN điều trị bằng LAM *360*
3.14.1. Quản lý BN HBeAg(+) *360*
3.14.2. Quản lý BN HBeAg(-), có đột biến tiền lõi *360*
3.14.3. Xử trí các BN có ALT tăng thời gian điều trị bằng LAM *361*
3.15. Thời gian điều trị *362*
3.16. Theo dõi sau khi ngưng điều trị LAM *364*
3.17. Đáp ứng với liệu pháp kháng virut VG B *364*
3.18. Liệu pháp kết hợp *365*
3.18.1. LAM và IFN-alfa 2b *365*
3.18.2. LAM và corticoit *365*
3.18.3. Phối hợp các chất tương tự nucleosit: LAM và famciclovir *367*
4. CÁC CHẤT TƯƠNG TỰ NUCLEOSIT KHÁC *367*
4.1. Famciclovir và Penciclovir *367*
4.2. Entecavir *369*
4.3. Emtricitabine (Ftc, Coviracil) *369*
4.4. Dapd *369*
4.5. L-Fmau *369*
4.6. Adefovir dipivoxil *370*
4.7. Lobucavir *370*
4.8. Ganciclovir *370*
4.9. Adenine arabinoside *371*
4.10. Adenine arabinoside monophosphate *371*
4.11. Acyclovir *372*
4.12. Ribavirin *372*
5. CHẤT TƯƠNG TỰ NUCLEOSIT TRONG ĐIỀU TRỊ HIỆN NAY 373
6. TÓM TẮT 373
TÀI LIỆU THAM KHẢO **374**

1. MỞ ĐẦU

Liệu pháp được cho phép đầu tiên trong điều trị nhiễm VG B là interferon (IFN). Các chỉ định của IFN khá đặc hiệu. Các BN phải có HBeAg(+), HBV DNA có trong huyết thanh, cũng như ALT cao trên 2 lần giới hạn trên của giá trị bình thường (GHTBT). Khi BN được điều trị bằng liệu pháp IFN chuẩn trong 4 tháng, tỉ lệ đáp ứng là 30-40%. Đáp ứng được xác định bằng việc mất HBeAg, phát triển anti-HBe, mất HBV DNA và ALT trở về GHTBT. Đáp ứng thường kéo dài với sự cải thiện về mặt mô học, nguy cơ phát triển xơ gan và UTTBG giảm.

Hai cơ chế chính được đưa ra trong liệu pháp IFN là ức chế quá trình nhân đôi của virut và làm tăng sự phân giải tế bào gan nhiễm virut qua cơ chế miễn dịch. Cũng do hai cơ chế này, có những người không thích hợp với IFN như sau:

- Những người không có tình trạng sao chép HBV như những người có anti-HBe huyết thanh dương, dù đây là những người có bệnh gan hoạt động. Liệu pháp IFN cũng còn chưa thống nhất ở các BN có đột biến HBV tiền lõi có anti-HBe(+), men gan cao và HBV DNA phát hiện được trong huyết thanh. Khuyến cáo hiện nay là những người này không được điều trị bằng IFN, tuy trong y văn cho thấy tỉ lệ đáp ứng không khác biệt với các BN HBcAg(+).

- Những BN thuộc nhóm ức chế miễn dịch, nhóm có đồng nhiễm HIV, nhóm có ghép cơ quan, nhóm bị nhiễm HBV theo chiều dọc từ mẹ sang con, nhóm BN có men gan không tăng (không có sự phân giải tế bào gan do khiếm khuyết đáp ứng miễn dịch): IFN cũng không hiệu quả ở nhóm người này.

- Những BN có bệnh gan mất bù, bệnh gan tiến triển có nguy cơ biến chứng nhiễm khuẩn nặng: sẽ làm xấu đi chức năng gan với liệu pháp IFN.

Vì liệu pháp IFN chỉ hiệu quả ở một số người nhiễm HBV mạn (30 đến 40%), lại khá tốn kém và có nhiều tác dụng phụ, nên cần phải có liệu pháp thay thế, trong đó chất tương tự nucleosit như lamivudin (LAM) là có nhiều hứa hẹn nhất. Phát triển các chất tương tự nucleosit có hoạt tính kháng virut mạnh là một trong các sự kiện quan trọng về mặt lâm sàng trong điều trị VG B. Nghiên cứu đã đi từ các tác nhân ban đầu có hoạt tính kháng virut yếu hoặc nhiều độc tính đến sự ra đời gần đây của Lamivudin (2',3' dideoxy -3'-thiacytidine) và Famciclovir, các thuốc có sinh khả dụng đường uống tốt, hoạt tính kháng virut mạnh và độc tính thấp. Các tác nhân tương tự nucleosit khác hiện còn trong giai đoạn nghiên cứu.

Hiện nay chỉ có LAM (Zeffix) là chất tương tự nucleosit đầu tiên được cho phép dùng trên lâm sàng. Cho đến tháng 5 năm 2000, đã có hơn 25 nước dùng sản phẩm này trong điều trị cho BN nhiễm HBV mạn, gồm cả Trung Quốc (với biệt dược là Heptodin), Nam Triều Tiên (Epivir-HBV), Canada (Heptovir), Việt Nam (Zeffix, Hivir, Lamoret, Virolam...) và Cộng Đồng Châu Âu, thuốc cũng đã được cho phép dùng trong khoảng 50 nước khắp thế giới.

Tuy nhiên, thời gian điều trị đối với LAM chưa được rõ ràng, nhất là với nhóm BN HBeAg(+). Hơn nữa, thời gian dự đoán hiện nay của liệu pháp là 5 năm. Trong các BN này, việc ngưng điều trị không thể chỉ căn cứ vào sự chuyển huyết thanh do vấn đề xuất hiện các chủng kháng thuốc và quyết định ngưng điều trị cần được xem xét cẩn thận.

2. LỊCH SỬ CỦA CHẤT NUCLEOSIT TRONG ĐIỀU TRỊ VG B MẠN

Việc dùng thực nghiệm các chất tương tự nucleosit trong điều trị VG B đã có từ 2 thập kỷ. Cuối thập kỷ 80, hiệu quả của IFN đã được chứng minh và IFN-alpha-2b đã được FDA cho phép dùng trong điều trị VG B vào năm 1992. Nhiều chất tương tự nucleosit như acyclovir, didanosine, zidovudine và ribavirin, được nghiên cứu trong điều trị VG B mạn vào cuối thập kỷ 80 và đầu thập kỷ 90, nhưng không có liều lượng nào cho thấy hiệu quả mà không độc.

Vào đầu những năm 1990, một thử nghiệm điều trị fialuridine, hoặc FIAU, đã gây nên một thảm họa. Lúc đầu nghiên cứu, FIAU cho thấy rất hứa hẹn do ức chế sao chép HBV, nhưng khi dùng kéo dài 1 đến 2 tháng sẽ gây hội chứng toan huyết axit lactic, suy gan, bệnh thần kinh, viêm tụy và bệnh cơ. 5/15 BN điều trị với FIAU đã chết do suy gan dù đã ghép gan.

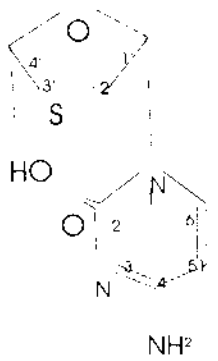
Việc phát triển các chất tương tự nucleosit thế hệ mới đã có nhiều thuận lợi hơn nhờ các nghiên cứu điều trị HIV. Do HBV có một quá trình sao chép ngược khá giống với HIV, nhiều chất ức chế men sao chép ngược đã được phát triển để điều trị HIV cũng hiệu quả với HBV. Hiệu quả lâm sàng của LAM trong điều trị VG B lần đầu tiên được quan sát tình cờ trong quá trình điều trị HIV ở một nhóm BN nhiễm cả 2 virut. Nhờ biết được tính tương đồng sinh học giữa HIV và HBV đã tạo điều kiện áp dụng nhanh chóng các tiến bộ trong điều trị HIV cho HBV. Như trong trường hợp adefovir dipivoxil lúc đầu được dùng để điều trị HIV nhưng đã được thử nghiệm ngay khi thuốc mới vừa được phát triển và đã chứng minh có hoạt tính chống HBV mạnh. Hiện nay LAM, famciclovir, fialuridine được đề cập chủ yếu trong điều trị VG B.

3. LAMIVUDINE (LAM)

Nucleosit là thành phần cấu tạo chính yếu của các chuỗi RNA và DNA. Những chất tương tự nucleosit là những chất đồng phân có cấu trúc hóa học tương tự như nucleosit tự nhiên và chính vì thế, có thể tham dự vào một số quá trình sinh học liên quan đến nucleosit.

Phần lớn các chất nucleosit tự nhiên đều là có dạng đồng phân quang học quay phải, trong khi các chất tương tự nucleosit lại có dạng đồng phân quang học quay trái. Khi biến đổi cấu trúc của các chất tương tự nucleosit là đã tạo được một dạng đồng phân quay trái có hoạt tính mạnh nhưng lại rất ít độc tính.

3.1. DƯỢC TÍNH



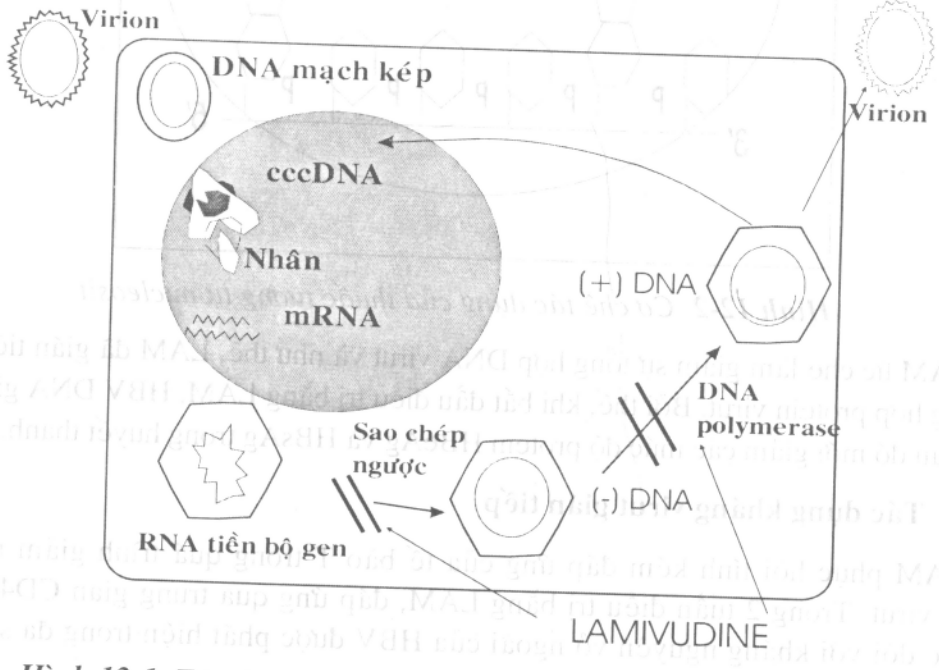
LAM (Glaxo Wellcome, Research Triangle Park, NC), có công thức 2', 3'-dideoxy-3'-thiacytidine (còn gọi là 3TC), là một chất đồng phân quang học quay trái (enantiomer) của 2'-deoxy-3'-thiacytidine, là một chất tương tự nucleosit trong đó carbon 3' ribose của zalcitabine được thay thế bằng sulfua.

Chất đồng phân quang học quay trái có ít độc tính hơn chất đồng phân quang học quay phải. Tuy ức chế sao chép virut *in vitro* thường yếu hơn các thuốc khác, LAM lại có độc tính gây độc tế bào rất thấp.

3.2. CƠ CHẾ TÁC DỤNG

3.2.1. Tác dụng kháng virut trực tiếp

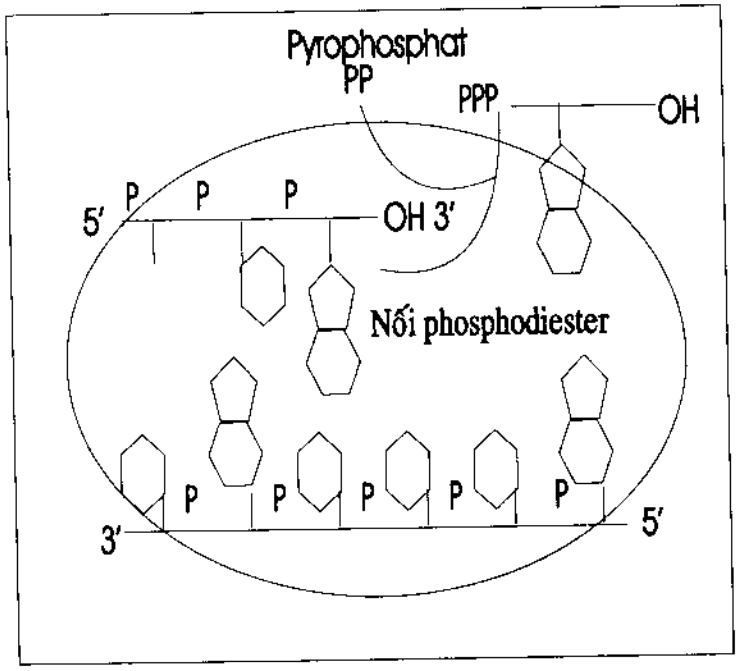
LAM cũng như các chất tương tự nucleosit khác, gây ức chế quá trình tổng hợp DNA của virut. LAM tác dụng như một chất kết thúc chuỗi (chain terminator) bằng cách ức chế cạnh tranh hoạt tính DNA polymerase phụ thuộc DNA virut và DNA polymerase phụ thuộc RNA (men phiên mã ngược) (hình 12-1). Các nucleotit nội sinh sẽ đến tác động ở vị trí xúc tác của men DNA polymerase. Vị trí xúc tác này chính là chuỗi mã YMDD, nơi sẽ diễn ra quá trình trùng hợp của nucleotit.



Hình 12-1. *Tác dụng của LAM lên chu trình sao chép của HBV.*

LAM tác dụng như một chất kết thúc chuỗi bằng cách ức chế DNA polymerase phụ thuộc DNA và DNA polymerase phụ thuộc RNA.

Các nucleotit liên kết với nhau qua cầu nối phosphodieste được thành lập giữa các nhóm 3'-hydroxyl trên phân tử đường và nhóm 5'-phosphat của nucleotit kế tiếp, tiếp tục như thế, chuỗi DNA nối dài ra (hình 12-2). Các dideoxynucleosit dưới dạng triphosphat có khả năng gắn kết cạnh tranh với các nucleosit nội sinh trên chuỗi DNA do có cấu trúc tương tự. Tuy nhiên, các chất tương tự nucleosit này chỉ có đầu 5' mà không có nhóm 3'-hydroxyl, nên khi nó gắn vào chuỗi DNA sẽ ngăn trở các nucleosit nội sinh kế tiếp không gắn kết được. Quá trình tổng hợp DNA bị kết thúc nửa chừng và chuỗi DNA virut không thành lập được.



Hình 12-2. *Cơ chế tác dụng của thuốc tương tự nucleosit*

LAM ức chế làm giảm sự tổng hợp DNA virut và như thế, LAM đã gián tiếp ức chế sự tổng hợp protein virut. Bởi thế, khi bắt đầu điều trị bằng LAM, HBV DNA giảm trước tiên, sau đó mới giảm các mức độ protein HBeAg và HBsAg trong huyết thanh.

3.2.2. Tác dụng kháng virut gián tiếp

LAM phục hồi tính kém đáp ứng của tế bào T trong quá trình giảm nhanh tải lượng virut. Trong 2 tuần điều trị bằng LAM, đáp ứng qua trung gian CD4 tăng lên rất cao đối với kháng nguyên vỏ ngoài của HBV được phát hiện trong đa số BN khi nồng độ virut giảm xuống.

3.3. CHUYỂN HOÁ

LAM cần được hoạt hóa nhờ quá trình phophoryl hóa nội bào để phát huy tác dụng kháng virut. Bởi thế, khả năng kháng virut liên quan chặt chẽ với nồng độ LAM triphosphat hình thành bên trong tế bào gan nhiễm virut. Các thuốc tương tự nucleosit dạng đồng phân quay trái có hiệu quả so với dạng quay phải do có ái tính mạnh đối với kinase tế bào nên giúp cho quá trình phosphoryl hóa tốt hơn. Các dạng đồng phân quay trái lại ít nhạy cảm với các men deaminase tế bào, do đó sẽ được tích tụ lâu. Hơn nữa, khi thuốc gắn vào DNA virut, thuốc ít nhạy cảm với men exonuclease của tế bào, nên gắn vào chuỗi DNA virut bền chặt hơn.

Sau khi uống, LAM nhanh chóng được hấp thụ với sinh khả dụng độ 80%. Thời gian bán hủy ($t_{1/2}$) loại trừ trong huyết tương độ 2,5 giờ và độ 70% liều được bài tiết dưới dạng không thay đổi trong nước tiểu. Thời gian bán hủy nội tế bào

của LAM triphosphat kéo dài hơn, khoảng trên 10 giờ trong các tế bào lympho máu ngoại biên.

3.4. ĐỘNG HỌC CỦA LAM

Thời gian bán hủy của tế bào gan bị nhiễm (chứa cccDNA) từ 10-100 ngày, trong khi thời gian bán hủy của virut trong huyết thanh là 24 giờ, tỉ số tân tạo của virut trong huyết tương là 50% và của tế bào gan nhiễm virut là 7% mỗi ngày. Dựa vào các số liệu này, các tác giả đã tính toán rằng để ức chế quá trình nhân đôi của virut bằng LAM, thì thời gian cần thiết để loại trừ nhiễm HBV phải kéo dài trên 1 năm điều trị.

LAM không tương tác với các thuốc antiretrovirut như IFN-α và zidovudine, nhưng tương tác với bactrim (trimethoprim-sulfamethoxazole), làm giảm hiệu quả của thuốc. Bactrim lại thường được dùng để dự phòng chống nhiễm *Pneumocystis carinii* ở người nhận gan ghép và ở BN nhiễm HIV. Cả hai cộng đồng này đều có thể được điều trị LAM khi bị VG B mạn. Tương tác này thường không có ý nghĩa về mặt lâm sàng.

3.5. ĐỘC TÍNH

Các thuốc tương tự nucleosit không có ái tính mạnh đối với men DNA polymerase của nhân tế bào và của ti thể. Thuốc khuếch tán rất ít qua màng ti thể nên ức chế sự tổng hợp DNA của ti thể tế bào rất ít. Do đó, thuốc có tính chọn lọc và có ít độc tính trên tế bào của cơ thể. LAM có hiệu quả gấp 300 lần so với dạng nguyên thủy của nó là ddC và độc tính ít hơn 1.000 lần trên sự tổng hợp DNA của ti thể tế bào.

Tuy có liên quan về mặt cấu trúc với zalcitabine, LAM không gây ra bệnh thần kinh ngoại vi. Thuốc thường dung nạp tốt, liệu pháp dùng LAM đơn thuần bị hạn chế do sự xuất hiện nhanh chóng virut kháng thuốc do hậu quả của đột biến ở codon 184 trong men phiên mã ngược. Sự xuất hiện kháng thuốc làm giảm 100 lần tính nhạy cảm *in vitro* và làm mất một phần tác dụng kháng virut ở BN. Ngược lại, liệu pháp phối hợp ở các BN trước đây chưa được điều trị với LAM và zidovudine làm giảm 10 lần nồng độ HBV trong hơn một năm trong điều trị BN nhiễm cả HIV và HBV, dù cho có sự phát triển đột biến của codon 184.

3.6. CÁC THỬ NGHIỆM LAM TRONG ĐIỀU TRỊ HBV

3.6.1. LAM làm giảm sao chép

Ở vịt Bắc Kinh nhiễm virut VG vịt (DHBV): các thí nghiệm *in vitro* cho thấy thuốc có hoạt tính làm giảm sao chép virut khá ấn tượng. Tuy nhiên, virut gần như luôn luôn tái phát sau khi ngưng điều trị.

Thử nghiệm điều trị LAM trên sóc macmốt bị gây nhiễm WHV. Thí nghiệm này nhằm xác định khi điều trị lâu dài với một chất ức chế tổng hợp DNA virut có làm mất đi các sản phẩm virut bao gồm cả cccDNA khỏi gan của sóc macmốt nhiễm WHV thực nghiệm không? Sự tổng hợp DNA virut bị ức chế bởi LAM. Liệu pháp LAM đã làm giảm dần dần nồng độ virut trong huyết thanh. Tuy nhiên, ngay cả sau khi còn duy trì thuốc trong 3-12 tháng, trên 95% các tế bào gan trong đa số con vật vẫn còn nhiễm cccDNA. Sự giảm đáng kể tỉ lệ các tế bào gan nhiễm virut và nồng độ cccDNA trong gan chỉ được thấy trong 3 con sóc macmốt, 2 trong nhóm điều trị bằng LAM và một trong nhóm chứng. Tuy nhiên, nồng độ virut cuối cùng tăng lên ở sóc macmốt điều trị bằng LAM, cho thấy các chủng virut kháng thuốc bắt đầu lan tỏa trong gan sau 9 đến 12 tháng điều trị. Ba kiểu đột biến kết hợp với kháng thuốc được tìm thấy trong thời điểm này, trong một vùng trên dòng của loại hình (motif) YMDD ở điểm hoạt động của men phiên mã ngược virut. Bản thân loại hình YMDD thì không thay đổi.

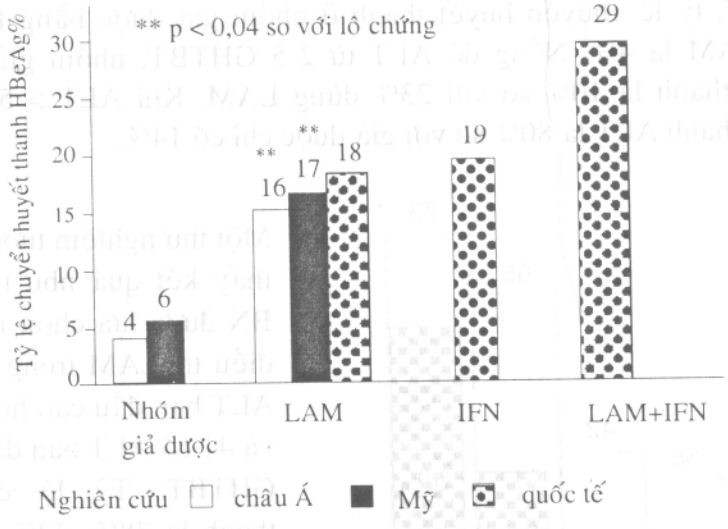
Thực nghiệm ở BN nhiễm HBV mạn: khả năng của LAM ức chế sao chép virut được chứng thực trong các thử nghiệm ở BN nhiễm HBV. Các thử nghiệm lâm sàng với LAM đã có kết luận ban đầu và hiện vẫn đang tiếp tục. LAM đã được Dienstag và cs nghiên cứu qua một thử nghiệm đa trung tâm, mù đôi, ngẫu nhiên. Chọn ngẫu nhiên 32 BN VG B mạn (gồm 17 BN trước đây đã từng thất bại với liệu pháp INF-α) được điều trị bằng LAM theo đường uống với các liều 25, 100, hoặc 300 mg trong 12 tuần và được theo dõi thêm trong 24 tuần. Tất cả các BN đều có HBsAg trong huyết thanh. Kết quả là nồng độ HBV DNA trở nên không phát hiện được (≤ 1,5 pg/ml) trong 70% các BN nhận liều 25 mg LAM và 100% các BN dùng liều 100 hoặc 300 mg. 6/22 (19%) BN có ức chế HBV DNA kéo dài sau khi chấm dứt điều trị và 4 BN thải trừ HBeAg (12%), trong số này có 3 BN trước đây không đáp ứng với INF-α. HBV DNA giảm trong tất cả các BN, gồm cả những BN có ALT cao hoặc bình thường, nhưng đáp ứng lâu dài có nhiều khả năng ở BN có mức độ HBV DNA ban đầu thấp và ALT cao. Tuy nhiên, trong hầu hết BN HBV DNA tái xuất hiện khi hoàn tất đợt điều trị. Trong và sau điều trị, ALT còn gấp đôi trong 5 BN (50%) dùng liều 25 mg và 8 BN (36%) dùng các liều 100 hoặc 300 mg.

3.6.2. LAM và chuyển huyết thanh HBeAg

LAM 100 mg mỗi ngày gây ức chế HBV và nồng độ HBV DNA huyết thanh không phát hiện được ở phần lớn BN được điều trị trong 4-8 tuần (hình 12-3). Tuy nhiên, đa số BN sẽ tái phát tình trạng virut huyết sau 1-2 năm điều trị. Chuyển huyết thanh hoàn toàn (mất HBeAg, xuất hiện anti-HBe và HBV DNA không phát hiện được) là mục tiêu điều trị quan trọng đối với VG B mạn. Trong 2 thí nghiệm lâm sàng có đối chứng, sau 1 năm điều trị LAM ở BN HBeAg(+) có 16-17% chuyển huyết thanh HBeAg so với 4-6% ở nhóm giả dược. Các kết quả khá giống với liệu pháp IFN trong 16 tuần là 18-19%.

Trong nhóm BN trước đây không đáp ứng với IFN, tỷ lệ chuyển huyết thanh là 18% trong nhóm dùng LAM so với 13% nhóm giả dược.

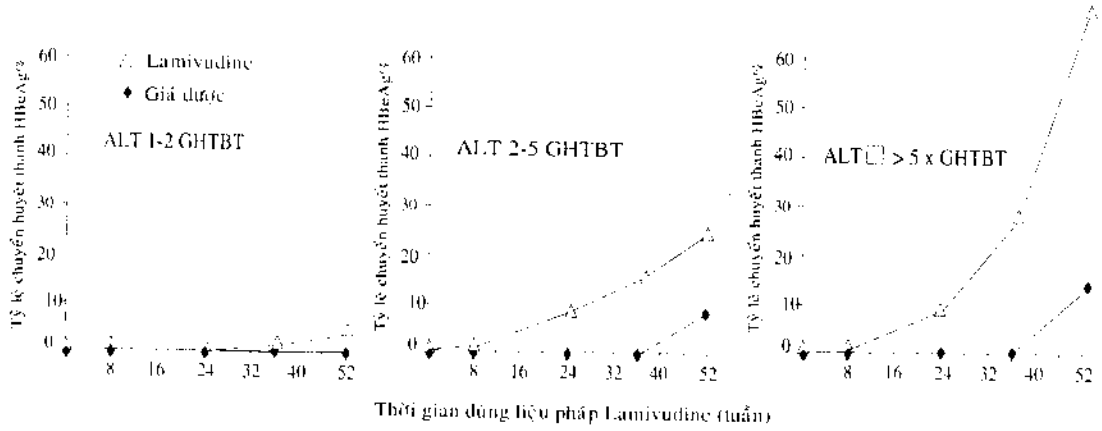
Tình trạng kéo dài chuyển huyết thanh được báo cáo trong một nghiên cứu về LAM giai đoạn I và II ở 34 BN. Sau thời gian theo dõi trung vị 6 tháng (1-12) ngưng điều trị, 31/34 (91%) vẫn còn tình trạng chuyển huyết thanh vào cuối kỳ theo dõi. Trong 3 BN không duy trì được tình trạng chuyển huyết thanh, 2 có tái hoạt bệnh và BN thứ ba tạm thời mất anti-HBe. Trong 24 BN trong nghiên cứu giai đoạn II được điều trị mở rộng trong 18 tháng có 7/9 BN mất HBeAg hoặc điều trị được ngưng do chuyển huyết thanh. Tất cả BN đều còn tình trạng HBeAg(-) trong 4-12 tháng ngưng điều trị. Trong một nghiên cứu đa trung tâm ở Bắc Mỹ, chuyển huyết thanh kéo dài trong 73% các trường hợp sau 4 tháng ngưng điều trị. Trong một nghiên cứu ở châu Á 11/15 (73%) BN chuyển huyết thanh còn duy trì tình trạng này sau thời gian theo dõi trung bình 52 tuần. Đây là những kết quả đáng phấn khởi và cần được xác định bằng các số liệu lớn hơn và thời gian nghiên cứu dài hơn.



***Hình 12-3**. Chuyển huyết thanh HBeAg vào tuần 52.*

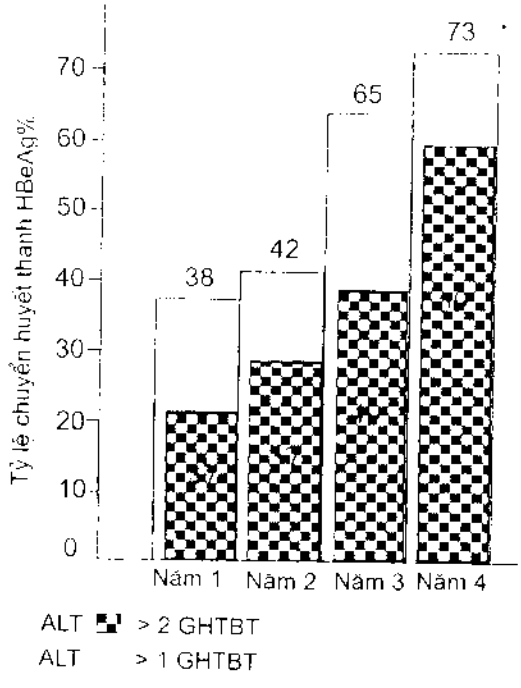
LAM 100 mg mỗi ngày trong 52 tuần; IFN, giả dược trong 8 tuần sau đó là IFN-alpha 2b 10 MU 3 lần/tuần trong 16 tuần; LAM+IFN, LAM trong 8 tuần sau đó là liệu pháp kết hợp trong 16 tuần.

Nồng độ ALT huyết thanh ban đầu có tính dự báo chuyển huyết thanh HBeAg cao nhất. ALT bất thường phản ánh cơ chế miễn dịch ký chủ trong thải trừ các tế bào gan nhiễm virut. Trong quá trình điều trị LAM, diệt virut được giúp đỡ bởi thời gian bán tồn của tế bào gan nhiễm virut giảm xuống và loại trừ cccDNA trong các tế bào này. Theo nghiên cứu của Liaw và cs, kết quả 5 năm thử nghiệm LAM 100 mg/ngày cho thấy nồng độ ALT càng cao, càng dễ chuyển huyết thanh, theo như hình 12-4 .



Hình 12-4. *Tỷ lệ mất HBeAg sau 5 năm điều trị bằng LAM (100 mg/ngày) theo nồng độ ALT ban đầu.*

Trong nghiên cứu này, nồng độ ALT ≤ 1 x GHTBT sau 52 tuần tỷ lệ chuyển huyết thanh HBeAg ở nhóm dùng giả dược và LAM đều bằng không. Nồng độ ALT từ 1-2 GHTBT, tỷ lệ chuyển huyết thanh ở nhóm giả dược bằng không trong khi nhóm dùng LAM là 4%. Nồng độ ALT từ 2-5 GHTBT, nhóm giả dược có tỷ lệ chuyển huyết thanh là 10% so với 23% dùng LAM. Khi ALT > 5 GHTBT, tỷ lệ chuyển huyết thanh ALT là 80% so với giả dược chỉ có 14%.



Hình 12.5. *Tỷ lệ chuyển huyết thanh HBeAg trong nghiên cứu của Chang và cộng sự sau 4 năm*

Một thử nghiệm tương tự cũng cho thấy kết quả như trên. Trong 58 BN được lựa chọn ngẫu nhiên để điều trị LAM trong 4 năm, 26 có ALT ban đầu cao hơn 2 x GHTBT và 41 có ALT ban đầu cao hơn 1 x GHTBT. Tỷ lệ chuyển huyết thanh là 38%, 42%, 65% và 73% trong trường hợp ALT ban đầu > 2 x GHTBT, vào cuối năm thứ 1, 2, 3 và 4, tăng so với trường hợp ALT ban đầu > 1 x GHTBT[19,38], lần lượt là 27, 37, 49 và 59% (hình 12-5).

Phân tích đa biến số thăm dò giá trị dự báo của tuổi, phái tính, trọng lượng cơ thể, bảng điểm mô học (HAI) cơ sở và nồng độ HBV DNA cơ sở đối với chuyển huyết thanh HBeAg. Không biến số nào có ý nghĩa. Phân tích các số liệu tích phân của thử nghiệm giai đoạn III không cho thấy bất cứ khác biệt nào trong tỷ lệ chuyển huyết thanh HBeAg giữa các BN châu Á và dân Caucase khi nồng độ ALT ban đầu được điều chỉnh.

3.6.3. LAM và chuyển huyết thanh HBsAg

Schiff và cs dùng liệu pháp LAM ở 43 BN VG B mạn HBeAg(+) trong thời gian trung bình là 21 tháng, 21% BN (9/43) có chuyển huyết thanh HBeAg đồng thời cũng chuyển huyết thanh HBsAg kéo dài.

3.6.4. Các thay đổi ALT kết hợp với liệu pháp LAM

3.6.4.1. Tăng ALT trong lúc điều trị

Nồng độ ALT bất thường trước khi điều trị dần dần trở về bình thường trong khi điều trị LAM. Trong nghiên cứu ở châu Á, 72% ALT còn bình thường kéo dài sau 52 tuần điều trị so với 24% ở nhóm giả dược. Trong nghiên cứu ở Mỹ, ALT còn bình thường trong 41% so với 7% giả dược. Ở những người không đáp ứng với IFN, ALT bình thường kéo dài xảy ra trong 44% (so với 15% giả dược). ALT đôi khi tăng tạm thời trong quá trình điều trị, tăng ALT gấp ba hoặc gấp đôi vượt quá 500 IU/l thường gặp ở nhóm LAM hơn nhóm giả dược. Không có một người tham gia nghiên cứu nào có ALT tăng kết hợp với mất bù gan. Gia tăng ALT có thể do phục hồi đáp ứng tế bào T trong quá trình điều trị LAM. Tuy nhiên, phân tích ban đầu không cho thấy một sự kết hợp ý nghĩa nào giữa sự gia tăng ALT và chuyển huyết thanh HBeAg.

3.6.4.2. Tăng ALT sau điều trị

Tăng ALT sau điều trị thường kèm theo tái phát virut huyết. Trong nghiên cứu châu Á, 47/90 (52%) BN dùng LAM 100 mg tiếp tục trong 2 năm có đáp ứng HBV DNA kéo dài so với 2/41 (5%) ở những người nhận LAM trong 1 năm sau đó là giả dược. Một đáp ứng ALT kéo dài tương ứng được quan sát trong 50% và 8% trong 2 nhóm này, là các BN điều trị lại LAM ngay sau nếu 2 mức độ HBV DNA liên tiếp được phát hiện. Bất cứ hoạt tính gan tái phát nào đều được kiểm soát nhanh chóng và sự tăng cao ALT có mất bù gan không thường gặp.

Ngoài ra, nhiều nguyên nhân tăng ALT liên quan đến điều trị LAM đã được ghi nhận, Schiff tổng kết như sau (bảng 12-1):

Bảng 12-1. Các nguyên nhân tăng ALT có thể gặp khi điều trị LAM

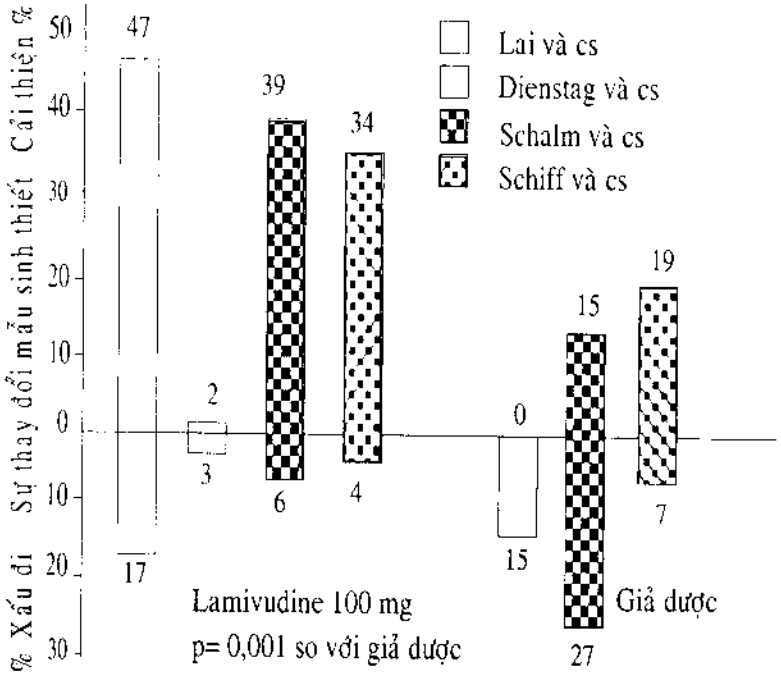
Liên quan đến VG:	chuyển huyết thanh HBeAg, các dao động bất thường của bệnh
Liên quan đến điều trị:	không chịu đựng được thuốc, xuất hiện các đột biến YMDD
Có bệnh khác đồng thời:	nghiện rượu, nhiễm VG virut khác (VG A, E...)

3.6.5. Các thay đổi mô học với LAM

Mục tiêu cuối cùng trong điều trị VG B mạn là nhằm giải quyết tình trạng viêm, giảm xơ hóa, ngừa xơ gan và UTTBG. Hiệu quả này cần được đánh giá định lượng, ít sai số và toàn diện. Trong tất cả nghiên cứu giai đoạn II, các nhà bệnh học cho điểm các mẫu mô trước và sau điều trị mà không được biết về các mẫu sinh thiết và chế độ điều trị theo bảng điểm Knodell hoặc Ishak. Điểm hoại tử viêm từ 0-18 bao gồm hoại tử quanh cửa và cầu nối (0-10), viêm khoảng cửa (0-4) và thoái hóa trong tiểu thùy và hoại tử từng vùng (0-4). Mức độ xơ hóa được cho điểm 0-4 theo hệ Knodell và 0-6 theo hệ Ishak (bảng 12-2). Thay đổi 2 điểm trong HAI được cho tình trạng cải thiện hoặc xấu đi về mặt mô học. Đánh giá cũng được các nhà mô bệnh học thực hiện trên các cặp sinh thiết từ các BN riêng lẻ mà không biết về các chuỗi sinh thiết.

Bảng 12-2. Hệ cho điểm Knodell – Thành phần đánh giá sinh thiết

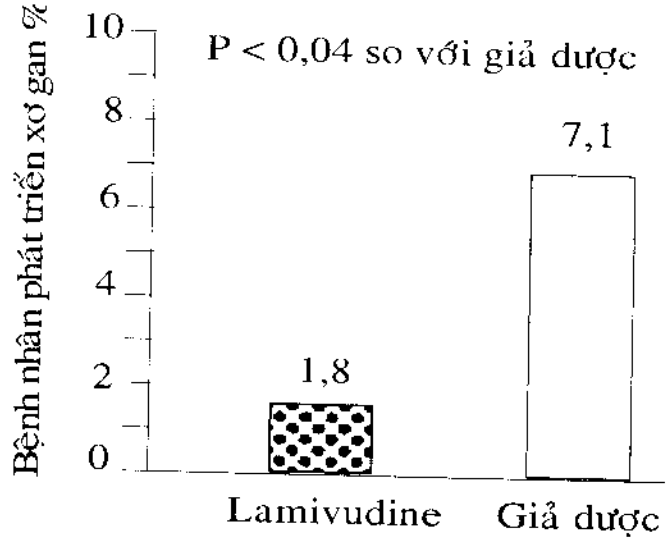
Phân loại	Các thành phần được đánh giá	Cho điểm
Phân độ	1. Hoại tử quanh cửa ± hoại tử cầu nối	0-10
	2. Thoái hóa trong tiểu thùy và hoại tử từng vùng	0-4
Phân giai đoạn	3. Viêm khoảng cửa	0-4
(Ishak 0-6)	4. Mức độ xơ hoá	0-4



Hình 12-6. *Tác dụng của LAM trên tình trạng xơ hóa của gan sau một năm điều trị.*

Nghiên cứu về tác dụng của LAM trên tình trạng xơ hóa gan sau một năm điều trị bằng phương pháp mù, lấy mẫu sinh thiết trước và sau khi điều trị. Công trình của Lai và cs cho thấy mô gan xấu đi 17%, cải thiện 47%. Các nghiên cứu của Dienstag, Schalm và Schiff cho thấy xơ hóa gan được cải thiện nhiều so với nhóm chứng. Xơ hóa cải thiện 2-39% BN với LAM, so với 0-15% ở BN giả dược (hình 12-6).

Trong nghiên cứu châu Á, điều trị với LAM 100 mg làm giảm 3 điểm trong số điểm HAI (từ 7 đến 5); trong khi các BN điều trị giả dược tăng 1 điểm vào cuối năm thứ nhất. Hoại tử viêm được cải thiện trong 56% BN sau 1 năm điều trị với LAM, so với 25% ở nhóm giả dược ($p < 0,001$). Các BN có VG trung bình đến nặng có nhiều khả năng cải thiện. Xơ hóa tiến triển trong 15% giả dược so với 3% dùng LAM ($p < 0,01$). Điều này cũng gặp trong nghiên cứu của Mỹ (5 đối với 20%, $p < 0,01$). Tuy nhiên, nghiên cứu Châu Á không chứng minh giảm xơ hóa như ở các nghiên cứu Mỹ và các nước khác. Trong một phân tích 3 công trình của các tác giả Lai và cs, Dienstag và cs, Heathcote và cs vào năm 1998, tiến triển đến xơ gan gặp trong 7,1% BN dùng giả dược, nhưng chỉ xảy ra trong 1,8% BN dùng LAM (hình 12-7)[19,38]. Các kết quả tương tự cũng được báo cáo ở 20 BN trong một nghiên cứu nhãn mở ở Nhật.



Hình 12-7. *LAM làm giảm tiến trình xơ gan sau một năm điều trị (nghiên cứu giai đoạn III).*

Một báo cáo từ một trung tâm trong một nghiên cứu châu Á cho thấy sự cải thiện mô học tiếp diễn sau 2 năm điều trị với LAM. 7 BN có sinh thiết gan được đánh giá lúc đầu và vào cuối năm thứ nhất và thứ nhì. Điểm số viêm-hoại tử trung vị lần lượt là 7, 4 và 1. Không có thay đổi nào trong điểm số xơ hóa.

Vào cuối năm thứ ba, các sinh thiết gan có giá trị trong việc đánh giá 82 BN trong nghiên cứu châu Á. Họ không được chọn lọc đặc hiệu và đã được điều trị với

nhiều chế độ ngẫu nhiên khác nhau 25 hoặc 100 mg LAM; 37 BN không có bằng chứng đột biến YMDD. So với sinh thiết gan ban đầu, 68% cho thấy có cải thiện với số điểm HAI giảm 2 điểm hoặc nhiều hơn trong khi 22% xấu đi. Các BN có đột biến YMDD có các kết quả kém thuận lợi hơn.

Nhìn chung, hiệu quả của LAM trên tình trạng mô học của VG B mạn còn bù có thể tóm tắt như sau:

- Sau một năm điều trị, hoạt tính viêm-hoại tử được cải thiện và ngưng tiến triển xơ hóa.
- Tiến triển đến giai đoạn 3 (cầu nối) hoặc xơ gan gần như mất đi sau 1-2 năm điều trị.
- Tình trạng xơ gan và xơ hóa cầu nối thuyên giảm trong 40-70% các trường hợp.
- Mô học được cải thiện tốt nhất khi có chuyển huyết thanh HBeAg và vẫn còn cải thiện ngay cả khi không có chuyển huyết thanh.
- Khi điều trị tiếp tục, mô học chịu ảnh hưởng phần nào bởi xuất hiện đột biến YMDD.

3.6.6. Sự đề kháng thuốc

3.6.6.1. Các biến dị YMDD

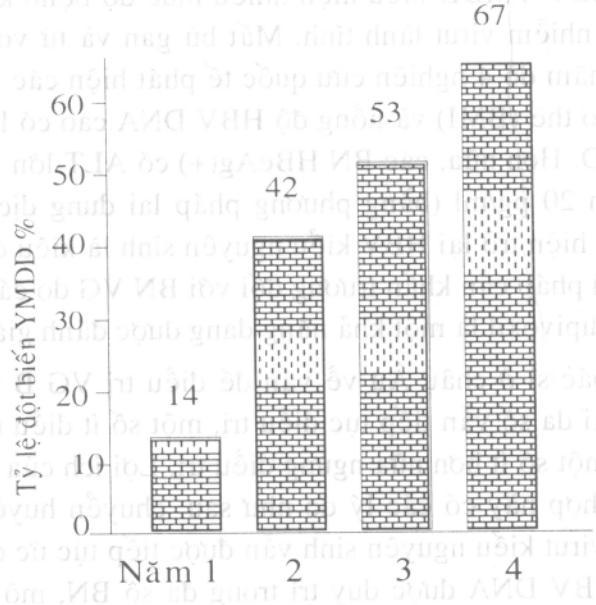
VG B mạn đề kháng LAM có các đặc điểm sau:

- HBV DNA và ALT thường không trở về nồng độ trước khi điều trị, ALT ổn định ở mức cao
- Trong nghiên cứu đa trung tâm ở châu Á, sau 2 năm điều trị, tình trạng mô học không xấu đi
- BN có thể có chuyển huyết thanh HBeAg
- Trong các thể nặng, albumin huyết thanh giảm xuống
- Hiện tượng bùng phát (đôi khi nghiêm trọng) được mô tả sau khi xuất hiện YMDD, nhưng mất bù gan ± chuyển huyết thanh HBeAg không hay gặp hơn thể HBV nguyên sinh.

HBV DNA huyết thanh thường giảm thấp hơn giới hạn theo phát hiện của đa số các xét nghiệm hiện có trên thị trường trong 8 tuần đầu dùng LAM. Trong khi tiếp tục điều trị, tình trạng virut huyết trở lại ở một số BN từ 6 tháng trở đi, do xuất hiện các biến dị HBV đề kháng với LAM. Các biến dị này xảy ra trong 2 ổ gen chính trong HBV-DNA polymerase và men phiên mã ngược. Các biến dị đề kháng LAM thường gặp là M552V, M552I (thay thế methionin bằng valin hoặc isoleucin tại ổ gen YMDD) và L528M+M552V, các nghiên cứu *in vitro* cho thấy sự gia tăng nồng

độ ức chế (IC_{50}) của LAM hơn 100.000 lần đối với L528M+M552V, M552I và L528+M552I; 153 lần đối với M552V và 18 lần đối với L528M.

Kiểu gen đề kháng HBV được phát hiện trong 14-32% BN vào cuối năm thứ nhất dùng LAM 100mg trong các nghiên cứu giai đoạn III. Tuy các biến dị ít có khả năng sao chép, đề kháng kiểu hình thường xảy ra. Đột phá HBV DNA được ghi nhận do phát hiện sự trở lại của nồng độ HBV DNA có thể đo được sau một thời gian bị ức chế. Ở liệu pháp mở rộng, các biến dị tiếp tục xuất hiện. Trong nghiên cứu ở Mỹ, người ta đã xác định 10/23 (43%) có biến dị ở các BN được điều trị trong 18 tháng. Nghiên cứu ở Châu Á[19,30] cho thấy xu hướng tăng lên chắc chắn theo thời gian: các biến dị được phát hiện trong 14% năm đầu, 42% (31/74) sau 2 năm, tăng lên 53% (27/51) vào năm thứ 3 và 67% vào năm thứ tư (hình 12-8). Nồng độ HBV DNA huyết thanh trung vị của các biến dị còn dưới mức ban đầu khi LAM được dùng tiếp tục. Cũng thế, nồng độ ALT huyết thanh trung vị thấp dưới giá trị ban đầu.



Hình 12-8. *Tỷ lệ xuất hiện đột biến YMDD sau 4 năm điều trị LAM trong nghiên cứu châu Á.*

Ý nghĩa lâm sàng của sự xuất hiện các biến dị kháng thuốc cần được khảo sát đầy đủ. Các biến dị có gây VG không? Câu trả lời là có trong đa số BN ở một thời điểm nào đó. Sau khi xác định các biến dị kháng thuốc ở 13 BN (10 VG B mạn có khả năng miễn dịch, 2 người nhận gan ghép và 1 đồng nhiễm HIV-HBV), nồng độ ALT tăng trở lại trong 8/10 BN có ALT bình thường và tăng hơn ở 3/3 có ALT cao. 3/10 BN tiếp tục điều trị với LAM có bùng phát VG. Một trong các BN này là sau ghép gan dùng ức chế miễn dịch và tử vong. Một trong những trung tâm nghiên cứu châu Á báo cáo một kinh nghiệm tương tự. 32/55 BN dùng LAM 25 mg và/hoặc

100mg phát triển các biến dị vào cuối năm thứ 2. Tất cả BN tiếp tục điều trị với LAM, nhưng 30 (93,7%) tăng ALT và 13 (40,6%) có đợt bùng phát cấp (tăng ALT nhanh gấp 2 lần và > 5 x GHTBT hoặc > 300 IU/l) vào 4 - 94 tuần (trung vị 24 tuần) sau khi các biến dị xuất hiện. Các BN bùng phát cấp có nồng độ HBV DNA cao hơn nhiều. 3 BN (9%) phát triển tình trạng gan mất bù tuy cả 3 được phát hiện có chuyển huyết thanh HBeAg.

Năm thứ ba, đáp ứng mô học có lợi ở 82 BN trong nghiên cứu châu Á. Trong 37 BN không có biến dị, sự cải thiện giảm 2 hoặc nhiều điểm trong bảng điểm HAI gặp trong 68% và xấu đi trong 22% khi so với mức ban đầu. Mô học trong 45 BN có đột biến cho thấy có một số ít BN cải thiện và nhiều BN xấu đi; 32% trong 19 BN có đột biến dưới 1 năm trước khi sinh thiết cho thấy tình trạng xấu đi với tăng 2 điểm hoặc nhiều hơn trong bảng điểm HAI; trong 19 BN khác có các đột biến từ 1 đến 2 năm, 47% xấu đi.

Các đột biến HBV YMDD biểu hiện nhiều mức độ bệnh khác nhau. Chắc chắn đây không phải là nhiễm virut lành tính. Mất bù gan và tử vong đã được báo cáo. Phân tích hồi qui thăm dò 4 nghiên cứu quốc tế phát hiện các yếu tố như thể trọng, chỉ số khối lượng cơ thể (BMI) và nồng độ HBV DNA cao có liên quan đến sự phát triển biến dị YMDD. Hơn nữa, các BN HBeAg(+) có ALT lớn hơn 1,3 x GHTBT và HBV DNA lớn hơn 20 pg/ml (bằng phương pháp lai dung dịch) sau 24 tuần dùng LAM để tránh xuất hiện trở lại HBV kiểu nguyên sinh là kiểu được cho là gây bệnh nhiều hơn. Một giải pháp cần khẩn trương đối với BN VG do các biến dị là phối hợp LAM với adefovir dipivoxil là một khả năng đang được đánh giá.

Thăm dò 110 bác sĩ ở châu Âu về vấn đề điều trị VG B mạn khi có đột biến YMDD cho thấy đại đa số vẫn tiếp tục điều trị, một số ít điều trị thêm thuốc kháng retrovirut khác và một số ít hơn nữa ngưng điều trị. Lợi ích của việc tiếp tục điều trị LAM trong trường hợp này có các lý do như sau: chuyển huyết thanh HBeAg vẫn còn có thể xảy ra, virut kiểu nguyên sinh vẫn được tiếp tục ức chế, các cải thiện về nồng độ ALT và HBV DNA được duy trì trong đa số BN, mô học gan có thể vẫn được cải thiện và vẫn không gia tăng các tác dụng phụ.

3.6.6.2. Các kiểu phụ virut VG B

Kháng nguyên bề mặt của virut VG B có 4 kiểu phụ: adw, ayw, adr và ayr. Zollner thực hiện một nghiên cứu xác định tác dụng của LAM trên các kiểu phụ HBV. Thử nghiệm gồm có 26 BN VG B mạn chưa bao giờ điều trị bằng LAM và 13 BN có kiểu phụ ayw: không có khác biệt có ý nghĩa về tuổi, giới, lượng HBV và việc điều trị IFN trước đó; mỗi BN nhận 100 mg LAM mỗi ngày trong khoảng thời gian trung bình một năm. Kháng thuốc với LAM trong 7 BN có kiểu phụ adw và 1 có kiểu phụ ayw trong thời gian điều trị trung vị là 12 tháng cho thấy kiểu phụ adw có nguy cơ kháng thuốc gấp 20 lần kiểu phụ ayw.

3.6.7. Lamivudin ở các BN virut huyết HBeAg(-)

Các BN VG B mạn HBeAg(-) thường có xơ gan khi vừa được chẩn đoán. Cho dù điều trị kháng virut thành công, BN vẫn còn nguy cơ UTTBG.

54 BN virut huyết HBeAg(-) (được cho là đột biến HBV tiền lõi) có ALT cao được điều trị với LAM 100 mg/ngày/24 tuần; 35 (65%) có đáp ứng hoàn toàn với HBV DNA và bình thường hóa ALT so với 6% nhóm giả dược; 9% không đáp ứng với nồng độ virut huyết thanh đo được nhưng thấp hơn; 28% đáp ứng từng phần với HBV DNA không phát hiện được nhưng ALT bình thường. Đáp ứng hoàn toàn được duy trì đến cuối nghiên cứu ở tuần 52 khi tiếp tục điều trị; 60% BN điều trị trong 1 năm với LAM có cải thiện bảng số hoại tử viêm Knodell. Đánh giá xếp hạng cho thấy xơ hóa cải thiện 11%; 27% BN có biến dị YMDD vào cuối năm điều trị thứ nhất. Sau khi ngưng LAM và BN được theo dõi trong 6 tháng, trong 35 người đáp ứng hoàn toàn, chỉ có 6 người duy trì tình trạng đáp ứng và tỷ lệ đáp ứng kéo dài là 11%.

3.7. CÁC THỬ NGHIỆM LÂM SÀNG TRONG ĐIỀU TRỊ HBV

3.7.1. VG B mạn ở người châu Á

Trong thử nghiệm mù đôi, ngẫu nhiên, trên các BN Trung Quốc nhiễm VG B mạn HBeAg(+), kéo dài một năm, tiến hành vào năm 1998 ở Hồng Kông và Đài Loan, Lai và cs đã thử nghiệm trên 3 nhóm: điều trị bằng LAM liều 25 mg, 100 mg và lô chứng (bảng 12-3). Đây là nhóm lớn nhất và khó khăn nhất trong điều trị của BN VG B mạn: đa số nhiễm virut vào lúc sinh, có khuynh hướng đáp ứng kém với liệu pháp IFN chuẩn. BN được sinh thiết gan trước và sau khi chấm dứt điều trị. Điểm cuối cơ bản (primary end point) là giảm ít nhất hai điểm trong bảng điểm hoại tử viêm Knodell. BN có mặt trong nghiên cứu cho đến lúc hoàn tất là 96%. Rất ít tác dụng phụ nghiêm trọng xảy ra. Công trình này đưa đến kết luận liều 100 mg LAM hiệu quả hơn liều 25 mg và LAM đã cải thiện tình trạng mô học gan đáng kể ở BN VG B mạn[5,9].

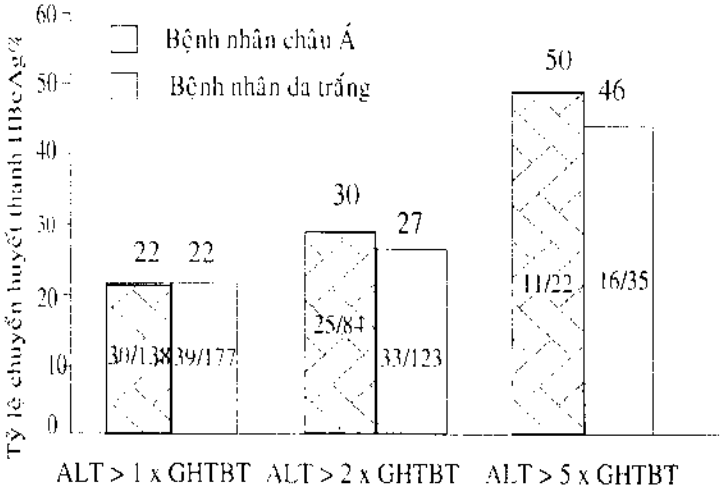
Bảng 12-3. Nghiên cứu của Lai và cs dùng LAM điều trị BN VG B mạn

Đáp ứng	Nhóm dùng giả dược	LAM 25 mg/ngày	LAM 100 mg/ngày	Giá trị p, so với nhóm giả dược
Giảm HBV DNA	54%	95%	98%	< 0,001
HBeAg và HBV DNA (-)	4% (3/70)	13% (17/135)	16% (22/140)	0,02
ALT bình thường	24% (12/50)	65% (64/98)	72% (68/95)	< 0,001
Giảm bảng điểm Knodell	30%	59%	67%	< 0,001
Mất HBsAg	0	0	0	Không có ý nghĩa

Nhưng đây là số liệu sau đợt điều trị. Hiện không có số liệu về lâu dài của đáp ứng điều trị. Tuy nhiên, các số liệu chưa công bố cho thấy ở các BN mất HBV DNA và HBeAg, đáp ứng có lợi được duy trì 97% thời gian.

Tại Việt nam, Đinh Dạ Lý Hương đã nghiên cứu trên 30 BN được điều trị bằng LAM trong 1 năm thì thấy chuyển huyết thanh cho BN có men gan ALT trước điều trị > 2 GTTBT là 36%. Tỷ lệ này cao hơn (57%) nếu BN có ALT trước điều trị > 5 lần GHTBT. Tác giả kết luận LAM nên là thuốc được chọn lựa đầu tiên và có thể dùng đơn điều trị cho BN VG B mạn có men gan tăng cao > 5 lần GTTBT.

Khác với IFN, LAM hiệu quả ở người châu Á ngang với người da trắng sau một năm điều trị trong các nghiên cứu giai đoạn III (hình 12-9).



***Hình 12-9**. Hiệu quả điều trị LAM ở người châu Á và người da trắng như nhau.*

3.7.2. VG B do HBV đột biến tiền lõi

Khi BN bị nhiễm HBV đột biến tiền lõi, đáp ứng với LAM sẽ kém và bệnh sẽ tái phát nhanh sau khi ngưng điều trị. Tuy nhiên, LAM vẫn có chỉ định trong điều trị thể đột biến này, vì dù không làm mất HBV DNA, LAM vẫn hạ thấp được nồng độ HBV DNA, bình thường hóa ALT và cải thiện được tình trạng mô học của gan.

Leung và cs đã chứng minh các đột biến tiền lõi cũng có diễn tiến lâm sàng thuận lợi khi được tiếp tục điều trị với LAM: 33% chuyển huyết thanh HBeAg (nếu ALT ban đầu > 2xGHTBT, chuyển huyết thanh HBeAg sẽ tăng lên đến 53%) và 69% có ALT bình thường.

3.7.3. Đồng nhiễm HBV và HIV

Trước đây, LAM được dùng để điều trị HIV và người ta đã thấy LAM cũng có tác dụng ức chế sao chép HBV ở những BN đồng nhiễm HBV và HIV. Từ đó, các

nghiên cứu về tác dụng của LAM bắt đầu trên các BN chỉ nhiễm HBV và hiện nay được áp dụng rộng rãi với liều lượng thấp hơn trong điều trị HIV.

LAM kết hợp với các tác nhân kháng retrovitut khác có thể hữu ích trong xử trí BN đồng nhiễm HIV và VG B mạn. LAM đã được đánh giá ở các BN nhiễm HIV và VG B mạn trong một nghiên cứu tương lai, không mù, không đối chứng.

Theo nghiên cứu của Benhamou và cs, sau 52 tuần điều trị LAM 300 hoặc 600 mg/ngày, chỉ có 15% BN có tỷ lệ sao chép HBV cao và không có BN nào (trong số BN có tỷ lệ sao chép HBV thấp trước khi điều trị) có nồng độ HBV DNA phát hiện được trong huyết thanh; 5/27 BN HBeAg(+) mất HBeAg trong quá trình điều trị. 3 BN trong số đó có anti-Hbe. Hơn nữa, 3/10 BN có tỷ lệ sao chép HBV thấp ban đầu mất HBsAg trong quá trình điều trị, 2 trong số đó chuyển huyết thanh thành anti-HBs.

Tác dụng của LAM trong cộng đồng này cũng đã được hồi cứu nhằm đánh giá hiệu quả của LAM ở BN nhiễm HIV (nghiên cứu CAESAR). Nghiên cứu này phát hiện 27/66 (41%) người nhận LAM 300 mg/ngày có HBV DNA(+) lúc đầu trở thành HBV DNA(-) so với 3/17 (18%) người nhận giả dược vào cuối nghiên cứu (thời gian điều trị trung vị là 52 tuần).

3.7.4. Ở những người được ghép cơ quan

Nguy cơ tái nhiễm cao và tỷ lệ sống sót giảm ở các BN VG mạn được ghép cơ quan đã dẫn đến một phương pháp điều trị là dùng globulin miễn dịch VG B (HBIg) như là một phương tiện ban đầu trong dự phòng miễn dịch. Tuy nhiên phương pháp này có nhiều trở ngại như giá thành cao, nhiều tác dụng dụng có hại, nguồn cung cấp giới hạn và khi dùng lâu dài có nhiều khả năng khiến HBV sinh đột biến kháng lại sự trung hòa.

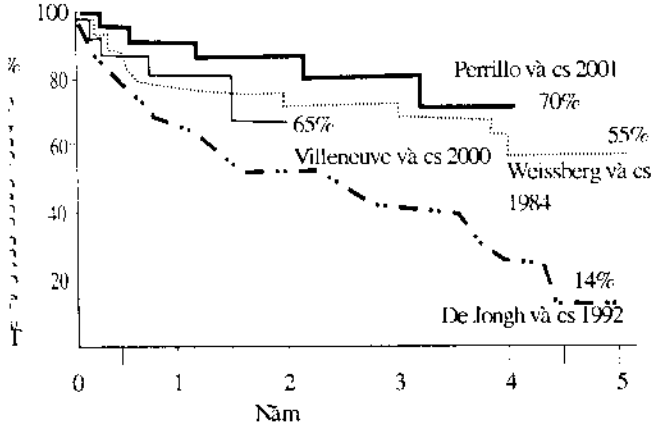
Bởi thế, LAM đã được dùng như một liệu pháp thay thế hoặc phối hợp với HBIG. Năm 1998, Jung và cs đã điều trị cho 2 BN VG B mạn bằng LAM, sau đó 2 BN này được ghép gan. 4 BN khác được điều trị VG B tái hoạt sau ghép thận. Kết quả cho thấy LAM không có tác dụng phụ trên các BN này. Sao chép bị ức chế với bằng chứng HBV DNA trở nên âm ở tất cả các BN, men gan trở về bình thường. Không cần thay đổi liều lượng của thuốc ức chế miễn dịch khi điều trị bằng LAM ở các BN này. Năm 2001, Perrillo và cs ,trong một nghiên cứu đa trung tâm, 77 ứng viên chờ ghép gan được điều trị duy nhất bằng LAM (100 mg/ngày). Điều trị được bắt đầu khi BN đang chờ ghép gan và cả sau khi ghép. Tất cả BN đều có HBsAg(+), 61% có HBeAg và HBV DNA(+) khi điều trị bắt đầu. Có 47 BN được ghép gan và 30 không ghép. Ở BN được ghép gan thời gian nghiên cứu trung vị là 38 tháng, trong khi ở BN không được ghép là 26 tháng. 25/42 (60%) BN ghép gan có 12 tuần sau ghép trở lên có HBsAg(-) vào lần khám sau cùng. Đến tuần điều trị 156, 13/22 (59%) BN còn HBsAg(-) và cả 9 BN tái nhiễm đều có HBV DNA(+) trước khi điều trị. Ở BN chưa ghép gan, lúc đầu HBeAg được phát hiện là 20/27 (74%) nhưng HBeAg giảm còn 3/17 (18%) sau 104 tuần điều trị và có cải thiện về các thông số

sinh hóa một cách ý nghĩa. Các đột biến HBV DNA polymerase xảy ra ở BN ghép gan là 15 (21%) và không ghép là 6 (20%). Khi so sánh hình ảnh mô học, BN được điều trị LAM có tỷ lệ sống sót được cải thiện và các BN được ghép gan giảm tỷ lệ nhiễm HBV tái phát. Thử nghiệm này cho thấy LAM hiệu quả trong dự phòng HBV tái phát khi được dùng trước và sau khi ghép. Việc phối hợp LAM và HBIG trong dự phòng tái nhiễm HBV mẫu ghép đang được tiến hành.

3.7.5. VG B mạn giai đoạn cuối

LAM, có hoặc không dùng chung với globulin miễn dịch VG B, đã làm giảm tỉ lệ nhiễm VG B sau ghép và giảm tình trạng ứ mật. Các nghiên cứu lâu dài cũng cần trong các BN này, nhưng các kết quả hiện nay là rất hứa hẹn. Một vài BN được điều trị LAM trong khi chờ ghép gan đã cải thiện tình trạng bệnh đến nỗi được loại ra khỏi danh sách chờ ghép (hình 12-10).

Perrillo và cs trong một nghiên cứu dự phòng cho 77 BN, trong số đó 27 BN đang chờ ghép gan được điều trị LAM với khoảng thời gian trung vị là 762 ngày. Các BN này đều có các dấu ấn nhiễm HBV và bệnh gan cải thiện sau khi bắt đầu liệu pháp LAM. Tương tự với các BN không nặng, nồng độ HBV DNA huyết thanh giảm nhanh, không phát hiện được trong 63% của 19 BN có HBV DNA(+) trước điều trị. Vào cuối nghiên cứu, ALT huyết thanh trở về bình thường trong 57% của 23 BN có ALT cao trước điều trị. Bilirubin và albumin huyết thanh cũng được cải thiện cho thấy tác dụng khá tốt của LAM trên chức năng gan. Có 6 BN chết vì suy gan trong khi nghiên cứu, 3 BN chết trong 3 tháng đầu. 21 BN sống sót đã được điều trị LAM với trung vị là 917 ngày. Phần lớn BN vẫn còn điều trị và khá tốt về mặt lâm sàng. Nhất là một trong số BN sống sót đã được cải thiện tốt đến nỗi được loại ra khỏi danh sách chờ ghép gan.



***Hình 12-10**. Điều trị LAM trong xơ gan mất bù.*

Villeneuve và Perrillo điều trị xơ gan mất bù bằng LAM cho thấy tỷ lệ BN sống sót cải thiện đáng kể (65 và 70%). Trong khi đó, tỷ lệ của De Jongh năm 1992 rất xấu (14%). Báo cáo của Weissberg năm 1984 trên BN xơ gan nhiễm HBV mạn hoạt động.

Nhìn chung, vai trò của LAM trong điều trị VG B mạn giai đoạn cuối có ích lợi như sau:

- LAM giúp cải thiện chức năng gan về mặt lâm sàng một cách ý nghĩa với các cải thiện đáng kể về sinh hóa và virut học.
- LAM làm chậm đi nhu cầu phẫu thuật và giúp cải thiện phần nào tỷ lệ sống sót.
- LAM với liều 100 mg và 150 mg được dung nạp tốt, không có tác dụng phụ đáng kể.

3.8. TIÊU CHUẨN CHỌN BN ĐỂ ĐIỀU TRỊ LAM

Những trường hợp nhiễm HBV với các dấu ấn huyết thanh trình bày ở bảng 12-4 và thuộc một trong những diện sau đây thì cần phải điều trị:

- Có bằng chứng bệnh gan (lâm sàng hoặc cận lâm sàng)
- Có nguy cơ bệnh tiến triển (virut nhân đôi)
- Có biểu hiện ngoài gan của nhiễm HBV (hội chứng thận hư, viêm mạch máu)
- Bệnh sử có nhiều đợt bùng phát nặng
- Bệnh tiến triển xa (bệnh gan mất bù hoặc xơ gan)
- Nhiễm HBV sau khi ghép gan

Bảng 12-4. Các dấu ấn huyết thanh trong VG B mạn.

Xét nghiệm huyết thanh	Ý nghĩa (HBsAg quá 6 tháng)	Bằng chứng virut nhân đôi	Lui bệnh sau chuyển huyết thanh HBeAg	Nhiễm tiền lõi đột biến
HBsAg	Nhiễm HBV mạn	+	+	+
HBeAg	Virut nhân đôi	+	-	-
HBV DNA	Virut nhân đôi	+	-	+
anti-HBc	Chấm dứt nhân đôi	-	+	+

3.9. MỤC ĐÍCH CỦA ĐIỀU TRỊ

Mục đích của điều trị VG virut mạn còn bao gồm:

- Ức chế sao chép virut, lý tưởng nhất là ức chế vĩnh viễn, qua đó sẽ cải thiện tình trạng bệnh gan, kiểm soát miễn dịch và giảm nguy cơ lây truyền.
- Cải thiện tình trạng viêm hoại tử tế bào gan, ngăn ngừa bệnh gan tiến triển với các dấu hiệu sau: bình thường hóa ALT, chuyển huyết thanh HBeAg, cải thiện các triệu chứng.

- Làm ngưng hoặc hồi biến (reversion) tình trạng xơ hóa gan: cải thiện tiên lượng lâu dài:
    - Làm ngừng tổn thương gan tiến triển
    - Ngăn ngừa UTTBG do VG B
    - Đạt được sự kiểm soát về mặt miễn dịch qua phản ứng chuyển huyết thanh HBeAg và/hoặc HBsAg. Đối với các BN có virut tiếp tục sao chép, điều trị sẽ là phương tiện kiểm soát được bệnh gan mặc dù hiện nay chỉ đạt được ở một số ít người.
    - Kéo dài cuộc sống, cải thiện chất lượng cuộc sống do làm giảm các triệu chứng, nhất là các BN có biểu hiện ngoài gan.

3.10. LIỀU DÙNG VÀ CÁCH DÙNG

- Trẻ em: các kết quả ban đầu về liều lượng LAM dạng dung dịch dùng cho trẻ em từ 2 đến 12 tuổi từ 0,7 đến 8 mg/kg/ngày làm giảm nồng độ HBV DNA xuống ≥ 99,5% sau 4 tuần. Liều lượng 3 mg/kg/ngày, gần gấp đôi liều người lớn trong điều trị VG B mạn, được xem là tối ưu cho trẻ ≤ 12 tuổi vì liều này có tác dụng kháng virut tối ưu (99,9% ức chế sao chép virut) và AUC (area under plasma concentration-time curve), C_{max} và C_{min} của LAM tương tự như ở người lớn[56].

- Người lớn: 100 mg, một lần/ngày ở các BN VG B mạn có bằng chứng sao chép, VG hoạt động và bệnh gan mất bù. Ở BN đồng nhiễm HIV và HBV liều phải cao hơn 150 mg x 2 lần/ngày cùng với các thuốc kháng retrovirut khác.

Dùng đơn trị LAM với liều được khuyến cáo trong điều trị VG B mạn ở các BN không biết có nhiễm HIV hay không sẽ làm xuất hiện các chủng HIV kháng LAM và làm hạn chế việc chọn lựa điều trị HIV. Bởi thế, các nhà bào chế khuyến cáo rằng cần tư vấn và xét nghiệm HIV cho tất cả BN trước khi bắt đầu và định kỳ trong khi điều trị nhiễm HBV mạn với LAM. Sự loại trừ LAM thay đổi ở BN suy thận cần phải điều chỉnh liều lượng. Đối với BN đang được thẩm phân phúc mạc, không cần điều chỉnh.

Sự an toàn và hiệu quả của LAM chưa được xác định ở các BN bệnh gan mất bù, ở trẻ em và phụ nữ mang thai.

3.11. NHỮNG YẾU TỐ CẦN NHẮC TRONG VIỆC CHỌN LỰA THUỐC ĐIỀU TRỊ

3.11.1. Tính thuận tiện

LAM dùng qua đường uống với 1 viên 100 mg/ngày, trong khi IFN phải cần ít nhất là 3 lần/tuần trong suốt thời gian điều trị.

3.11.2 Đặc điểm của BN

Giới tính: Đáp ứng của nam và nữ đối với LAM tương đương nhau, trong khi IFN thường hiệu quả hơn ở giới nữ.

Tuổi mắc bệnh: Nhiễm virut ở tuổi trưởng thành (lây nhiễm chiều ngang) hoặc lây nhiễm chu sinh (chiều dọc) đều đáp ứng tốt đối với LAM; trong IFN có kết quả tốt hơn ở BN nhiễm virut ở tuổi trưởng thành, nhiễm virut ở lứa tuổi này thường có ALT tăng cao.

Chủng tộc: LAM có đáp ứng như nhau trên mọi chủng tộc, trong khi người châu Á thường đáp ứng điều trị với IFN kém hơn người phương tây.

Đồng nhiễm với HIV: IFN chống chỉ định trên BN suy giảm miễn dịch, trong khi LAM với liều cao (150 mg x 2 lần/ngày) được chỉ định ở BN đồng nhiễm HIV và HBV.

Tình trạng HBeAg ban đầu: cả hai tình trạng HBeAg ban đầu dương hoặc âm (đột biến tiền lõi) đều đáp ứng với LAM, trong khi IFN có đáp ứng tốt hơn ở BN có HBeAg(+).

Nồng độ ALT ban đầu: ở những BN có ALT ban đầu cao thì điều trị bằng LAM và IFN đều cho tỉ lệ chuyển huyết thanh cao hơn ở những người có ALT ban đầu bình thường. Tuy nhiên, LAM cải thiện mô học gan không phụ thuộc vào ALT ban đầu.

Tình trạng bệnh gan: đối với BN xơ gan do VG B còn bù, LAM tỏ ra có hiệu qua. Hiệu quả này cũng xảy ra ở BN xơ gan mất bù đang chờ ghép gan.

3.11.3. Tác dụng phụ

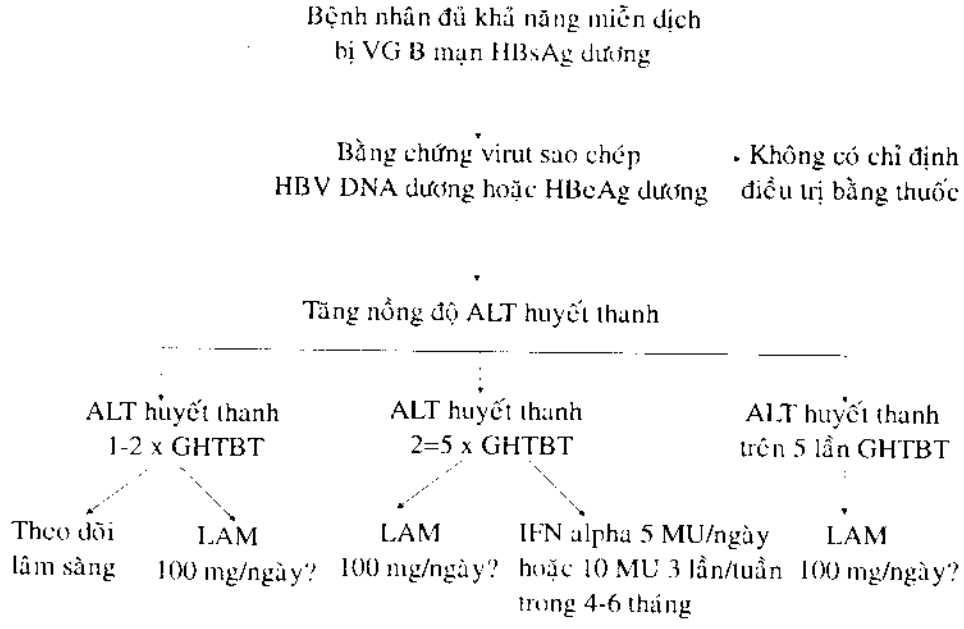
LAM có tác dụng phụ tương đương với giả dược, khác với IFN (thường có các triệu chứng giả cúm và nhiều tác dụng không mong muốn khác). Thuốc được dung nạp tốt, không thấy có tác dụng phụ nghiêm trọng. Không có BN nào có chức năng gan xấu đi nghiêm trọng. Các BN được điều trị phối hợp LAM và IFN-α có các tác dụng phụ của chính IFN-α. Tuy nhiên, 14% BN phát triển biến dị ở gen polymerase, làm cho virut tuy giảm độc tính, nhưng đề kháng đối với LAM gấp 1.000 lần. Liệu tỉ lệ đột biến sẽ thay đổi khi điều trị kéo dài hơn hoặc liệu các đột biến này sẽ dẫn đến các vấn đề lâm sàng quan trọng, là các vấn đề hiện vẫn còn tiếp tục nghiên cứu. Nhưng cho đến nay nhiều tác giả đã cho thấy đột biến chỉ làm giảm hiệu quả của LAM so với BN mang chủng nguyên sinh và LAM vẫn được xem là hiệu quả trong các BN có đột biến này.

3.11.4. Chống chỉ định điều trị:

Chống chỉ định của IFN bao gồm: xơ gan hoặc bệnh gan mất bù, mẫn cảm với thuốc, có bệnh tim nặng, suy thận hoặc suy gan nặng, động kinh, điều trị thuốc ức chế miễn dịch gần đây (ngoại trừ corticoit ngắn hạn), bệnh sử có bệnh tự miễn.

Trái lại, chống chỉ định của LAM chỉ ở các BN mẫn cảm với chế phẩm.

3.11.5. Chi phí điều trị



***Hình 12-11**. Sơ đồ xử trí BN VG B mạn có khả năng miễn dịch theo Hội nghị châu Á*

Chi phí điều trị trực tiếp và chi phí chăm sóc lâu dài cần được cân nhắc.

3.12. CHỈ ĐỊNH ĐIỀU TRỊ

Hiện nay, IFN và LAM là hai thuốc duy nhất được cấp phép trên thế giới. Nhiều thông tin cho thấy các BN có ALT bình thường sẽ đáp ứng kém với cả IFN và LAM. Bởi thế, các trường hợp này không được khuyến cáo dùng thuốc. Ngược lại, các BN có HBV sao chép (HBeAg và/hoặc HBV DNA dương) với ALT tăng lên là các ứng viên trong điều trị. Sinh thiết được khuyến cáo trước khi điều trị nhằm xác định giai đoạn xơ hóa và mức độ của hiện tượng viêm-hoại tử như là một hướng dẫn trong chỉ định điều trị kháng virut.

Tuyên bố đồng thuận về dự phòng và điều trị VG B và C vùng châu Á-Thái Bình Dương khuyến cáo như sau: BN có HBeAg(+) hoặc HBV DNA(+):

- ALT bình thường, không cần điều trị
- ALT 1-2 x GHTBT: Khi BN HBeAg(+) và HBeAg(-)/HBV DNA(+) (đột biến tiền lõi), hiện chưa có khuyến cáo chung về điều trị. IFN không hiệu quả trong trường hợp này. Lựa chọn trong trường hợp này là tiếp tục giám sát lâm sàng với sinh thiết nhiều lần nhằm đánh giá tiến triển của tình trạng xơ hóa, hoặc dùng liệu pháp LAM kéo dài với nguy cơ cao xuất hiện đột biến YMDD. Quyết định điều trị

nên tùy thuộc vào từng BN dựa vào mức độ bệnh, bệnh sử bùng phát, chức năng tổng hợp của gan và sự lựa chọn BN.

- ALT tăng 2 lần GHTBT, cần được xem xét bắt đầu điều trị nếu ALT vẫn còn cao sau hai lần xét nghiệm (ít nhất cách nhau một tháng)

- ALT tăng 2-5 lần GHTBT, có thể điều trị bằng IFN hoặc LAM. Để quyết định chọn lựa giữa LAM và IFN, BN và thày thuốc cần cân nhắc về thời gian điều trị, giá thành điều trị và các tác dụng phụ của mỗi loại thuốc.

- ALT tăng trên 5 lần GHTBT, HBV DNA(+) (HBeAg có thể âm hoặc dương): LAM được khuyến cáo sử dụng vì hiệu quả (khoảng 65%) và tác dụng nhanh, trong khi IFN có nhiều khả năng thúc đẩy hiện tượng mất bù gan.

BN có ALT gia tăng (từ bình thường đến nồng độ tăng tối thiểu) hoặc ALT > 5 x GHTBT có thể bùng phát, VG nặng hoặc mất bù gan sau đó. Bởi thế, các BN này cần được giám sát chặt chẽ để được điều trị đúng lúc nhằm ngăn ngừa mất bù gan. Hiện tượng bùng phát như thế cũng có thể xảy ra trước khi chuyển huyết thanh HBeAg tự nhiên và sau đó hồi phục. Vì thế, việc điều trị nên muộn hơn sau một thời khoảng quan sát 3 tháng nếu không có mất bù gan.

Chọn BN theo sơ đồ để điều trị bằng LAM:

- Nhiễm HBV mạn có bằng chứng HBV nhân đôi (HBeAg và/hoặc HBV DNA(+)) và có bệnh gan (ALT tăng và/hoặc tổn thương mô học), được biểu hiện ở sơ đồ 1.

- Nếu HBeAg(-) mà có bệnh gan, cần tìm khả năng nhiễm HBV thể đột biến tiền lõi và vẫn có thể dùng LAM, theo sơ đồ 2.

- Nếu HBeAg(-), ALT tăng mà anti-HBe và/hoặc HBV DNA(-), cần xem xét khả năng có bệnh gan khác và chưa cần điều trị LAM.

Sơ đồ 1

CHỌN LỌC BỆNH NHÂN ĐỂ ĐIỀU TRỊ LAMIVUDINE

Bệnh nhân có bị viêm gan B mạn tính không ?

Xét nghiệm HBsAg huyết thanh

HBsAg dương tính 2 lần trong 6 tháng,
(ở châu Á, thường xét nghiệm một lần cũng đủ)

HBsAg âm tính

Không có VG B mạn

Có bằng chứng sao chép virút?
Xét nghiệm HBeAg huyết thanh âm tính
và/hoặc HBV DNA âm tính

Không điều trị Lamivudine

HBeAg (+)

HBeAg (-)

Có bằng chứng tổn thương gan?
Đo nồng độ ALT, AST/huyết thanh
hoặc sinh thiết gan

Xem sơ đồ 2

Nghi ngờ có đột biến precore

ALT tăng 2 lần
trên mức bình thường

ALT tăng ít
hoặc bình thường

Điều trị lamivudine

Ích lợi của lamivudine không rõ ràng

3. 1 3. THEO DÕI BN TRONG KHI ĐIỀU TRỊ

Các xét nghiệm cần theo dõi trong 6 tháng đầu điều trị là ALT (mỗi 1-3 tháng), HBeAg (mỗi 3-6 tháng)

- Nếu ALT bình thường nhưng HBeAg (+) vẫn phải tiếp tục điều trị.
- Tuy nhiên, theo dõi HBeAg sẽ không có ích khi bị đột biến tiền lõi. Trường hợp này cần dựa vào ALT và HBV DNA.

SƠ ĐỒ 2

CHỌN LỰA BỆNH NHÂN HBsAg (+) VÀ HBeAg (-) CHO ĐIỀU TRỊ LAMIVUDINE

(Bệnh nhân nghi ngờ mang đột biến tiền lõi)

HBsAg(+) và HBeAg(-)

Men gan cao

▼

Có đột biến tiền lõi không?

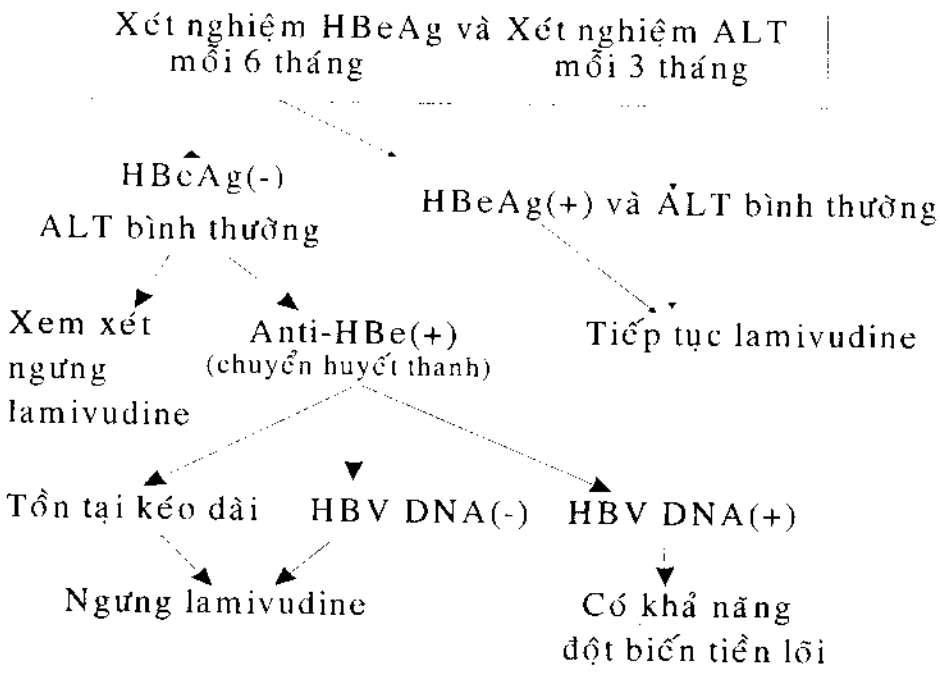
Xét nghiệm anti-HBe và HBV DNA huyết thanh

▼ Anti-HBe(+) và HBV DNA (+)	▼ Anti-HBe(-) và HBV DNA (-)
(thử nghiệm lai ghép trong môi trường lỏng)	
▼ Khả năng nhiễm virut đột biến tiền lõi	▼ Đánh giá thêm Có thể là:
▼ Điều trị lamivudine	- Đang chuyển huyết thanh - Giai đoạn đầu của nhiễm HBV cấp - HBsAg(+) giả - Những nguyên nhân khác: viêm gan virut các loại khác, nghiện rượu, viêm gan tự miễn, bệnh gan ứ mật, độc tính gan của thuốc và hoá chất, rối loạn miễn dịch di truyền, sung huyết gan do suy tim

3.14. QUẢN LÝ BN ĐIỀU TRỊ BẰNG LAM

3.14.1. Quản lý BN HBeAg(+)

Sơ đồ 3
THEO DÕI BỆNH NHÂN
TRONG THỜI GIAN ĐIỀU TRỊ LAMIVUDINE



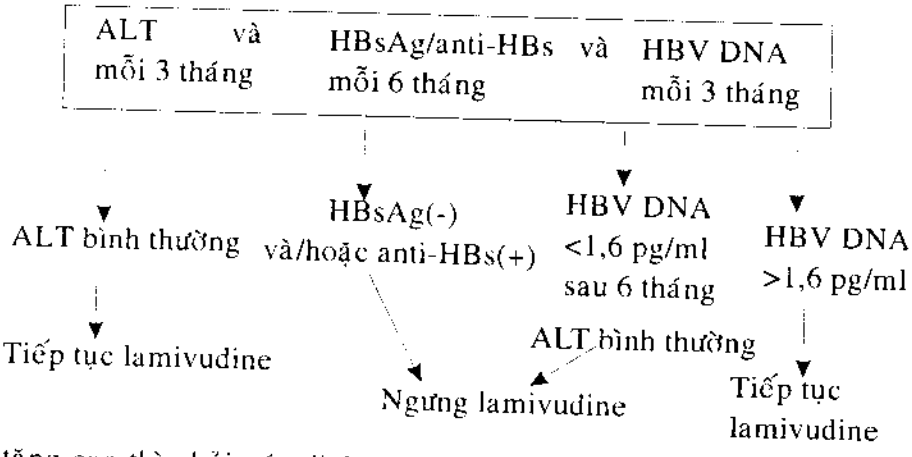
Kiểm tra ALT mỗi hàng tháng trong vòng 3 tháng đầu và sau đó một lần mỗi 3 tháng, có thể giúp BN tuân thủ điều trị. Kiểm tra đáp ứng huyết thanh (HBeAg) mỗi 3-6 tháng sau 6 tháng đầu điều trị. Khi men ALT đã trở về bình thường mà HBeAg vẫn còn dương thì vẫn phải tiếp tục điều trị LAM theo sơ đồ 3.

3.14.2. Quản lý BN HBeAg(-), có đột biến tiền lõi

Đối với các BN có đột biến tiền lõi, HBeAg không thể dùng để theo dõi kết quả điều trị. Tuy nhiên, có thể sử dụng các xét nghiệm khác để theo dõi như ALT, HBV DNA, (Sơ đồ 4).

3.14.3. Xử trí các BN có ALT tăng trong thời gian điều trị bằng LAM

Sơ đồ 4. THEO DÕI BỆNH NHÂN
TRONG THỜI GIAN ĐIỀU TRỊ LAMIVUDINE



Nếu ALT tăng cao thì phải xác định xem BN có uống LAM theo đúng chỉ dẫn của thầy thuốc hay không (1 viên 100 mg/1 lần/1 ngày).

Nếu BN đã tuân thủ tốt điều trị, cần xem xét đến thời gian điều trị.

Nếu ALT tăng lên trước 6 tháng phải tìm các nguyên nhân khác, như uống rượu, đồng nhiễm virut VG A, VG D, VG nhiễm mỡ không do rượu (NASH, non-alcoholic steatohepatitis)...

Nếu BN điều trị LAM trên 6 tháng:

Men gan ALT tăng đáng kể nhưng không kéo dài, có thể do phản ứng chuyển huyết thanh HBeAg sắp xảy ra.

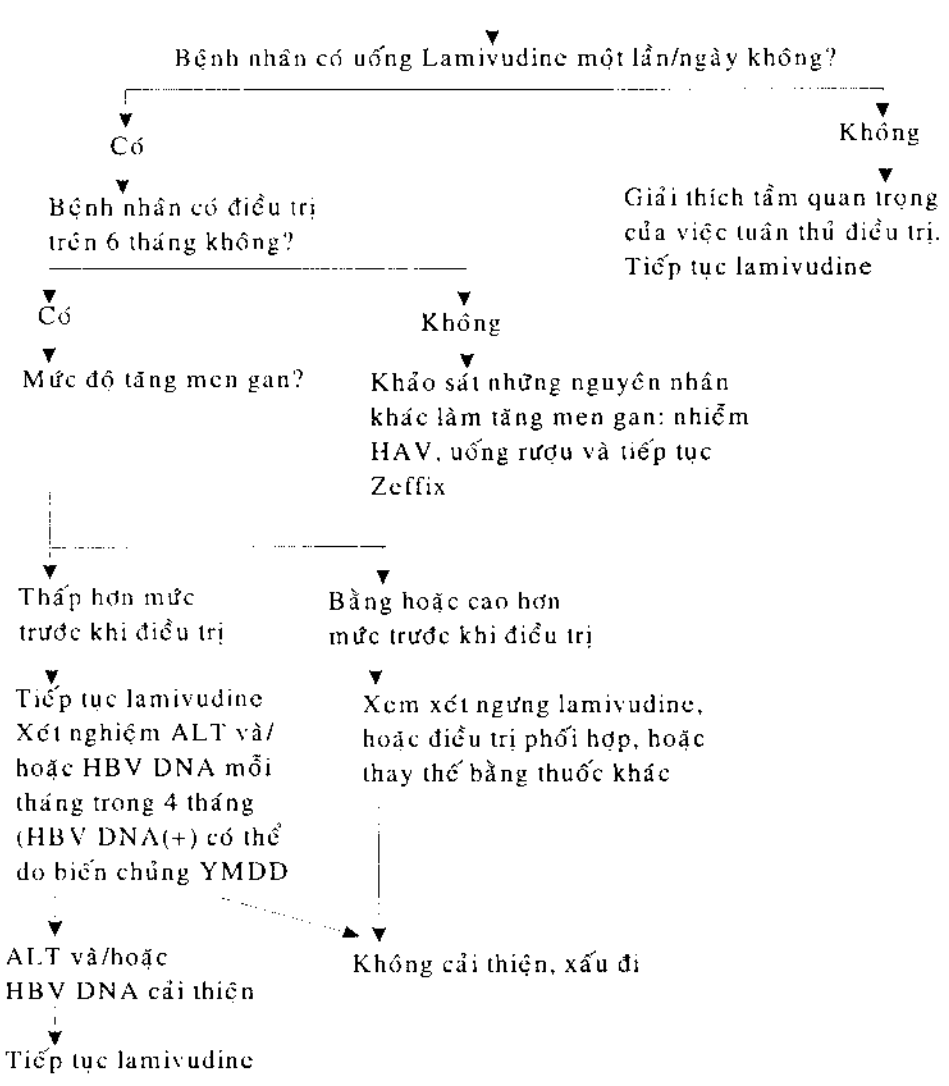
ALT tăng không đáng kể, nhưng kéo dài, có thể do xuất hiện đột biến YMDD của HBV. Trên lâm sàng có thể hướng tới đột biến khi ALT tăng trên 1,3 lần so với giá trị trên của mức độ bình thường, đồng thời phát hiện có HBV DNA huyết thanh (bằng thử nghiệm lai ghép trong môi trường lỏng-solution hybridisation assay). Tuy nhiên, những nguyên nhân khác làm tăng men gan cũng cần được loại trừ:

- Nếu ALT tăng kéo dài đến bằng hoặc cao hơn trước khi điều trị, có nghĩa là không đạt được kiểm soát lâm sàng. Cần xem xét đến việc ngưng LAM, hoặc thêm một thuốc thứ 2 như IFN, hoặc chuyển sang thuốc khác

- Nếu ALT tăng, nhưng dưới mức trước khi điều trị, nên tiếp tục điều trị LAM để ngăn ngừa sự xuất hiện lại của chủng virut nguyên sinh. Vài BN khi xuất hiện đột biến YMDD thì kèm theo tăng ALT (và xuất hiện lại HBV DNA trong huyết thanh), nhưng sau đó ALT dần dần trở về bình thường trong 4-6 tháng sau khi tiếp tục điều

trị LAM. Các số liệu theo dõi lâu ngày đã cho thấy các BN vẫn đạt được phản ứng chuyển huyết thanh HBeAg và/hoặc cải thiện mô học gan khi tiếp tục điều trị LAM dù có xuất hiện đột biến YMDD. Tuy nhiên, thày thuốc vẫn có thể chọn việc ngưng điều trị LAM khi xuất hiện đột biến YMDD dù hiện chưa có các số liệu về hậu quả lâu dài của việc ngưng hoạt động (Sơ đồ 5).

Sơ đồ 5. XỬ TRÍ TRONG TRƯỜNG HỢP MEN GAN TĂNG TRONG THỜI GIAN ĐIỀU TRỊ LAMIVUDINE



3.15. THỜI GIAN ĐIỀU TRỊ

Chuyển huyết thanh HBeAg đạt được trong khi điều trị LAM thường bền vững (khóa miễn dịch). Bởi thế, khi có chuyển huyết thanh, đặc biệt khi không thực hiện

được xét nghiệm HBV DNA, thì ngưng điều trị. Khi HBeAg mất trong huyết thanh mà chưa xuất hiện kháng thể anti-HBe cũng có thể xem xét ngưng điều trị. Những lý do khác để ngưng LAM gồm việc xuất hiện các phản ứng phụ, BN muốn có thai, không đáp ứng lâm sàng).

Thời gian điều trị càng kéo dài, càng kiểm soát được bệnh, Leung và cs đã báo cáo giá trị ALT trung bình giảm xuống trong giới hạn bình thường sau 12 tuần điều trị và kéo dài như thế cho đến 4 năm sau, ALT bình thường chung là 70% (đột biến YMDD là 69%, không đột biến 73%). Đối với BN có ALT >2 x GHTBT có tỷ lệ chuyển huyết thanh HBeAg chung là 73% (53% có đột biến YMDD và 100% không có đột biến sau 4 năm điều trị.

Trong báo cáo của Leung và cs, BN được điều trị với giả dược trên một năm có nguy cơ biến chứng nặng (chết, đe dọa tính mạng...) gấp 2 lần và các nguy cơ có hại liên quan đến bệnh gan (NCCHLQĐBG) cao gấp 3 lần so với BN được điều trị với LAM. Tỷ lệ NCCHLQĐBG không tăng lên trong những năm điều trị LAM sau. Xuất hiện đột biến YMDD khi điều trị lâu dài với LAM không làm cho tỷ lệ mắc NCCHLQĐBG tăng lên (bảng 12-5).

Bảng 12-5. Tính an toàn lâu dài của LAM 100 mg/ngày trong 4 năm ở người VG B mạn.

Năm điều trị	Số BN	BN NCBCN		BN NC CHLQĐBG		BN NCBCN do bệnh gan và YMDD		Tần suất YMDD %
		N	%	N	%	N	%	
Năm 1, giả dược	200	17	8,5	4	2,0	-	-	-
LAM năm 1	999	42	4,2	7	0,7	1	0,1	24
LAM năm 2	741	24	3,2	15	2,0	8	1,1	42
LAM năm 3	630	26	4,1	12	1,9	8	1,3	53
LAM năm 4	208	8	3,8	3	1,4	2	1,0	67

Đối với BN VG B vùng châu Á-Thái Bình Dương, ngưng điều trị LAM được khuyến cáo như sau:

- Do đột biến YMDD có thể xuất hiện khi điều trị LAM kéo dài, nên ngừng LAM khi BN đã chuyển huyết thanh HBeAg và mất HBV DNA (xét nghiệm bằng phương pháp không phải PCR) trong 2 lần xét nghiệm liên tiếp cách nhau ít nhất một tháng (có thể từ 3-6 tháng).
- HBeAg(+), ALT bình thường và HBV DNA(-): tiếp tục dùng thuốc, thời gian chưa xác định.
- BN có bệnh sử bùng phát, tiếp tục dùng LAM, thời gian chưa xác định.
- Nghi nhiễm HBV đột biến YMDD: tiếp tục dùng thuốc với thời gian chưa xác định và theo dõi đều đặn ALT, hoặc ngưng điều trị không quá 3 tháng để HBV

về thể nguyên sinh, hoặc dùng thêm thuốc khác. Điều trị LAM trong trường hợp này còn đang tiếp tục nghiên cứu.

3.16. THEO DÕI SAU KHI NGƯNG ĐIỀU TRỊ LAM

Bùng phát cấp sau khi ngưng điều trị LAM xảy ra trong khoảng 16% BN (bảng 12-6). Honkoop và cs gọi đây là "VG do cai LAM", thường xảy ra sau 4 tháng đầu, đi kèm với vàng da và bắt đầu suy gan. Một đặc trưng đáng chú ý của VG do cai LAM là nồng độ HBV DNA cao vào lúc ALT lên đến đỉnh. Honkoop cho rằng để giảm thiểu nguy cơ suy gan và tăng cường thải loại HBV sau bùng phát, LAM nên dùng trở lại ở BN có vàng da và thuyên giảm lâm sàng và sinh hóa kèm với việc mất HBV DNA và chuyển huyết thanh HBeAg xảy ra. Ở BN VG do cai LAM không vàng da và không được tái điều trị với LAM, đáp ứng virut học thường không có.

Bảng 12-6. Tỷ lệ mắc VG do cai LAM

Nghiên cứu	N	Thời gian điều trị	Bùng phát ALT[a] N (Tỷ lệ %)	Bilirubin tăng (Tỷ lệ %)[b]
Dienstag và cs	32[c]	Đơn điều trị 12 tuần	5 (16)	3
Nevens và cs	51	Đơn điều trị 24 tuần	8 (16)	4
Schalm và cs	78[c]	Đơn điều trị 52 tuần	10 (13)	3
	74	Điều trị phối hợp 24 tuần	5 (7)	0
Dienstag và cs	70[c]	Đơn điều trị 52 tuần	12 (18)	2
GW giai đoạn III	215	Đơn điều trị 52 tuần	41 (19)	1
	133	Điều trị phối hợp 24 tuần	22 (17)	0
	66	Giả dược	5 (8)	1

[a] Tăng ALT trên 10 lần giới hạn trên bình thường và gấp 3 lần mức độ ban đầu

[b] Bilirubin tăng trên 2 lần giới hạn trên bình thường

[c] Theo dõi trong 3 đến 4 tháng (các nghiên cứu khác 6 tháng)

3.17. ĐÁP ỨNG VỚI LIỆU PHÁP KHÁNG VIRUT VG B

Theo định nghĩa của NIH Mỹ, đáp ứng đối với liệu pháp VG B như sau:

- Về mặt sinh hóa: bình thường hóa ALT
- Về mặt virut học:

  Giảm HBV DNA xuống còn < 105 bản sao/ml và 100 lần

  Mất HBcAg
- Về mặt mô học: giảm điểm số hoạt tính mô học (HAI) > 2 và điểm số chung dưới 7 điểm
- Đáp ứng hoàn toàn: đáp ứng sinh hóa và virut học cùng với tình trạng mất HBsAg.

3.18. LIỆU PHÁP KẾT HỢP

Sự kết hợp LAM với các tác nhân kháng virut khác hoặc với các chất điều biến miễn dịch có thể là chiến lược hợp lý nhằm tạo ra một đáp ứng điều trị tốt hơn. Điều này được thực hiện bằng 2 công trình nghiên cứu quốc tế đối chứng chủ động đang vào giai đoạn 3.

3.18.1. LAM và IFN-alfa 2b

Một chế độ điều trị LAM 8 tuần sau đó 16 tuần LAM và IFN-alfa 2b 10 mol/LU 3 lần/tuần (LAM+IFN) so với đơn điều trị LAM, IFN hoặc giả dược. Điều quan trọng là nêu rõ thời khoảng khác nhau của liệu pháp trong mỗi nhánh điều trị. Đánh giá vào tuần thứ 52 được thực hiện trong khi BN còn được điều trị với LAM, vào tuần 28 sau điều trị với IFN và LAM+IFN. Nghiên cứu đầu tiên chọn lọc các BN chưa từng điều trị với ALT trung vị là 2,4 x GHTBT. Tỷ lệ chuyển huyết thanh HBeAg là 29% (LAM+IFN), 18% (LAM) và 19% (IFN) vào tuần 52, tỷ lệ chuyển huyết thanh HBcAg cao hơn liệu pháp kết hợp nhưng không có ý nghĩa thống kê. Mô học có cải thiện (giảm 2 điểm trong bảng điểm HAI) vào tuần 52 trong 28% (LAM+IFN), 38% (LAM) và 36% (IFN). Vào tuần 64, tỷ lệ chuyển huyết thanh HBcAg là 25% (LAM+IFN), 20% (LAM) và 22% (IFN).

Một nghiên cứu thứ nhì ở những người không đáp ứng với IFN và chỉ 12% có chuyển huyết thanh HBeAg. Dùng 2 chế độ khác nhau LAM và IFN kết hợp, một nghiên cứu giai đoạn II đánh giá 20 BN trước đây đã thất bại ít nhất một liệu trình IFN-alpha. Một chế độ bắt đầu với 4 tuần đơn điều trị IFN, sau đó là 12 tuần phối hợp (A) trong khi một chế độ khác có 16 tuần liệu pháp kết hợp (B). Dược động lực của IFN và LAM không thay đổi khi kết hợp. HBV DNA đạt đến mức độ không phát hiện được trong lúc điều trị ở cả 2 chế độ. 4 BN trong chế độ B có chuyển huyết thanh HBeAg trong quá trình điều trị, nhưng chỉ có 1 BN còn duy trì sau điều trị.

Schalm và cs cho rằng liệu pháp kết hợp điều trị HBV chỉ giúp tỷ lệ đáp ứng tăng nhẹ so với đơn điều trị IFN hoặc LAM.

3.18.2. LAM và corticoit

Thử nghiệm lâm sàng ở BN châu Á đã cho thấy tỷ lệ chuyển huyết thanh HBeAg sau một năm chỉ độ 16% nhưng lại đến 64% ở nhóm BN có nồng độ ALT cao hơn giới hạn trên bình thường (GHTBT) 5 lần. Để nghiên cứu liệu phản ứng dội ALT sau khi mẫn cảm ban đầu bằng corticoit có làm tăng đáp ứng với liệu pháp LAM, một nghiên cứu thăm dò được thực hiện ở 30 BN có nồng độ ALT ít hơn 5 lần GHTBT (bảng 12-7). Các BN này nhận 30 mg prednisolone mỗi ngày trong 3 tuần, 15 mg ngày trong 1 tuần và sau đó dùng LAM 150 mg/ngày/9 tháng. Phản ứng dội lâm sàng với ALT trên 5 lần GHTBT gặp trong 20 BN (67%), trong số này 12 BN

(60%) có đáp ứng hoàn toàn (ALT trở về bình thường, thải trừ HBV DNA huyết thanh và chuyển huyết thanh HBeAg), so với 1/10 BN (10%)không có phản ứng dội ALT (p=0,002). Chuyển huyết thanh HBeAg kéo dài trong 70% BN từ 3 đến 6 tháng sau khi chấm dứt điều trị LAM. Xét nhiệm miễn dịch học cho thấy những người đáp ứng có đáp ứng trội Th1 và chỉ số kích thích cao hơn khi mẫn cảm với prednisolone. Do các cytokin Th1 có thể tăng cường các đáp ứng TBTGĐTB (CTL), được hiểu là hoạt hóa các đáp ứng trội Th1 có thể gây ra các đáp ứng TBTGĐTB đặc hiệu HBV đủ để thải trừ virut. Các kết quả này chứng minh rằng mẫn cảm ban đầu corticoit gây phản ứng dội ALT/miễn dịch tăng cường mạnh mẽ đáp ứng đối với liệu pháp LAM ở người VG B mạn[23].

Bảng 12-7. Hiệu quả của mẫn cảm ban đầu prednisolone trước khi dùng liệu pháp LAM ở người VG B mạn.

Phản ứng dội ALT, ALT trên 5 lần GHTBT	n	ALT đỉnh sau khi mẫn cảm ban đầu	Đáp ứng hoàn toàn	
			N	Tỷ lệ %
Có phản ứng	20	187-1261 (336)	12	60
Không phản ứng	10	40-173 (89)	1	10
Cộng chung	30	40-1261 (269)	13	43
p		0,005	0,002	

Thử nghiệm trên gợi nhớ công trình của Sculard và cs về việc mẫn cảm prednisolome ban đầu trước khi dùng IFN. Sau đó, nhiều thử nghiệm khác đã xác định bùng phát ALT cao gấp đôi hoặc tăng cao hơn nồng độ ban đầu ở 60% người có đáp ứng và 25% người không đáp ứng với LAM. Dù kết quả có vẻ khích lệ, một số tác giả cũng cho rằng hiệu quả của liệu pháp cai corticoid vẫn khó tiên lượng và có thể gây bùng phát VG ở BN có bệnh gan tiến triển.

Trên bộ gen của HBV có chứa một thành phần đáp ứng glucocorticoit có trách nhiệm làm tăng HBV DNA huyết thanh và tăng cường sản xuất các phiên mã virut gồm các kháng nguyên nucleocapsit khi phơi nhiễm với corticoit. Người ta biết rằng các kháng nguyên nucleocapsit (peptit lõi) nằm ở trên bề mặt của tế bào gan nhiễm virut là nơi chúng gắn kết các phân tử kháng nguyên bạch cầu người lớp I (HLA lớp I) và được dùng như một mục tiêu cho các TBTGĐTB. Các tế bào T giúp đỡ được xếp loại Th1 và Th2 do kiểu bài tiết cytokine và có chức năng như các chất trung gian của miễn dịch tế bào và thể dịch. Tính trội của các tế bào lympho Th1 hơn Th2 và các cytokine tương ứng của chúng sẽ thúc đẩy mở rộng số lượng các TBTGĐTB hiện có nhằm phá hủy các tế bào gan biểu hiện peptit lõi. Corticoit tác dụng lên hệ miễn dịch như thế nào hiện còn hiểu biết hạn chế, nhưng khi khi cai corticoit sẽ cho thấy có sự kích thích chức năng tế bào T trong VG B mạn. Corticoit được giả định làm tăng nồng độ các peptit lõi sinh miễn dịch trên bề mặt của các tế bào gan, sinh

ra một cò súng sinh miễn dịch (immunogenic trigger) một khi điều trị với các tác nhân này bị ngưng và các đáp ứng tế bào T được khôi phục. Giới hạn sao chép khác trong thời kỳ nhận biết miễn dịch này bởi tác nhân kháng virut như IFN và LAM có thể thúc đẩy cải thiện một cơ may đáp ứng virut học (mất HBeAg và HBV DNA) bằng cách ức chế virut sao chép tồn dư. Một thất bại đối với việc dùng kháng virut tại thời khoảng này, về mặt khác, có thể làm cho sao chép virut tiếp tục nếu một đáp ứng miễn dịch phát triển đối với việc cai corticoit không xảy ra.

3.18.3. Phối hợp các chất tương tự nucleosit: LAM và famciclovir

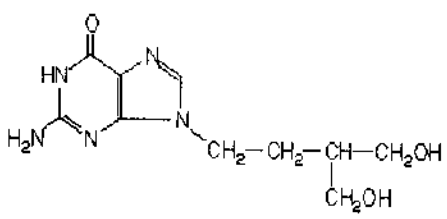
Lau và cs đã điều trị 2 nhóm bệnh VG B mạn HBeAg(+), nhóm 1 dùng LAM (150 mg/ngày, uống), nhóm 2 dùng phối hợp 2 chất tương tự nucleosit là LAM (150 mg/ngày, uống) và famciclovir (500 mg 3 lần/ngày, uống) trong 12 tuần với thời gian theo dõi ít nhất 16 tuần. Hiệu quả kháng virut trung bình cao hơn ở nhóm 2 hơn nhóm 1 (0,988±0,012 so với 0,94±0,03, p =0.0012). HBV DNA trở về nồng độ trước điều trị trong 16 tuần sau khi chấm dứt điều trị ở 4 BN nhóm 1 (66,7%) và không BN nào ở nhóm 2 (p=0,08), là những người còn HBeAg(+) và không điều trị gì thêm sau tuần 12. Do đó, ở BN Trung Quốc VG B mạn HBeAg(+), liệu pháp phối hợp LAM và famciclovir có hiệu quả hơn đơn điều trị LAM trong ức chế sao chép HBV. Tuy nhiên, cần nghiên cứu sâu hơn để xác định liệu pháp phối hợp có làm tăng chuyển huyết thanh HBeAg và làm giảm tỷ lệ đột biến đề kháng LAM hay không.

Phối hợp giữa LAM và adefovir dipivoxil cũng cho thấy hiệu quả ở BN kháng thuốc với LAM. Ngoài ra, liệu pháp phối hợp cũng cho thấy ức chế tổng hợp HBV cccDNA, là thể bình thường đề kháng với LAM. Sự tồn tại cccDNA bên trong tế bào với đa số các chất tương tự nucleosit khác được tin là nguyên nhân của phản ứng dội HBV DNA sau khi ngưng điều trị. Giảm cccDNA cũng có nghĩa là giảm phản ứng này.

4. CÁC CHẤT TƯƠNG TỰ NUCLEOSIT KHÁC

4.1. FAMCICLOVIR VÀ PENCICLOVIR

Famciclovir (SmithKline Beecham, Philadelphia, PA) là tiền chất của penciclovir (PCV), thiếu hoạt tính kháng virut. Penciclovir cũng giống như ganciclovir, là một chất tương tự nucleosit giống guanine, có hoạt tính kháng virut tương tự như acyclovir nhưng sinh khả dụng cao hơn. Famciclovir là một tác nhân đường uống được chứng minh an toàn trên hàng ngàn BN dùng nó khi nhiễm herpes simplex.



PENCICLOVIR

Penciclovir là một chất ức chế sự tổng hợp của DNA virut. Trong các tế bào nhiễm virut HSV hoặc VZV, penciclovir lúc đầu được phosphoryl hóa bởi thymidin kinase virut. Penciclovir triphosphat tác dụng như một chất ức chế cạnh tranh của DNA polymease, làm giảm cccDNA trong nhân tế bào gan. Tuy nhiên, penciclovir triphosphat có tác dụng ức chế DNA polymerase virut 100 lần kém hơn acyclovir triphosphat, penciclovir hiện diện trong các tế bào nhiễm virut với nồng độ cao và kéo dài hơn acyclovir triphosphat. Thời gian bán hủy (T 1/2) kéo dài của penciclovir triphosphat từ 7 đến 20 giờ, liên quan đến tác dụng kháng virut kéo dài. Vì penciclovir có một nhóm 3'-hydroxyl, penciclovir không phải là một chất kết thúc chuỗi bắt buộc, nhưng nó ức chế sự kéo dài DNA.

Famciclovir và và dạng hoạt động penciclovir của nó cũng ức chế sao chép virut bằng cách ức chế polymerase phụ thuộc HBV DNA. Vì famciclovir và LAM tương tác với các vùng khác nhau của HBV polymerase. Nên nhiều tác giả cho rằng có thể dùng phối hợp cả hai thuốc nhằm ức chế sao chép virut mạnh mẽ mà sự ức chế này ít chịu ảnh hưởng bởi các đột biến kháng thuốc. Famciclovir kết hợp với IFN trong điều trị VG B còn đang được nghiên cứu. Famciclovir cũng được dùng để kiểm soát sao chép HBV trong bệnh cảnh ghép gan.

Penciclovir uống có sinh khả dụng thấp (5%). Ngược lại, famciclovir được hấp thu khá tốt bằng đường uống và nhanh chóng chuyển thành penciclovir bằng cách khử acetyl của chuỗi bên và oxy hóa vòng purin trong và sau khi hấp thu vào đường ruột. Tuy chính penciclovir hấp thu kém, sinh khả dụng của nó lại khá cao 65% đến 77% sau khi uống famciclovir.

Famciclovir đường uống dung nạp tốt nhưng có thể có nhức đầu, tiêu chảy và buồn nôn. Tính dung nạp ngắn hạn có thể so sánh với acyclovir. Các nghiên cứu tiền lâm sàng cho thấy dùng lâu dài có thể gây ung thư và gây độc tinh hoàn ở loài vật. Penciclovir *in vitro* sinh đột biến ở nồng độ cao.

Tuy chưa có nhiều kinh nghiệm lâm sàng trong điều trị VG B như LAM, famciclovir cũng có vẻ ức chế sao chép HBV trong một số BN. Trong một thử nghiệm có đối chứng, 6/11 BN đã có giảm nồng độ HBV DNA hơn 90% trong một liệu trình 10 ngày của famciclovir. Tuy nhiên, ở 2 BN HBV DNA trở về mức độ trước khi điều trị một liệu trình 10 ngày.

Một nghiên cứu đối chứng-giả dược, ngẫu nhiên thực hiện ở 80 trung tâm từ Bắc Mỹ đến châu Âu và Úc/New Zealand nhằm đánh giá hiệu quả của liệu pháp famciclovir 12 tháng ở BN VGB mạn HBeAg(+) ở 3 nhóm BN: FAM 500 mg/3 lần/ngày, FAM 1:500 mg/1 lần/ngày và giả dược. Kết quả theo bảng 12-8 như sau:

Bảng 12-8. Thử nghiệm lâm sàng điều trị famciclovir trong 12 tháng ở BN VG B mạn.

3 nhóm BN	Giảm HBV DNA trung vị (mEq/ml) tuần thứ 8	Thay đổi HBV DNA khi kết thúc điều trị %	Thay đổi trung vị HAI	Cải thiện HAI trên 2 điểm %	Chuyển HT HBcAg %	ALT bình thường %
500 mg/3 lần/ngày	1.645-283	-76 (p<0,001)	-1,5	50	9	30
1.500 mg/1 lần/ngày	1.147-304	-60 (p=0,25)	(p=0,02)	(p=0,07)	(p=0,05)	(p>0,05)
Giả dược	1.617-1.685	-37	-1,0	43		26
			(p=0,35)	(p=0,41)	3	(p>0,05)
			0	37		22

Vào tuần thứ 8, HBV DNA giảm ở cả 2 nhóm dùng FAM, không giảm ở nhóm giả dược. Thay đổi trung vị HBV DNA khi kết thúc điều trị ở nhóm dùng FAM 500 mg/3lần/ngày là -76%, khác biệt có ý nghĩa thống kê, trong khi nhóm dùng FAM 1.500 mg/1 lần/ngày, không khác biệt so với nhóm chứng. Chuyển huyết thanh HBeAg 9% khác biệt có ý nghĩa thống kê so với nhóm chứng (3%). Bình thường hóa ALT không khác biệt có ý nghĩa sau điều trị ở cả 3 nhóm.

4.2. ENTECAVIR

Entecavir là chất tương tự nucleosit giống guanine đã được thử nghiệm *in vitro*, trên vật mẫu sóc đen và trong một thử nghiệm ở người VG B mạn. Entecavir cho thấy có hoạt tính mạnh chống lại HBV kháng thuốc hơn LAM 1000 lần. Thuốc có nhiều hứa hẹn và đang được nghiên cứu giai đoạn III.

4.3. EMTRICITABINE (FTC, COVIRACIL)

Emtricitabine là chất tương tự cytosin có tác dụng ức chế mạnh sao chép HBV và có tác dụng hợp đồng khi kết hợp với các thuốc điều trị HBV khác trong phòng thí nghiệm. Một nghiên cứu giai đoạn III đang được tiến hành nhằm đánh giá hiệu quả của một liều 200 mg emtricitabine ngày một lần so với giả dược.

4.4. DAPD

DAPD (1-beta-D-2,6-diaminopurine dioxolane) có tác động mạnh với HIV và HBV và tác động hợp đồng với một số thuốc kháng virut khác trong các nghiên cứu phòng thí nghiệm. Trong thực nghiệm ở loài vật, phần lớn DAPD được chuyển đảo khá nhanh thành dioxolane guanosine (DXG) có hoạt tính. Thuốc hiện còn thử nghiệm lâm sàng giai đoạn II.

4.5. L-FMAU

L-FMAU (2'Fluoro-5-methyl-β-L-arabinofuranosyl uracil) có tác dụng kháng HBV mạnh. Thuốc đang được thử nghiệm lâm sàng giai đoạn I/II.

4.6. ADEFOVIR DIPIVOXIL

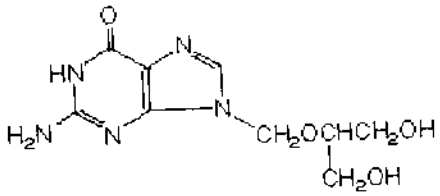
Adefovir là một chất tương tự adenin, có một phổ kháng virut gồm herpes-, hepadna-, và retrovirut, gồm cả HIV-1 và HIV-2, đã được chứng minh có hoạt tính *in vitro* chống lại các đột biến HBV kháng LAM và hoạt tính *in vitro* cũng như *in vivo* chống lại HBV nguyên sinh.

Trong thử nghiệm lâm sàng giai đoạn II, adefovir dipivoxil đã chứng minh làm giảm HBV DNA hơn 1 log10 sau 4 tuần điều trị và 4 log10 sau 12 tuần ở BN nhiễm HBV nguyên sinh. Trong VG B mạn[6,8], adefovir được dùng trong 3 tháng. Thuốc làm giảm HBV DNA đến mức không phát hiện được và nồng độ ALT được cải thiện. Adefovir có một ích lợi chủ yếu là không bị tác động bởi đột biến như điều trị với LAM. Nhưng đa số các BN bị tái phát sau khi hoàn tất đợt điều trị. Thuốc dạng tiêm tĩnh mạch cho thấy có hoạt tính kháng retrovirut nhưng dễ gây ra giảm bạch cầu hạt trung tính, rối loạn chức năng gan và viêm niệu đạo. Một dạng thuốc có sinh khả dụng theo đường uống được cải tiến đang được đưa vào nghiên cứu.

4.7. LOBUCAVIR

Trong các thử nghiệm, lobucavir được dùng trong một tháng. Cũng như adefovir, lobucavir làm giảm đáng kể mức độ sao chép virut. Nhưng đa số các BN tái phát sau khi điều trị ngưng. Hiện chưa rõ chủng HBV đột biến kháng LAM có nhạy cảm với lobucavir hay không.

4.8. GANCICLOVIR



GANCICLOVIR

Ganciclovir là là một chất tương tự nucleosit guanine không vòng (acyclic), giống với cấu trúc acyclovir nhưng có một nhóm hydroxymethyl phụ trên chuỗi bên không vòng.

Tác nhân này có hoạt tính ức chế chống lại tất cả herpesvirut nhưng chủ yếu chống lại nhiễm cytomegalovirut. Nồng độ ức chế cũng tương tự với nồng độ của acyclovir đối với HSV và VZV từ 10 đến 100 lần thấp hơn ở các chủng CMV người. Nồng độ ức chế đối với tế bào nguyên thủy (progenitor) tủy xương người cũng tương tự với nồng độ ức chế đối với sao chép CMV. Sự ức chế các đáp ứng sinh tế bào mầm (blastogenic) của tế bào lympho cũng xảy ra khi nồng độ lâm sàng đạt tới từ 1 đến 10 μG/ml.

Ganciclovir ức chế tổng hợp DNA virut, trong đó có HBV và đã được dùng đối với các BN liên quan đến HBV sau ghép gan. Trong vật mẫu vịt của nhiễm HBV, ganciclovir giảm tỷ lệ HBV DNA nhưng không giảm tỷ lệ DNA siêu xoắn. Tuy nhiên, trong kết hợp với axit nalidicit, mức độ DNA siêu xoắn HBV được giảm xuống.

4.9. ADENINE ARABINOSIDE

Adenine arabinoside (ara-A, vidarabine) là một chất tương tự purine và một ức chế mạnh của HBV polymerase. Ban đầu thuốc này được đánh giá trong những năm 1970 trong điều trị viêm não do herpes simplex. Các nghiên cứu điều trị thăm dò nhiễm VG B mạn cho thấy một sự thuyên giảm HBV DNA được ghi nhận và mất HBeAg ở một số BN. Ara-A không tan trong nước, cần truyền đường tĩnh mạch và vì thế ích lợi lâm sàng bị hạn chế.

4.10. ADENINE ARABINOSIDE MONOPHOSPHATE

Adenine arabinoside monophosphate (ara-AMP) là một phiên bản photphoryl hóa của ara-A tan trong nước và vì thế có thể dùng tiêm bắp. Các thay đổi đáng quan tâm trong tỉ lệ đáp ứng thành công khi dùng cùng chế độ điều trị. Một tỉ lệ đáp ứng cao được thấy trong nghiên cứu ở Pháp, bao gồm chủ yếu ở người luyến ái dị tính so với những BN đồng tính nam trong các nghiên cứu ở Mỹ. Tỉ lệ đáp ứng trong một vài nghiên cứu được so với các kết quả điều trị IFN. 5/15 BN nhận một đợt điều trị một tháng ara-MP thải trừ HBeAg so với không trường hợp nào trong 14 người thuộc nhóm không điều trị.

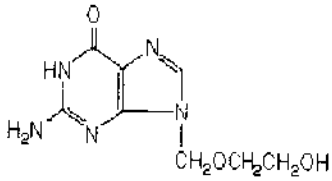
Độc tính thần kinh là một tác dụng phụ nghiêm trọng của nhiều chất tương tự nucleosit trong đó có ara-AMP. Các BN trong một nghiên cứu được chọn ngẫu nhiên nhận ara-AMP qua một nhóm điều trị ngắn (4 tuần), một nhóm điều trị dài (7-8 tuần) cùng với một nhóm 12 tuần điều trị IFN-α. Sự thải trừ HBeAg xảy ra 4/15 BN được điều trị ara-AMP ngắn và trong 5/15 BN được điều trị IFN. Nhiều triệu chứng của bệnh thần kinh ngoại vi hoặc đau cơ được báo cáo trong 3/15 BN thuộc nhóm điều trị ngắn ara-AMP và trong 8/15 trong nhóm được điều trị dài.

Ara-AMP có tác động kháng virut đáng kể nhưng tạm thời trên HBV. Sự ức chế hoàn toàn và kéo dài của sao chép HBV chỉ có ở các BN có tỉ lệ sao chép HBV thấp. Trong một nghiên cứu so sánh đáp ứng của ara-AMP trong 60 BN VG B mạn xếp theo nồng độ HBV DNA huyết thanh trước khi điều trị (bảng 12-9). Mức độ sao chép HBV được xác định là thấp (30 BN) hoặc cao (30 BN) khi nồng độ HBV DNA thấp hoặc cao hơn 100 pg/ml. Các BN nhận một đợt điều trị 28 ngày ara-AMP và một đợt ara-AMP thứ nhì được cho 6 tháng sau ở các BN còn sao chép HBV tồn tại. Vào cuối đợt điều trị ara-AMP đầu tiên, 11 BN (37%) có sao chép thấp và một BN (3%) sao chép cao có HBV DNA(-); 5 BN (17%) sao chép thấp và không có BN nào có tỉ lệ sao chép cao có chuyển huyết thanh. Hai trong 5 BN này mất HBsAg. 3/32 BN được tái điều trị có HBV DNA(-) và một BN có chuyển huyết thanh HBeAg.

Bảng 12-9. Kết quả điều trị ara-AMP trên 2 nhóm BN sao chép thấp và cao

Tình trạng BN	Số BN	Kết quả cuối đợt điều trị đầu tiên	
		HBV DNA(-)	Chuyển huyết thanh HBeAg thành anti-HBe
Sao chép thấp	30	11/30 (37%)	5/30 (17%)
Sao chép cao	30	1/30 (3%)	0/30 (0%)

4.11. ACYCLOVIR

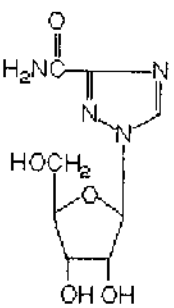


ACYCLOVIR

Acyclovir được dùng chủ yếu trong điều trị nhiễm virut herpes simplex và varicella zoster. Thuốc không có hoạt tính quan trọng chống sao chép HBV như là bước phosphoryl hóa đầu tiên hướng về thể hoạt động của virut thường phụ thuộc vào hoạt tính thymidine kinase virut bên trong tế bào. Không như virut herpes, HBV không có enzyme này. Tuy nhiên, ở mức độ cao, một vài ức chế sao chép HBV xảy ra và được nghĩ là có phosphoryl hóa do vật chủ chi phối và một tác dụng ức chế của acyclovir trên hoạt tính HBV DNA polymerase. Tuy nhiên, acyclovir có sinh khả dụng đường miệng thấp (30%) và dùng tiêm tĩnh mạch với nguy cơ tiểu ra tinh thể (crystalluria) cần được thấy một tác dụng có thể chứng minh được trên mức độ HBV DNA trong BN.

Schalm và cs mô tả một nghiên cứu nhỏ kết hợp acyclovir và IFN. 12 BN được chọn ngẫu nhiên để nhận hoặc là IFN sau đó là acyclovir hoặc acyclovir sau đó là IFN. 5 trong các BN này sau đó được nhận đồng thời acyclovir và IFN. Sự dùng chung đồng thời cả 2 giảm đáng kể mức độ HBV DNA hơn trong các điều trị bằng một loại thuốc. Toàn bộ chỉ có 3 BN thải trừ HBeAg, cho thấy không có lợi ích của phương pháp này khi so với đơn điều trị IFN.

4.12. RIBAVIRIN



RIBAVIRIN

Ribavirin là một chất tương tự guanosine, có hoạt tính kháng virut phổ rộng. Trong một nghiên cứu 18 BN VG B mạn, ribavirin đã được cho trong 6 tháng, nhưng chỉ giảm xuống tạm thời mức độ HBV DNA.

5. CHẤT TƯƠNG TỰ NUCLEOSIT TRONG ĐIỀU TRỊ HIỆN NAY

Khá nhiều số liệu lâm sàng cho thấy LAM hiệu quả, dung nạp tốt và là một phương thuốc thuận tiện đối với BN nhiễm VG B với nhiều dạng khác nhau. Dùng LAM một năm sẽ ức chế HBV DNA huyết thanh, tăng tỷ lệ chuyển huyết thanh HBeAg, giảm tình trạng viêm-hoại tử gan, giảm sự tiến triển đến tình trạng xơ hóa gan và xơ gan, bình thường hóa ALT huyết thanh. Liệu pháp LAM mở rộng đến 3, 4 năm sau vẫn làm tăng tỷ lệ chuyển huyết thanh và tiếp tục ức chế virut. Lợi ích lâm sàng của LAM tốt nhất là ở những BN không có đột biến YMDD. Tuy nhiên, các BN có đột biến YMDD vẫn có thể chuyển huyết thanh HBeAg và có thể duy trì nồng độ HBV DNA và ALT thấp hơn nồng độ ban đầu. LAM dung nạp tốt; tần số các tác dụng phụ của thuốc cũng tương tự như ở BN được điều trị giả dược. LAM cũng có thể có ích lợi ở các BN mất bù gan và các BN ghép gan.

Lợi ích của LAM khá rõ ràng: dễ điều trị, ít tác dụng phụ, giá thành thấp, hiệu quả như nhau ở các chủng tộc, liều uống một ngày một viên, nhưng trở ngại lớn nhất là các đột biến kháng thuốc và thời gian điều trị hiện chưa được xác định. Trong khi đó, lợi ích của IFN bao gồm thời gian điều trị đã được xác định rõ, không phát triển các đột biến kháng thuốc và khả năng thải trừ HBsAg nhưng lại có các vấn đề khác như giá thành cao và nhiều tác dụng phụ.

Một vấn đề được đặt ra là nhằm tránh tình trạng đột biến của HBV, có nên phối hợp điều trị với các thuốc khác như trong điều trị HIV hay không? Đến nay, LAM và penciclovir đã được dùng điều trị thành công trong điều trị VG vịt (DHBV) với liệu pháp phối hợp cho thấy sự hiệp đồng và các kết quả tốt hơn so với liệu pháp điều trị một thuốc. Nhưng sự phối hợp điều trị trên người hiện còn đang tiếp tục nghiên cứu và có vẻ đầy hứa hẹn.

Nhìn chung, biện pháp tốt nhất hiện nay vẫn là khuyến khích việc sử dụng IFN ở các BN thích hợp, nhất là ở những người có các chỉ số sinh hóa thuận lợi. Mặt khác, các BN điều trị IFN thất bại, các BN không có đáp ứng đối với IFN và các BN VG B tồn tại sau ghép gan không còn đáp ứng với HBIG nữa đều có thể là các ứng viên thích hợp với liệu pháp Lamivudin.

6. TÓM TẮT

Vấn đề chọn lựa thuốc điều trị cho các BN VG B mạn có thể tóm tắt như các điểm tổng kết tại Hội nghị về tuần lễ bệnh tiêu hóa tổ chức vào tháng 5/2001 tại Atlanta, Mỹ như sau:

- *Quyết định thuốc nào được dùng là một quyết định khá phức tạp. Khi quyết định nên tham khảo người bệnh cũng như xem xét người bệnh có xơ gan hay không.*
- *Cả IFN và LAM đều hiệu quả ở BN VG B mạn có ALT cao và HBeAg(+).*

- *Kết hợp IFN và LAM có thể tốt hơn là dùng đơn độc một thuốc ở BN VG B mạn HBeAg(-).*

- *Người bệnh VG B mạn HBeAg(-) thường có xơ gan vào lúc chẩn đoán. Liệu pháp kháng virut với IFN hoặc LAM làm giảm nguy cơ mất bù của nhóm người bệnh này. Tuy nhiên, họ còn nguy cơ phát triển UTTBG ngay cả sau khi liệu pháp kháng virut thành công.*

- *ALT bình thường là một dấu ấn thay thế tốt cho việc điều trị thành công VG B mạn HBeAg(-). tuy tái phát về mặt virut có thể còn xảy ra ở một ít BN.*

- *LAM an toàn cho các BN có bệnh gan tiến triển ngay cả khi BN được dự tính ghép gan. Tuy các đột biến YMDD sẽ gây khó khăn cho phẫu thuật ghép gan, nhưng điểm số Child-Pugh được cải thiện trong đa số BN và giảm được nhu cầu ghép gan trong một số người.*

- *Các biến dị kiểu gen của HBV có thể tạo thành các đột biến tiền lõi. Các kiểu gen B, C, D và E có nhiều khả năng có đột biến tiền lõi.*

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. **Main-J; Thomas-HC**. Hepadnaviridae. Treatment of chronic hepatitis B. In Zuckerman AJ, Thomas HC, editors. Viral Hepatitis. 2nd ed. London. Churchill Livingstone; 1998: 227-36.
2. **O'Brien-C; Moonka D**. Antiviral Chemotherapy for Viral Hepatitis. In S. Specter editor. Viral hepatitis: Diagnosis, Therapy, and Prevention.Totowa, NJ. Humana Press Inc. 1999:251-316.
3. **Bùi Hữu Hoàng, Trần Thiện Tuấn Huy**. Các điều trị khác trong viêm gan virut. Trong Viêm gan virut B: từ cấu trúc đến điều trị. Bộ Môn nội, TĐHYDTP.HCM. 2000: 149-63.
4. **Dienstag-JL; Perrillo-RP; Schiff-ER; Bartholomew-M; Vicary-C; Rubin-M**. A preliminary trial of LAM for chronic hepatitis B infection [see comments]. N-Engl-J-Med. 1995 Dec 21; 333(25): 1657-61
5. **Thời sự Y Dược học**. Điều trị VG B mạn bằng LAM: hướng dẫn điều trị của Nhóm Tư vấn quốc tế về viêm gan. Số tháng 6/2000. Tr 159-60.
6. **Hayden FG**. Antimicrobial agents: Antiviral agents. In Goodman @ Gilman's The Pharmacological basis of Therapeutics. McGrawHill. 9th edition. 1996.
7. **Koff-RS**. Advances in the Treatment of Chronic Viral hepatitis. Hepatitis Central. http://hepatitis-central.com/hcv/hepatitis/advances/treatment.html
8. **Sherman-M.** Treatment of Chronic Hepatitis B. http://www.hepnet.com/hepb/sherman698.html
9. **Scully-L.J**. New treatments for Hepatitis B and C. Hepatitis Update 16. http://www.hepnet.com/update16.html
10. **Ahmed SNS; Tavan D; Pichoud C; Berby F; Stuyver L; Johnson M; Merle P; Abidi H; Trépo C; Zoulim F.** Early detection of viral resistance by determination of hepatitis B virus polymerase mutations in patients treated by lamivudine for chronic hepatitis B. Hepatology 2000;32:1078-1088.

11. **Schuppan-D; Jia-JD; Brinkhaus-B; Hahn-EG**. Herbal Products for Liver Disease: A Therapeutic Challenge for the New Millennium. Hepatology, Vol 30 (4), October 1999: 1099-1104.

12. **Tajiri-H; Kozaiwa-K; Ozaki-Y; Miki-K; Shimuzu-K; Okada-S**. Effect of sho-saiko-to(xiao-chai-hu-tang) on HBeAg clearance in children with chronic hepatitis B virus infection and with sustained liver disease. Am-J-Chin-Med. 1991; 19(2): 121-9

13. **BioChem Pharma Inc**. New data for Zeffix offers a new approach to the management of hepatitis. May 1, 2000. http://www.hepnet.com/hepb/news050100.html.

14. **Đinh Dạ Lý Hương, Bùi Hữu Hoàng**. Điều trị viêm gan siêu vi mãn bằng các chất tương tự nucleoside. Trong Viêm gan virut B: từ cấu trúc đến điều trị. Bộ Môn nội, TĐHYDTP.HCM. 2000: 125-47.

15. **Jung-YO; Lee-YS; Yang-WS; Han-DJ; Park-JS; Park-SK**. Treatment of chronic hepatitis B with LAM in renal transplant recipients. Transplantation. 1998 Sep 27; 66(6): 733-7

16. **Mason-WS; Cullen-J; Moraleda-G; Saputelli-J; Aldrich-CE; Miller-DS; Tennant-B; Frick-L; Averett-D; Condreay-LD; Jilbert-AR**. LAM therapy of WHV-infected woodchucks. Virology. 1998 May 25; 245: 18-32.

17. **Marcellin-P; Pouteau-M; Loriot-MA; Boyer-N; Degos-F; Cales-P; Bettan-L; Bacq-Y; Coppere-H; Grange-JD; et-al**. Adenine arabinoside 5'-monophosphate in patients with chronic hepatitis B: comparison of the efficacy in patients with high and low viral replication. Gut. 1995 Mar; 36(3): 422-6.

18. **Consensus statement on prevention and management of hepatitis B and hepatitis C** in the Asia-Pacific region. J of Gastroenterol and Hepatol. 2000; 15: 824-841.

19. **Leung N**. Nucleoside analogues in the treatment of chronic hepatitis B. J of Gastroenterol and Hepatol. 2000; 15: E53-E60.

20. **Lau GKK; Tsiang M; Hou J; Yuen ST; Carman WF, Zhang L; Gibbs C; Lam SK**. Combination therapy with lamivudine and famciclovir for chronic hepatitis B-infected Chinese patients: a viral dynamics study. Hepatology 2000; 32:394-399.

21. **Honkoop P; De Man RA; Niesters HGM, Zondervan PE; Schalm SW**. Acute exacerbation of chronic hepatitis B virus infection after withdrawal of lamivudine therapy. Hepatology 2000; 32:635-639.

22. **Schalm SW; Heathcote J; Cianciara J; Farrell G; Sherman M; Willems B; Dhillon A; Moorat A; Barber J; Gray DF**, International Lamivudine Study Group. Lamivudine and alpha interferon combination treatment of patients with chronic hepatitis B infection: a randomised trial. Gut 2000;46:562-568.

23. **Liaw YF; Tsai SL; Chien RN, Yeh CT, Chu CM**. Prednisolone priming enhances Th1 response and efficacy of subsequent lamivudine therapy in patients with chronic hepatitis B. Hepatology 2000; 32:604-609.

24. **De Man RA; Marcellin P; Habal F; Desmond P; Wright T; Rode T; Jurewicz, Young C**. A randomized, placbo-controlled study to evaluate the efficacyof 12-month famciclovir treatment in patients with chronic hepatitis B e antigen-positive hepatitis B. Hepatology 2000;32:413-417.

25. **Lok ASF. Hussain M, Cursano C et al**. Evolution of hepatitis B virus polymerase gene mutations in hepatitis B e antigen-negative patients receiving lamivudine therapy. Hepatology 2000; 32:1145-1153.

26. **Đinh Dạ Lý Hương.** Kết quả điều trị Zeffix (lamivudine) 1 năm trên 30 BN viêm gan siêu vi B man tính. Hội nghị khoa học tiêu hóa toàn quốc lần 7 tại Cần Thơ 14-15/6/2001, tr 32-34.

27. **Perrillo R; Schiff E; Yoshida; Statler, Hirsch; Wright; Gutfreund K; Lamy P; Murray A.** Adefovir Dipivoxil for the treatment of lamivudine-resistant hepatitis B mutants. Hepatology 2000;32:129-134.

28. **Perrillo RP.** Short-term corticosteroid therapy in combination with lamivudine: A case of déjà vu? Hepatology 2000, vol 32, No 3: 663-665.

29. **Cho SW; Hahm KB; Kim JH.** Reversion from precore/core promoter mutants to wild-type hepatitis B virus during the course of lamivudine therapy. Hepatology 2000;32:1163-1169.

30. **Leung NWY; Chang TT; Lai CL; Liaw YF; Lee CM; Guan R; Lim SG, Ng KY.** Enhanced HBeAg and ALT responses during long-term lamivudine treatment. Previously presented at NIH, Maryland, September 2000.

31. **Perrillo RP; Wright T; Rakela J; Levy G; Schiff E; Gish; Martin P; Dienstag J; Adams P; Dickson R; Anschuetz G; Bell S; Condreay L; Brown N and Lamivudine North American Transplant Group.** A multicenter United States-Canadian Trial to Assess Lamivudine Monotherapy Before and After Liver Transplantation for Chronic Hepatitis B. Hepatology 2001; 33:424-432.

32. **Schiff E; Cianciara J; Karayalcin S; Kowdley K; Woessner M; McMullen S; Marr C; Brown N.** and the International Lamivudine Investigator Group. Presented at NIH, Maryland September 2000.

33. **Leung NWY; Lai CL; Dienstag J; Schiff E; Heathcote J; Atkins M; Marr M;Woessner M; Maddrey WC.** Long-term safety of lamivudine in patients with chronic hepatitis B. Presented at NIH, September 2000.

34. **Dixon JS; Boehme RE.** Lamivudine for the treatment of chronic hepatitis B. Acta Gastro-Enterologica Belgica, Vol. LXIII. October-December 2000.

35. **Rosenberg PM; Dienstag JL.** Therapy with nucleoside analogues for hepatitis B virus infection. Clinics in liver disease, vol 3 (2), May 1999.

36. **Jarvis B; Faulds D.** Lamivudine: A review of its Therapeutic Potential in Chronic Hepatitis B. Drugs 1999 Jul;58 (1): 101-141.

37. **Schiff ER.** Chronic hepatitis B: Patient Evaluation and Clinical Management. Treating Hepatitis at the Fronline. Sheraton Grande Sukhumvit, Bangkok, Thailand; 21-22 July 2001:14.

38. **Farrell G.** Management of chronic hepatitis B. Treating Hepatitis at the Fronline. Sheraton Grande Sukhumvit, Bangkok. Thailand; 21-22 July 2001.

39. **Naoumov N.** Lamivudine in compensated HBeAg positive chronic hepatitis B. Treating Hepatitis at the Fronline. Sheraton Grande Sukhumvit, Bangkok, Thailand; 21-22 July 2001.

40. **GlaxoWellcome.** Zeffix (Lamivudine). Product monograph.

41. **Martin P.** Lamivudine in special patient populations. Treating Hepatitis at the Fronline. Sheraton Grande Sukhumvit, Bangkok, Thailand; 21-22 July 2001.

42. **Zollner B.** 20-fold Increase in the risk of Lamivudine resistant in Hepatitis B Virus Subtype adw. In Informed. Newsletter of the Hepatitis B Foundation, 31, Spring 2001:3.

43. **Report on hepatitis B.** Digestive Disease Week Conference. In Informed. Newsletter of the Hepatitis B Foundation, 31, Spring 2001:10.

44. **Lai C; Rosmawati M; Lao J; Vlierberghe HV; Anderson F; Thomas N.** A phase II study of entecavir vs lamivudine in adults with chronic hepatitis B. http://www.natap.org/2001/36theasl/entecavir050.htm.

Chương 13

CÁC PHƯƠNG PHÁP ĐIỀU TRỊ KHÁC TRONG VIÊM GAN B MẠN

Trang

1. INTERFERON 378
1.1. Interferon alpha 378
1.2. Pegylated Interferon 378
1.3. Interferon beta 379
1.4. Interferon- Gamma 380
2. CÁC CYTOKINE KHÁC 380
2.1. Các yếu tố kích thích tạo bào lạc bạch cầu hạt - Đại thực bào 380
2.2. Interleukin-2 (IL-2) 380
2.3. Intrieukin -12 (IL-12) 381
3. CÁC THUỐC ĐIỀU BIẾN MIỄN DỊCH KHÁC 381
3.1. Anti-HBs 381
3.1.1. Anti-HBs đa dòng 381
3.1.2. Anti-HBs đơn dòng (XTL-001, XTL Biopharmaceuticals) 381
3.2. Các yếu tố dịch thể tuyến hung 383
3.3. Yếu tố chuyển đặc hiệu HbsAg 385
3.4 Poly-I; Poly-C12U 385
3.5. Levamisole 386
3.6. Inosine Pranobex 386
3.7. Chủng ngừa điều trị 386
3.7.1. Theradigm-HBv 386
3.7.2. Vacxin chứa HbsAg 387
3.7.3. Vacxin chứa cả 3 thành phần S, tiền S1 và tiền S2 (Hepagene) 387
3.8. Các phức hợp kháng nguyên kháng thể HBs 387
4. LIỆU PHÁP CÓ NGUỒN GỐC THẢO DƯỢC 388
4.1. Tác dụng kháng virut 389
4.1.1. Phyllantus amarus 389
4.1.2. Oxymatrine 389
4.1.3. Liv.52 390
4.1.4. Sirô Hebavera 390
4.2. Tác dụng điều biến miễn dịch 390
4.3. Tác dụng kháng viêm 391
4.3.1. Glycyrrhizin 391
4.3.2. Biphenyl Dimethyl Dicarboxylate (BDD, Nissel, Omitan, Biphendate) 391
4.3.3. Silymarin 392
4.3.4. BicyclolLAM 392
4.4. Tác dụng chống xơ 393

5. VACXIN DNA 393
6. GHÉP TẾ BÀO TẠO HUYẾT 395
7. CÁC PHƯƠNG PHÁP THỰC NGHIỆM KHÁC 397
7.1. Phối hợp các chất tương tự nucleosis *397*
7.2. Oligonucleotit ngược hướng *397*
7.3. Ribozym đầu búa *398*
7.4. Protein virut đường uống *398*
7.5. Imino-Sugars *399*
7.6. Vitamin B1 ..... *399*
8. TÓM TẮT 400
TÀI LIỆU THAM KHẢO *402*

1. INTERFERON

Mặc dầu thành công với liệu pháp INF-α với 30-40% BN VG B mạn, nhưng còn một tỉ lệ cao BN không đáp ứng với liệu pháp này và đây vẫn còn là một nhu cầu cấp thiết đối với các tác nhân khác. Các thuốc mới hứa hẹn nhất hiện nay được dùng cho VG B là các hợp chất tương tự nucleosit. Ngoài ra, các liệu pháp thay thế khác cũng cần được cân nhắc và có nhiều hứa hẹn.

1.1. INTERFERON ALPHA

Cho đến nay, IFN alfa-2b (Intron A: Schering-Plogh Corporation, Kenilworth, NJ) là Interferon-α tái tổ hợp duy nhất được phép dùng ở Mỹ. Gần đây, IFN alfa-2a (Roferon-A: Hoffmann-La Roche, Basal, Thuỵ Sĩ) và một "IFN nhất trí" (Infergen: Amgen, Thousand Oaks, CA) đã được FDA cấp phép để điều trị HCV .

Interferon alfa-2a được cấp phép ở Châu Âu, nơi thuốc được dùng điều trị HBV và HCV trong nhiều năm. IFN-α -2a khác biệt với IFN alfa -2b trong đó lysin tại vị trí 23 được thay bằng arginin. Điều trị bằng IFN alfa-2a có thể tạo nên một tỉ lệ cao các kháng thể anti-IFN hơn IFN alfa-2b và về mặt lý thuyết được cho là có hiệu quả. Tuy nhiên cho đến nay, cả hai loại IFN alfa đều không khác biệt đáng kể trong hiệu quả của điều trị HBV.

Infergen là một IFN-α tổng hợp dựa vào việc xác định phần lớn các aa thường gặp tại mỗi vị trí trong khoảng 11 kiểu phụ của IFN-α xảy ra trong tự nhiên. Đến nay, thuốc này được nghiên cứu chủ yếu ở các BN VG C và một thử nghiệm đa trung tâm, giai đoạn III rộng lớn đã được hoàn tất gần đây. Điều chưa rõ hiện nay là liệu Infergen sẽ có lợi ích nào không trong điều trị các BN HBV mạn.

1.2. PEGYLATED INTERFERON

Pegylated IFN (Hoffman-La Roche) là một dạng của IFN alfa-2a về mặt hoá học liên hợp với polyethylene glycol (PEG). Sự biến đổi của protein với PEG về mặt lý thuyết có thể tăng thời gian bán tồn trong huyết thanh và giảm khả năng gây miễn

dịch. Trong điều trị VG virut, pegythylene IFN có thể tăng hiệu quả hoặc có hiệu quả tương tự nhưng thuốc dùng ít hơn. Tuy nhiên, hiện nay pegylated IFN được thử nghiệm nhiều trong điều trị VG C.

Trong bệnh cảnh này, thử nghiệm lâm sàng giai đoạn II của pegylated IFN-alfa-2a thế hệ đầu tiên được cho một lần mỗi tuần một ít hiệu quả hơn IFN chuẩn dùng 3 lần một tuần. Tuy nhiên, pegylated IFN thế hệ thứ hai có các số liệu dược động học ở thú vật thuận lợi hơn và hiệu quả kháng virut in vitro đã được chứng minh và đang tiến gần các thử nghiệm lâm sàng ở Mỹ.

1.3. INTERFERON BETA

Interferon beta là một IFN tự nhiên được sản xuất bởi nguyên bào sợi gắn kết vào cùng thụ thể như IFN-α.

Interferon-beta có các tác dụng tương tự với IFN alfa. Đầu tiên, IFN chỉ là một chế phẩm tiêm tĩnh mạch dùng giới hạn cho các BN ngoại trú. Kinh nghiệm sơ bộ ở Nhật và Ý cho thấy có lợi ích lâm sàng chống lại VG B. Trong một nghiên cứu thăm dò ở Nhật dùng IFN-β (Feron: Toray Industries, Tokyo, Nhật), tiêm tĩnh mạch, một lần mỗi tuần trong 6 tháng cho 10 BN và thấy có 5/10 BN có chuyển huyết thanh từ HBeAg thành anti-HBe trong vòng 6 tháng sau khi ngưng điều trị. 4/5 BN này có ALT trở về bình thường. Tuy nhiên, sau đó không có thử nghiệm đối chứng được báo cáo với IFN-β tự nhiên hay tổng hợp.

Một nghiên cứu đa trung tâm có đối chứng, ngẫu nhiên được thực hiện nhằm đánh giá hiệu quả của IFN beta tự nhiên (Frone), được dùng tiêm bắp để điều trị VG B mạn. 65 BN là người mang HBsAg và HBeAg có VG mạn và HBeAg trong gan được chứng minh về mặt mô học được bao gồm trong nghiên cứu. 59 BN hoàn tất nghiên cứu (bảng 13-1): 30 người được điều trị với 5 MU/m^2 Frone, 3 lần một tuần trong 6 tháng và 29 người không điều trị. Hai nhóm BN tương tự nhau về mặt mô học. Trong nhóm điều trị, việc giảm có ý nghĩa tình trạng virut huyết được theo dõi khi bắt đầu từ tháng thứ 6 ($p<0,001$),sau đó là giảm đáng kể ALT ($p<0,005$). Vào cuối điều trị, HBeAg huyết thanh không phát hiện trong 7/30 (23%) ở các BN được điều trị so với 1/29 (3%) trong nhóm chứng có HBeAg (-). Một khác biệt có ý nghĩa ($p<0,05$) được thấy trong tỉ lệ chuyển huyết thanh giữa 2 nhóm bắt đầu từ tháng thứ 8 theo dõi. Nhìn chung các kết quả từ nhiều nghiên cứu nhỏ khác nhau có vẻ tương tự với các kết quả IFN alfa.

Bảng 13-1. Thử nghiệm đánh giá hiệu quả của IFN beta tự nhiên

Nhóm	Số BN	Mất HBeAg huyết thanh
Điều trị IFN beta	30	7/30(23%)
Chứng	29	1/29(3%)

1.4. INTERFERON - GAMMA

Interferon -γ được tiết ra bởi các tế bào T hoạt hoá. IFN -γ dùng một thụ thể riêng biệt với IFN-α và IFN - β. IFN -γ được cho là có tác động kích thích miễn dịch mạnh nhất. IFN -γ đã được dùng trong nhiều thử nghiệm lâm sàng đơn thuần hoặc kết hợp với IFN-α. Các thử nghiệm gồm cả trẻ em và người lớn đều không thành công. Ngay cả khi phối hợp với IFN-α, IFN gamma cũng không cho thấy có lợi ích gì. Tuy không hiệu quả, nhưng thuốc dung nạp tốt. Hiện nay, IFN-γ không có vai trò rõ ràng nào trong điều trị VG B.

2. CÁC CYTOKINE KHÁC

Các IFN là thành viên của một nhóm lớn gồm các protein kích tố được gọi là cytokin đã được xác định khả năng trong điều hoà hệ miễn dịch. Do tác dụng tăng cường miễn dịch, nhiều cytokin khác có các đặc điểm khiến chúng được xem như là các ứng viên trong liệu pháp kháng virut về mặt lý thuyết.

2.1. YẾU TỐ KÍCH THÍCH TẠO BẠO LẠC BẠCH CẦU HẠT- ĐẠI THỰC BÀO

Ngoài khả năng sản xuất bạch cầu trung tính, yếu tố kích thích tạo bào lạc bạch cầu hạt-đại thực bào (GM-CSF) cũng có khả năng kích thích hệ miễn dịch đặc hiệu kháng nguyên. GM-CSF là cytokin điều hoà miễn dịch mạnh khi dùng phối hợp với các vacxin kháng u ở chuột. Tác dụng điều hoà miễn dịch này một phần do khả năng của GM-CSF thúc đẩy sự trưởng thành và hoạt hoá các tế bào đuôi gai trình diện kháng nguyên đối với các tế bào lympho T với một hiệu quả cao. GM-CSF đơn thuần, khi dùng cho các BN VG B mạn có khả năng giảm mức HBV DNA huyết thanh xuống độ 30-50%, nhưng không loại trừ HBV DNA. Liều cao gây bệnh tăng bạch cầu thoái quá cần phải điều chỉnh liều lượng. Một nghiên cứu thăm dò không đối chứng cho thấy một vài hiệu quả khi kết hợp GM-CSF với IFN ở các BN trước đây đã thất bại khi điều trị với IFN đơn thuần. Trong điều trị VG B, cần có các thử nghiệm đối chứng đầy đủ với sự phối hợp GM-CSF và IFN. Hiện nay, GM-CSF đang được nghiên cứu trong thử nghiệm lâm sàng giai đoạn II với các BN VG C.

2.2. INTERLEUKIN -2 (IL-2)

IL-2 là một bước trong các cytokin giúp tăng trưởng và tăng sinh của các tế bào T và các tế bào giết tự nhiên (TBGTN). Số lượng của IL-2 được sản xuất bằng các tế bào T CD4 hoạt hoá là một quyết định quan trọng về mức độ đáp ứng miễn dịch. Dù thế, các kết quả của các thử nghiệm dùng IL-2 tái tổ hợp trong điều trị VG B thường đáng thất vọng. Hai nghiên cứu thăm dò không đối chứng đã cho thấy IL-2 chỉ có hoạt tính kháng virut nhẹ. Một thử nghiệm đối chứng so sánh phối hợp của IL-2 và IFN alfa-2b đối với IFN-α đơn thuần cho thấy liệu pháp phối hợp không hiệu quả hơn IFN-α, nhưng lại gây ra nhiều tác dụng phụ. Một thử nghiệm thứ ba cho thấy tác dụng kháng virut chỉ với IL-2 liều cao đã gây nên các tác dụng phụ đáng kể.

IL-2 liều cao được dùng cho các chỉ định khác đã có các tác dụng có hại nghiêm trọng, bao gồm các hội chứng rò rỉ mao mạch, làm hạn chế lượng thuốc có thể dùng. Việc nghiên cứu sử dụng IL-2 trong điều trị nhiễm HIV hiện nay có thể sẽ giúp nhiều kinh nghiệm trong điều trị VG B.

2.3. INTERLEUKIN -12 (IL-12)

IL-12 là một cytokin kích thích miễn dịch mạnh với nhiều hoạt tính chỉ được dùng gần đây trong các thử nghiệm ở người. Trước đây, IL-12 được biết như yếu tố kích thích TBGTN (NKSF) và yếu tố trưởng thành tế bào lympho gây độc tế bào (CLMF), được sản xuất bởi các tế bào B, tế bào đơn nhân và các tế bào trình diện kháng nguyên khác. IL-12 đã được chứng minh làm tăng sản xuất IFN gamma, tăng cường tế bào T gây độc tế bào, tăng hoạt tính TBGTN và tạo nên sự biệt hoá của tế bào T giúp đỡ CD4+ thành tế bào T giúp đỡ kiểu 1 (TH1). Các tế bào TH1 kích thích miễn dịch qua trung gian tế bào và sản xuất IL-2 và IFN gamma. IL-12 đã được chứng minh hoạt tính khángvirut là kháng u khá ấn tượng trong nhiều mô hình loài vật. Cũng như IL-2, IL-12 có nhiều tác dụng phụ nặng nề và vì lý do này, các thử nghiệm chỉ được tiến hành thận trọng ở Mỹ với nhiều kinh nghiệm có được ở các BN nhiễm HIV và ung thư. IL-12 với các tính chất kích thích miễn dịch mạnh còn là một ứng viên tiềm năng trong điều trị VG B. Hãng Roche đã bắt đầu thử nghiệm IL-12 trong nhiễm HBV mạn.

3. CÁC THUỐC ĐIỀU BIẾN MIỄN DỊCH KHÁC

3.1. ANTI-HBs

3.1.1. Anti-HBs đa dòng

Glubuline miễn dịch VG B (HBIG) chứa anti-HBs đa dòng được dùng trong bệnh cảnh ghép gan. HBIG liều cao bảo vệ BN chống lại tái nhiễm HBV mẫu ghép.

Tuy nhiên, HBIG đã bộc lộ nhiều nhược điểm như khá tốn kém, tính khả dụng và độ an toàn hạn chế đã khiến nhiều tác giả phải tìm liệu pháp thay thế khác như kháng thể đơn dòng anti-HBs.

Hiện nay có hai chế phẩm đã được FDA cho phép dùng là BayHep B® (Bayer U.S. Pittsburgh, PA) vào năm 1977 và Nabi-HBV (Nabi, Boca Raton, FL) vào năm 1999. Một chế phẩm của Canada, Anti-hepatitis B (Cangene, Ontaio, Canada), đang thử nghiệm lâm sàng giai đoạn II.

3.1.2. Anti-HBs đơn dòng (XTL-001, XTL Biopharmaceuticals)

Eren và cs áp dụng các đặc tính của dòng chuột Trimera để sản xuất 2 kháng thể anti-HBV người và đánh giá hiệu quả của chúng in vivo. Các phát hiện được quan sát trong mô hình HBV-Trimera được xác định thêm ở hắc tinh tinh mang HBV mạn. Cả 2 kháng thể đơn dòng đều là IgG1 và có ái lực cao đối với HBsAg và có tính đặc hiệu

cao. Chúng được chứng minh có hiệu quả trong việc ức chế nhiễm HBV bên ngoài cơ thể sống cũng như giảm lượng HBV ở chuột HBV-Trimera. Bởi thế, các kháng thể đơn dòng này được xem là có tác dụng điều trị miễn dịch mạnh. Các ứng viên cho liệu pháp này là những người phơi nhiễm với vật liệu nhiễm HBV (do tai nạn kim tiêm hoặc vết thương) và trẻ sơ sinh mà mẹ là người mang HBV. Mặt khác, liệu pháp miễn dịch thụ động còn được chỉ định đối với các BN ghép gan.

Gần đây, một liều cao kháng thể đơn dòng duy nhất của người chống lại kháng nguyên S được chứng minh làm chậm trễ nhưng không ngăn chặn nhiễm HBV ở hắc tinh tinh, có thể do xuất hiện các đột biến thoái hoá trong gen S của HBV. Hơn nữa, một kháng thể đơn dòng duy nhất không đủ mạnh và một hỗn hợp nhiều kháng thể đơn dòng nhận biết nhiều biểu vị khác nhau có thể hiệu quả hơn trong việc ngăn ngừa tái nhiễm HBV.

Eren và cs phát triển được 2 kháng thể đơn dòng 17.1.41 và 19.79.5. Kháng thể đơn dòng 17.1.41 nhận biết một biểu vị hình thái trên vùng kháng nguyên S trong khi kháng thể đơn dòng 19.79.5. nhận biết một biểu vị thẳng trên vùng tương tự. Việc dùng 2 kháng thể đơn dòng gắn kết vào các quyết định kháng nguyên khác nhau và nhận biết các biểu vị thẳng và hình thái có thể giảm xác suất xảy ra các đột biến thoái và giảm khả năng kháng thuốc khi điều trị lâu dài. Hơn nữa, tính đặc hiệu của các kháng thể đơn dòng cao hơn đối với globulin miễn dịch đa dòng hiện có trên thị trường (Hepatect), độ 500 đến 2000 IU/mg so với 1IU/mg, có nghĩa là kháng thể đơn dòng cần dùng để đạt đến hiệu quả tương tự như chế phẩm đa dòng ít hơn 500 đến 2.000 lần. Do đó, kháng thể đơn dòng được xem là các ứng viên có khả năng điều trị lâu ngày mà ít có tác dụng phụ.

Kháng thể đơn dòng giảm nồng độ HBV DNA và HBsAg khi dùng cho hắc tinh tinh mang HBV mạn, bằng cách kết tủa các hạt HBV huyết thanh, cho thấy việc gắn kết virut là chủ động, có khả năng trung hoà virut. Liều lượng kháng thể đơn dòng dùng trong nghiên cứu không đủ để thải trừ virut hoàn toàn và virut trở về nồng độ ban đầu trong vòng 72 giờ.

Nguy cơ tiềm tàng của liệu pháp kháng thể bao gồm việc hình thành các phức hợp miễn dịch lưu hành có thể dẫn đến bệnh phức hợp miễn dịch và khi điều trị lâu dài có thể xuất hiện các đột biến thoát.

Chỉ định hứa hẹn nhất đối với kháng thể đơn dòng trong nhóm BN này là kết hợp điều trị. Khả năng phối hợp với các chất tương tự nucleosis kháng virut và liệu pháp miễn dịch thụ động trong mô hình HBV-Trimera đã được thử nghiệm. Các kết quả thực nghiệm bằng cách dùng ức chế polymerase và sau đó dùng một kháng thể đơn dòng cho thấy việc giảm lượng virut hiệu quả hơn. Hơn nữa, việc dùng liệu pháp phối hợp có thể làm chậm trễ tình trạng virut huyết tăng trở lại sau khi ngưng điều trị. Việc sử dụng kháng thể đơn dòng điều trị trên người nhiễm HBV mạn vẫn còn đang tiếp tục nghiên cứu.

3.2. CÁC YẾU TỐ THỂ DỊCH TUYẾN HUNG

Một số kích tố tuyến hung tác dụng như một tác nhân tăng cường khả năng trưởng thành và chức năng của tế bào lympho đã được nghiên cứu trong điều trị VG B mạn. Lúc đầu, các chế phẩm có nguồn gốc từ tuyến hung bò nhưng hiện nay là kỹ thuật tái tổ hợp. Nhiều trích tinh thô khác nhau của tuyến hung đã được dùng trong điều trị VG virut, và các tác nhân hoạt động không phải lúc nào cũng được xác định.

Gần đây, Thymosin -α1 (Zadaxin, SciClone Pharmaceuticals, San Mateo, CA), một polypeptit tổng hợp gồm 28 aa, có nguồn gốc tuyến hung có một vài đồng dạng chuỗi mã với IFN - α, đã được nghiên cứu ở các BN VG B. Thymosin -α1 đã được chứng minh có ảnh hưởng đến chức năng tế bào T điều hoà miễn dịch, đẩy mạnh việc sản xuất IFN-α và IFN-β, các IL-2 và IL-3 bởi các tế bào lympho người bình thường và tăng biểu hiện thụ thể IL-2 ở tế bào lympho.

Hiện nay, Thymosin -α1 được đăng ký ở Trung Quốc trong điều trị nhiễm HBV mạn. Đến nay, 4 thử nghiệm lâm sàng ngẫu nhiên đã khảo sát tính an toàn và hiệu quả của đơn điều trị thymosin - α_1 trong VG B mạn, trong đó có 3 thử nghiệm đa trung tâm (bảng 13-2). Hai thử nghiệm (ở Mỹ trong giai đoạn 2 và ở Ý trong giai đoạn 3) đều có ý nghĩa thống kê (lần lượt là $p<0,004$ và $p < 0,025$) và thử nghiệm tại Đài Loan cũng có ý nghĩa thống kê ($p<0,004$) ở bệnh viện Chang Gung. Khi các nghiên cứu được xem xét chung trong một nghiên cứu hậu phân tích, các kết quả cũng có ý nghĩa thống kê ($p<0,004$) và cho thấy sau 6 tháng điều trị với thymosin-α_1 (1,6mg 2 lần/tuần), tỷ lệ đáp ứng kéo dài gần gấp đôi (36% so với nhóm chứng 19%). Tỷ lệ toàn bộ của những người đáp ứng ở nhóm điều trị với thymosin-α_1 tăng 10% lúc 6 tháng lên 25% vào lúc 12 tháng và 36% vào lúc đánh giá sau cùng, so với 6% lúc 6 tháng, 11% lúc 12 tháng và 19% lúc đánh giá sau cùng ở nhóm chứng. Đáp ứng duy trì dài hạn có ý nghĩa nghiêng về nhóm thymosin-α_1 khi so với nhóm chứng (36% so với 19%, $p=0,04$).

Vũ Bằng Đình và cs điều trị 28 BN bằng thymosin trong 8 tuần cho thấy các dấu hiệu lâm sàng và sinh hoá giảm rõ rệt, nhưng không cải thiện được tình trạng HBsAg(+) và không có BN nào phát triển anti-HBs.

Thymosin-α_1 cũng được dùng phối hợp với nhiều tác nhân kháng virut HBV khác nhằm tăng cường tác dụng. Trong một nghiên cứu ở Trung Quốc, tính an toàn và hiệu quả của thymosin-α_1 trong 6 tháng được so với thymosin-α_1 kết hợp với IFN-α (3MU/ngày trong 10 ngày sau đó 3 lần/tuần trong 6 tháng).

Mất HBeAg và HBV DNA là 27,8% trong cả 2 nhóm vào tháng thứ 12 và không có tác dụng có hại nào có ý nghĩa trong cả 2 nhóm.

Bảng 13-2. Bốn thử nghiệm lâm sàng ngẫu nhiên dùng thymosin-αI trong điều trị VG B mạn.

Kiểu nghiên cứu	Nước thực hiện	n	Kết quả đáp ứng
Giai đoạn 2, mù đôi, đối chứng - giả dược, ngẫu nhiên	Mỹ	20	Thymosin -α_1: 75% so với giả dược 25%, p<0,04.
Giai đoạn 3, mù đôi, đối chứng - giả dược, ngẫu nhiên, đa trung tâm.	Mỹ	97	Thymosin -α_1: 25% so với giả dược 13%, p<0,11.
Giai đoạn 3, có đối chứng, ngẫu nhiên, đa trung tâm	Đài Loan	158	Thymosin -α_1 6 tháng điều trị 36% so với Thymosin -α_1 12 tháng điều trị 27% so với nhóm chứng 26%.
		98	Thymosin -α_1 6 tháng điều trị 41% so với Thymosin -α_1 12 tháng điều trị 27% so với nhóm chứng 9%.
Giai đoạn 3, có đối chứng, ngẫu nhiên đa trung tâm	Ý	33	Thymosin -α_1: 41% so với IFN α2b: 25% so với nhóm chứng: 7% p<0,025 Thymosin -α_1 so với nhóm chứng

Gần đây, phối hợp thymosin-α_1 và famciclovir đã được Lau và cs nghiên cứu ở BN Trung Quốc bị VG mạn (trong giai đoạn dung nạp miễn dịch)>. Tiêu chuẩn chọn lọc bao gồm tuổi trên 18, người Trung Quốc, HBeAg (+) trên 6 tháng, nồng độ HBV DNA hơn 4.000 mEq/ml và ATL hơn 1,5 lần GHTBT. Đây là một nghiên cứu nhãn mở so sánh cách dùng thymosin-α_1 (1,6mg dưới da 2 lần mỗi ngày) cùng với famciclovir (500 mg x 3lần/ngày/26 tuần) (n=33) đối với famciclovir 9500 mg x 3 lần/ngày/26 tuần) (n=14) và một nhóm chứng bắt cặp lịch sử (n=20). So sánh nhóm điều trị bằng famciclovir và nhóm chứng, liệu pháp kết hợp gây giảm HBV DNA trung vị cao hơn có ý nghĩa vào tuần thứ 26 (88,5% so với 75% và 15%, p<0,05). Thải trừ HBeAg kéo dài muộn gặp ở 3 BN (9,1%) vào tuần thứ 7, 16 và 26 sau khi ngừng liệu pháp trong nhóm điều trị phối hợp và không có người nào thuộc nhóm chỉ dùng famiclocir và nhóm chứng (bảng 13-3). Các kết quả này xác định thêm các phát hiện liên quan đến thải trừ muộn HBeAg, của nhóm Đài Loan. Hiện nay, cần phải có các nghiên cứu thêm về việc sử dụng các chất tương tự nucleosit mạnh khác, như LAMivudine (LAM), dùng phối hợp với thymosin - α_1.

Bảng 13-3. Nghiên cứu liệu pháp kết hợp thymosin αI và famciclovir của Lau và cs năm 1999.

Nhóm thử nghiệm	N	Giảm HBV DNA%	Thải trừ HbeAG%
Thymosin - α_1 + famciclovir	33	88,5	9,1
Famciclovir	14	75	0
Nhóm chứng	20	15	0

3.3. YẾU TỐ CHUYỂN ĐẶC HIỆU HBsAg

Yếu tổ chuyển đặc hiệu HBsAg (HBsAg Transfactor) là một oligoribonucleotid có trọng lượng phân tử ít hơn 5000 Da, được tiết ra và tinh khiết từ lách heo sau khi tạo miễn dịch với vacxin HBsAg. Yao và cs tiến hành một thử nghiệm lâm sàng giai đoạn I và II được thực hiện ở Trung Quốc trên những người tình nguyện khoẻ mạnh và BN có VG mạn và đã thấy HBsAg TF có thể kích thích tăng sinh các tế bào lympho cảm ứng HBsAg và hoạt tính ức chế di chuyển đại thực bào trong cả 2 nhóm. Nghiên cứu chọn ngẫu nhiên 109 BN vào các nhóm điều trị bằng yếu tố chuyển và giả dược trong 3 tháng (bảng 13-4). Trong 54 trường hợp điều trị bằng HBsAg TF, tỷ lệ thải trừ HBeAg và HBV DNA lần lượt là 44,4% và 46,9%, trong khi 55 trường hợp dùng giả dược, tỷ lệ thải trừ là 14,4 và 7,5% ($p<0,01$).

Bảng 13-4. Đáp ứng với yếu tố chuyển kháng nguyên VG B trong nghiên cứu của Yao và cs

	n	Đáp ứng sau điều trị (3 tháng, %)			Đáp ứng kéo dài (3 tháng, %)		
		Thải trừ HBeAg	Xuất hiện anti-HBe	Thải trừ HBV DNA	Thải trừ HBeAg	Xuất hiện anti-HBe	Thải trừ HBV DNA
HbsAg TF	54	44,4	26,9	46,9	48,8	25,6	27,9
Giả dược	55	14,4	13,4	7,5	11,8	2,9	2,9

Một thử nghiệm mở rộng được thực hiện ở 309 BN được chọn ngẫu nhiên vào các nhóm điều trị 1 mg hoặc 2 mg HBsAg TF. Sau 3 tháng điều trị, tỉ lệ thải trừ HBeAg và HBV DNA trong nhóm điều trị 1 mg (149 trường hợp) lần lượt là 33,6 và 29,69%, trong khi ở nhóm điều trị liều 2mg (160 trường hợp) tỷ lệ thải trừ là 46,3 và 36,2% ($p<0,05$). Sau 3 tháng theo dõi, hiệu quả được duy trì trong khoảng 70% BN (bảng 13-5). Không có phản ứng phụ của thuốc đáng kể khi quan sát trong quá trình điều trị.

Bảng 13-5. Liều điều trị HBsAg trong thử nghiệm mở rộng ở Trung Quốc

Nhóm dùng HbsAg TF	N	Thải trừ HBeAg	Thải trừ HBV DNA	p
HBsAg TF 1mg	149	33,6	29,69	<0,05
HbsAg TF 2 mg	160	46,3	36,2	<0,05

3.4. POLY-I: POLY-$C_{12}U$

Poly-I: Poly-$C_{12}U$ (Ampeligen; HEM Pharmaceutials, Philadelphia, PA) là một phân tử RNA mạch kép cũng đã được chứng minh có hoạt tính kích thích miễn dịch và kháng virut in vitro. Phân tử làm tăng sự tạo thành các cytokin nội sinh và tăng hoạt tính TBGTN và đại thực bào. O'Brien và Moonka đã làm một nghiên cứu thăm dò trong đó 8 BN được điều trị với Ampligen tĩnh mạch trong 24 tuần. 4 BN mất HBV

DNA và 3 mất HBeAg. Hai trong 4 BN này ban đầu có đáp ứng sau đó tái phát. Điều này cho thấy tỉ lệ tái phát cao hơn khi dùng IFN-α. Nhìn chung, Poly-I: Poly-C12U dung nạp tốt với các tác dụng phụ giống cúm nhẹ hơn IFN-α. Tuy nhiên, hiện nay, hãng HEM không còn tiếp tục các thử nghiệm Ampligen trong điều trị VG B nữa.

3.5. LEVAMISOLE

Levamisole đã được chứng minh tăng cường hoạt tính tế bào T và đại thực bào và khôi phục tính quá mẫn chậm ngoài da đối với các BN ung thư vô ứng. Levamisole đã được dùng phối hợp với IFN trong các BN VG B. Trong một thử nghiệm ở trẻ em, sự phối hợp không thấy hiệu quả hơn so với dùng IFN đơn thuần và trong 2 thử nghiệm ở người lớn, sự phối hợp cho tỷ lệ đáp ứng thấp hơn khi dùng IFN đơn thuần. Trong hai nghiên cứu, có nhiều các tác dụng phụ trong liệu pháp phối hợp hơn là dùng IFN đơn thuần.

Vũ Bằng Đình và cs nhận thấy các BN VG mạn hoạt động được điều trị Levamisole có các tế bào lympho T và lympho T hoạt động tăng lên rõ rệt với phản ứng Mantoux từ âm thành dương ở tất cả BN được nghiên cứu. Đồng thời Levamisole cũng ổn định chức năng gan ở tất cả BN. Thải trừ HBsAg ở 4/13 BN.

Tuy nhiên, nhiều tác giả hiện nay cho rằng Levamisole không có một vai trò gì trong điều trị VG B.

3.6. INOSINE PRANOBEX

Inosine Pranobex có các tác dụng kích thích miễn dịch nhưng có vẻ không có ích lợi lâm sàng như điều trị đối với HBV mạn.

3.7. CHỦNG NGỪA ĐIỀU TRỊ

Chủng ngừa điều trị bao gồm việc đưa các kháng nguyên protein của một tác nhân gây bệnh vào các cá thể nhiễm mạn tính với chính tác nhân gây bệnh. Hiện nay, có nhiều kiểu vacxin chính đang được phát triển được dùng trong điều trị bằng cách tiêm chủng.

3.7.1. Theradigm-HBV

Theradigm-HBV là một vacxin lipopeptit thực nghiệm được thiết kế nhằm kích thích cảm ứng của đáp ứng tế bào T gây độc tế bào (TBTGĐTB, CTL) đặc hiệu HBV ở những người HLA-A2. Thuốc gồm một biểu vị TBTGĐTB giới hạn HLA-A2, một biểu vị T giúp đỡ (Th) có nguồn gốc từ biến độc tố uốn ván và 2 phân tử axit palmitic. Trong một thử nghiệm lâm sàng giai đoạn I, vacxin này cảm ứng TBTGĐTB đặc hiệu HBV nhằm giết các tế bào đích tự thân sản xuất protein HBV tương ứng. Mức độ đáp ứng TBTGĐTB gây ra bởi Theradigm-HBV thực ra có thể so sánh với đáp ứng TBTGĐTB liên quan đến thải trừ nhiễm virut cấp. Một tương quan mạnh giữa cảm ứng TBTGĐTB và đáp ứng T cũng khá rõ, cho thấy đáp ứng T là cốt lõi trong phát

triển đáp ứng TBTGĐTB kéo dài. Các kết quả này cho thấy các vacxin trên cơ sở peptit có khả năng cảm ứng TBTGĐTB ký ức giới hạn HLA lớp 1 đặc hiệu HBV ở các BN nhiễm HBV mạn.

Từ các kết quả sơ bộ của thử nghiệm giai đoạn 2, tần số, tầm quan trọng của đáp ứng TBTGĐTB đặc hiệu HBV và số lần bùng phát ALT tương quan dương tính với liều vacxin. Tuy đáp ứng tăng sinh đối với biểu vị T bao gồm cấu trúc có vẻ bình thường ở các BN nhiễm HBV mạn, sự tăng sinh cytokin cho thấy cảm ứng của đáp ứng tế bào T $CD4^+$ Th0-Th2 hơn là đáp ứng Th1. Một sự giảm đáp ứng tế bào T $CD4^+$ nhớ lại đối với uốn ván cũng được quan sát và tương quan với các kết quả tiêm chủng Theradigm-HBV. Do đó, kết hợp của Theradigm-HBV với các chất kích thích miễn dịch không đặc hiệu khác, như IFN gamma hoặc IL-12, có thể đảo ngược đáp ứng tế bào T $CD4^+$, cần được cân nhắc.

3.7.2. Vacxin chứa HBsAg

Vacxin chứa HBsAg đã được nghiên cứu trong trị liệu nhiễm HBV mạn, trên cơ sở giả định rằng mặc dù các hạt HBsAg virut dư thừa rất lớn ở máu ngoại vi của BN nhiễm virut mạn, việc sử dụng thêm một lượng nhỏ HBsAg ngoại sinh sẽ tăng cường đáp ứng miễn dịch đặc hiệu HBV mà trước đây không hiệu quả. Hiệu quả này có thể gây tăng miễn dịch HBsAg ngoại sinh do việc sử dụng chúng cùng với tá dược hoặc do cách sử dụng có thể phân phối trực tiếp hơn đến các hạch bạch huyết vùng và gây đáp ứng HBV đặc hiệu. Một nghiên cứu ở chuột chuyển gen, biểu hiện HBsAg trong gan chứng minh thêm giả thuyết này. Trong nghiên cứu, tiêm chủng với vacxin HbsAg đạt đến sự thải trừ chức năng đối với HBsAg bằng cách cảm ứng một đáp ứng miễn dịch đặc hiệu. Qua đó, một nghiên cứu lâm sàng thăm dò một vacxin anti-HBV chuẩn cho BN nhiễm HBV mạn. Các kết quả này cho thấy vacxin giảm sao chép HBV trong 50% các trường hợp. Các tác giả cũng chứng minh đáp ứng tế bào T $CD4^+$ đặc hiệu vỏ ngoài kiểu Th1 được cảm ứng trong 7/27 BN nhiễm HBV mạn nhận vacxin anti-HBV chuẩn. Hiện nay, một nghiên cứu đa trung tâm có đối chứng đang được tiến hành nhằm xác định hiệu quả của vacxin HBV mang HBsAg chuẩn.

3.7.3. Vacxin chứa cả 3 thành phần S, Tiền S1 và tiền S2 (Hepagene)

Hepagene, trong một thử nghiệm có đối chứng trên 103 BN với 2 đợt điều trị: đợt đầu nhận 4 liều Hepagene 20µg mỗi liều cách nhau 1 tháng. BN được nhận đợt điều trị thứ hai sau 9 tháng với 8 liều Hepagene, mỗi liều cách nhau 1 tháng. Khoảng 3/4 BN được điều trị với Hepagene phát triển kháng thể anti-HBs vào một lúc nào đó trong quá trình nghiên cứu, có ý nghĩa thống kê so với nhóm chứng.

3.8. CÁC PHỨC HỢP KHÁNG NGUYÊN KHÁNG THỂ HBs

Trong vịt thực nghiệm người ta thấy rằng hồi biến dung nạp miễn dịch có thể có khi protein vỏ ngoài phức hợp với kháng thể của chúng bằng cách gắn kết vào

Staphylococus aureus chủng Cowan I, hoặc bằng các phức hợp với HBsAg vịt (DHBsAg) với kháng thể chống HBsAg vịt. Các số liệu này cho thấy sự biến đổi quá trình xử lý và trình diện kháng nguyên bề mặt là phương pháp hứa hẹn nhất trong hồi biến dung nạp miễn dịch. Chuột được chủng ngừa bằng cách dùng vacxin HBV(HBVac)phức hợp vào globulin miễn dịch VG B người (HBIG) gây đáp ứng miễn dịch tế bào và thể dịch đặc hiệu tăng lên ở chuột. Để dự báo các đáp ứng miễn dịch tạo nên bởi phức hợp HBVac - HBIG ở người, chuột dược chủng ngừa thêm với HBVac phức hợp với anti-HBs đa clôn ở chuột. Vì thụ thể Fc trên tế bào trình diện kháng nguyên có tính đặc hiệu loài, tiêm chủng HBVac phức hợp với anti- HBs của chuột làm HBVac kết tụ và tăng hấp thụ HBVac qua trung gian của thụ thể Fc trên tế bào trình diện kháng nguyên. Một nồng độ có ý nghĩa của đáp ứng kháng thể được tìm thấy ở chuột tiêm chủng với phức hợp, anti- HBs tăng một cách ý nghĩa sự hấp thụ HBsAg bằng đại thực bào phúc mạc và gia tăng các tế bào đuôi gai có nguồn gốc tuỷ xương. Đại thực bào được ủ với phức hợp có khả năng tăng sinh tế bào T từ chuột được tạo miễn dịch HBsAg. Hơn nữa, các tế bào lách ở chuột tiêm chủng với phức hợp được kích thích với HBsAg tạo ra nhiều IFN-γ và IL-2 hơn chuột được tiêm chủng với HBVac đơn thuần. Các kết quả này cho thấy phức hợp sinh miễn dịch làm tăng cường các đáp ứng miễn dịch tế bào và dịch thể đặc hiệu ở chuột và gợi ý mạnh mẽ rằng điều biến việc xử lý và trình diện protein vỏ ngoài của HBV có thể được dùng để phá vỡ dung nạp miễn dịch chống HBsAg. Bằng cách dùng phức hợp HBVac - HBIG như là vacxin điều trị thế hệ đầu tiên có khả năng bẻ gãy dung nạp miễn dịch ở người VG B mạn.

3.9. URSODEOXYCHOLIC ACID

Mật gấu có chứa ursodoxycholic acid được cho là ức chế hiện tượng chết tế bào theo chương trình bằng cách điều biến rối loạn màng ty thể.

4. LIỆU PHÁP CÓ NGUỒN GỐC THẢO DƯỢC

Dùng các dược thảo trong điều trị các bệnh về gan đã có một truyền thống lâu đời, đặc biệt trong y học đông phương. Thảo dược đã được dùng từ khoảng 2100 năm trước Công Nguyên vào đời nhà Hạ ở Trung Quốc vào thời Vệ đà ở Ấn Độ. Các báo cáo viết tay đã có từ 600 trước Công nguyên với Caraka Samhita ở ấn Độ và trong các bản thảo đầu tiên vào thời Đông Châu ở Trung Quốc đã được hệ thống hoá vào khoảng 400 năm trước Công nguyên.

Các thử nghiệm lâm sàng chưa đủ sức thuyết phục do các thử nghiệm thường không có nhóm chứng, không ngẫu nhiên cũng không được chuẩn hoá. Vài chất trích thảo dược có chứa các alkaloit gây rối loạn tiêu hoá và gây độc mạnh cho gan. Tuy nhiên, một số tinh chất này đã sản xuất các phân tử, thường là flavionoit có các đặc điểm đã được chứng minh như chống oxy hoá, chống xơ hoá, kháng vi rút, hoặc kháng ung thư.

4.1 TÁC DỤNG KHÁNG VI RUT

4.1.1. Phyllantus amarus

Liệu pháp thảo dược được nghiên cứu nhiều nhất là chất trích khô từ cây *phyllantus amarus*. Đây là một dược thảo có chứa phyllantin, hypophylantin và polyphenol có đặc điểm kháng virut . Cơ chế của thảo dược này dựa trên cơ sở như sau: chất trích từ P.amarus ức chế DNA polymerasen của virut VG woodchck và biểu hiện kháng nguyên bề mặt, nhiều protein kinase như protein kinase phụ thuộc cAMP, protein kinase C và kinase chuỗi nhẹ myosin trong gan của chuột. *In vitro*, chất trích của Phyllantus amarus còn ngăn chặn sự tương tác giữa HBsAg, HBeAg và các kháng thể tương ứng, anti-HBs, anti-HBe.

Cách chế biến: dùng cả cây và rễ đem tán bột rồi đóng thành viên 200mg. Liều dùng: 200mg, 3 lần một ngày, liên tiếp trong 30 ngày.

Tại ấn Độ, theo Thyagarajan và cs, Blumberg và cs 59% BN mất HBsAg khi khử lại 13-20 ngày khi chấm dứt điều trị so với 4% ở lô chứng. Tuy nhiên, một thử nghiệm sau đó cũng do nhóm này thấy mất HBsAg trong chỉ 20% BN và các tác giả khác đã không chứng minh được bất cứ đáp ứng nào của chất trích ở loài cây này. Các nghiên cứu trong động vật thực nghiệm nhiễm virut VG B vịt (DHBV) cũng không cho thấy bất cứ hiệu quả nào của chất trích Phyllatus amarus trên sao chép DHBV mà chỉ có một tác dụng trung bình trên sự sản xuất DHBsAg. Mặc dù thuốc được dùng khá nhiều ở Ấn Độ trong điều trị VG, nhưng hiện nay vẫn chưa có nghiên cứu lâm sàng có đối chứng nào chứng minh hiệu quả của thuốc trên HBV.

Tại Trung Quốc, nhiều báo cáo nhiều nghiên cứu lâm sàng đã được thực hiện, đa số nghiên cứu cho thấy chuyển đảo huyết thanh HBeAg xảy ra độ 36-60% BN. Nhưng trong một số nghiên cứu khác lại không thấy hiệu quả này. Weissberg và cs vào năm 1984, trong một nghiên cứu lâm sàng có đối chứng đa trung tâm được thực hiện với sự cộng tác của 5 viện nghiên cứu y khoa, điều trị bằng *P. amarus* gây chuyển huyết thanh HBeAg 59% và mất HBV DNA là 68%. Các khác biệt này có thể do nhiều yếu tố khác nhau: nhiều loài khác nhau (Phyllanthus có khoảng 350-750 loài khắp thế giới), khác biệt về trồng, thu hái và chế biến. Các hoạt chất trích ra từ Phyllanthus vẫn chưa chứng minh được đặc tính dược lý và khả năng kháng virut.

Tại Việt Nam , Lê Võ Định Tường dùng chiết xuất dưới tên là hepamarin điều trị cho BN trong 30 ngày, tỷ lệ sạch HBsAg là 7% và giảm nồng độ HBsAg là 19%. Thế nhưng đây là một nghiên cứu không đối chứng và không xác định tình trạng người mang HBsAg cấp hay mạn.

4.1.2.Oxymatrine

Oxymatrine là một alkaloit đã được xác định về mặt hoá học, được trích từ trái hoặc rễ của cây *Sophara flavescens Ait* hoặc *Radix sophorae subprotratae*, đã được

nghiên cứu thực nghiệm và lâm sàng từ lâu. Trong một báo cáo công bố vào năm 1997, sau 3 tháng điều trị, oxymatrine đã chuyển huyết thanh HBeAg 44,4% và thải trừ HBV DNA 45,3%. So với các kết quả từ một nhóm chứng điều trị bằng IFN-α, không thấy có khác biệt có ý nghĩa thống kê (bảng 13-6). Tác dụng này có vẻ cao hơn ở BN nhiễm HBV hoạt tính cao, tương tự với tác dụng trong nhóm chứng dùng IFN-α.

Bảng 13-6. Tỷ lệ chuyển huyết thanh của oxytrimane

	N	*Chuyển huyết thanh HBeAg*	*Thải trừ HBV DNA*
Oxymatrine	*64*	*28/63 (44,4%)*	*29/64 (45,3%)*
IFN -α	*52*	*23/50 (46,0%)*	*25/52 (48,0%)*

4.1.3. Liv.52

Một hỗn hợp các loại dược thảo được bày bán trên thị trường có tên Liv.52. Không ghi nhận được về các đặc điểm hoá lý và tác dụng dược lý của thuốc.

Fleig và cs (1997) thực hiện một nghiên cứu mù đôi có đối chứng trên 188 BN xơ gan do rượu trong thời gian là 2 năm. Tác giả nhận thấy thuốc không ảnh hưởng lên tỷ lệ tử vong ở nhóm xơ gan Child A và Child B, nhưng lại làm tăng tỷ lệ tử vong ở nhóm BN xơ gan Child C.

4.1.4. Sirô Hebevera

Hà Văn Ngạc và cs dùng sirô Hebevera do Trần Dũng, thuộc Trung tâm nghiên cứu phòng chống ung thư, pha chế, nghiên cứu trên 102 người nhiễm HBsAg bề ngoài khoẻ mạnh. Kết quả thu được là 59,8% thải trừ HBsAg với số ngày điều trị trung bình là 48,6 (7-210 ngày). 12,7% có nồng độ HBsAg giảm từ 25% trở lên so với nồng độ ban đầu. Các tác giả cũng kết luận nồng độ HBsAg ban đầu càng thấp tỷ lệ âm tính càng cao.

Tuy các tác giả không tìm hiểu xem 102 người nhiễm HBsAg này là nhiễm cấp hay mạn. Nhưng ở một nước có tỷ lệ HBV lưu hành cao như nước ta, đa số người mang HBsAg đều có thể ở trong tình trạng mạn tính. Theo kết quả được các tác giả công bố, thì đây là một loại thuốc lý tưởng nhất trong điều trị VG B mạn với thời gian điều trị ngắn nhất. Công trình này cần phải được đánh giá thêm qua một nghiên cứu ngẫu nhiên, có đối chứng.

4.2. TÁC DỤNG ĐIỀU BIẾN MIỄN DỊCH

Các polysaccharide được trích từ các thảo dược như Girifola umbellata (GU), Lantinus edodes, Mycobacteria phlei và Cordyceps sinensis. GU đã được dùng đơn độc hay phối hợp với vacxin HBV. Với vacxin HBV, một thử nghiệm hợp tác đã được thực hiện ở Trung Quốc vào năm 1997, trong đó polysacchride GU

40mg/ngày/20ngày, tiêm bắp với một thời khoảng không điều trị 10 ngày. Cùng thời gian đó, vacxin HBV (30μg), tiêm bắp nửa tháng. Chế độ điều trị được lặp lại 2 tháng sau, làm thành một liệu trình 3 tháng. Vào cuối đợt điều trị, tỷ lệ chuyển huyết thanh đối với HBeAg và HBV DNA lần lượt là 43% và 44% (bảng 13-7). Chuyển huyết thanh là 48% và 49% trong một nhóm chứng điều trị bằng Intron A, 11% và 9% trong một nhóm chứng khác dùng giả dược là glucose và glucurolactone. Nghiên cứu thực nghiệm cho thấy polysecharide GU có thể tăng hoạt tính gây độc tế bào của các tế bào đơn nhân máu ngoại vi chống lại các tế bào 2215, các tế bào HepG2 và K562. Trong tế bào đơn nhân máu ngoại vi, pholysaccharide tăng cường hoạt tính IL-2 và biểu hiện của thụ thể IL-2, giải thích phần nào cơ chế tác dụng lâm sàng của chúng.

Bảng 13-7. Tác dụng của polysaccharide Girifola umbellata (GU)

	N	HBsAg	HBeAg	HBV DNA
Polysaccharide GU + vacxin HBV	78	4 (5%)	34 (43%)	35 (44%)
IFN-α	64	4 (5%)	30 (48%)	31 (49%)
Glucurolactone	64	0	7 (11%)	6 (9%)

4.3. TÁC DỤNG KHÁNG VIÊM

4.3.1. Glycyrrhizin

Thuốc có nguồn gốc từ rễ cam thảo (Glycerіza glabra) , là những saponin và lectin đã được sunphát hoá, được sử dụng trên 20 năm ở Nhật để điều trị VG mạn, có tác dụng làm giảm nồng độ transaminase.

Dịch trích được chuẩn hoá (SNMC, Stronger Neo-Minophagen C) phải được dùng bằng đường tiêm. Khi dùng thuốc với liều 80mg mỗi ngày trong 2 tuần sẽ làm cho men AST và ATL trở về bình thường trong hơn 60% BN. Trong môi trường cấy tế bào, Yoshikawa (1997) nhận thấy thuốc cũng có tác dụng kháng viêm và ức chế miễn dịch thông qua việc ức chế tế bào CD4+ và ức chế quá trình gây độc tế bào qua trung gian của yếu tố hoại tử u (TNF). Takahara (1944) ghi nhận thốc có tác dụng ức chế quá trình glycosyl hoá và sialyl hoá kháng nguyên HBsAg và làm cho kháng nguyên này bị ứ lại trong bộ máy Golgi của tế bào gan bị nhiễm. Trong một nghiên cứu không đối chứng, thực hiện trên BN nhiễm HBV mạn HBeAg (+), Hayashi (1991) nhận thấy khi dùng glycyrrhizin 4 tuần, sau đó điều trị tiếp 4 tuần bằng interferon, có thể làm mất HBeAg trong 10/17 BN trong vòng 6 tháng. Tuy nhiên, các thông số về nồng độ virut chưa được ghi nhận.

4.3.2. Biphenyl Dimethyl Dicarboxylate (BDD, Nissel, Omitan, Biphendate)

BDD là một chất tổng hợp tương tự như Schisandrin C được phân lập từ quả của cây ngũ vị tử (Fructus schisandrae).

Từ những năm đầu thập niên 70, quả của cây Ngũ vị tử được phát hiện là có hiệu quả trong việc cải thiện chức năng gan và triệu chứng lâm sàng ở BN bị VG B mạn,

chủ yếu là làm giảm men ALT khoảng 80% trường hợp (so với nhóm chứng là 17%). Ngoài ra, BDD còn được ghi nhận có thể làm giảm bilirubin máu và AFP, làm tăng albumin và giảm gamma-globulin máu đồng thời cải thiện tình trạng viêm và hoại tử trên mô học.

Bao và cs đã chứng minh thuốc có tác dụng bảo vệ gan qua thực nghiệm trên chuột gây VG bằng CC14. Thuốc cũng có vai trò bảo vệ gan trong các trường hợp VG thực nghiệm trên chuột do D-galactosamine, thioaacetamine và prednisolone liều cao. Cơ chế bảo vệ gan của thuốc có liên quan đến sự ức chế quá trình peroxid hoá lipit và sự gắn kết đồng hoá trị của chất chuyển hoá CC14 vào thành phần lipit của tiểu thể. Ngoài ra, thuốc còn có khả năng gia tăng hoạt tính của các hệ thống men khử độc ở gan như cytochrome p-450, NADPH-cytochrome C reductase, aminopyrine demethylase và beno (a) hydroxylase.

Độc tính và tác dụng phụ của thuốc rất ít, gồm mệt mỏi, đau bụng, chán ăn, rối loạn tiêu hoá (tương tự như giả dược). Tuy nhiên, sau khi ngưng thuốc khoảng 1-6 tháng, một số BN có hiện tượng tăng men gan trở lại và được khuyến cáo là nên tiếp tục điều trị với thời gian dài hơn khoảng 6-12 tháng.

Dạng viên nén chỉ hấp thu qua đường tiêu hoá khoảng 30%, do đó từ năm 1983, một dạng chế phẩm mới là viên nang với sinh khả dụng cao giúp giảm được liều điều trị chỉ bằng 1/3 liều trước kia.

4.3.3. Silymarin

Là một dẫn xuất từ cây kế (Silybum marianum), trong thành phần có chứa các flavonoit silybinin, sylidianin, silychristin. Dược thảo này đã được dùng từ thế kỷ thứ tư trước giáng sinh và trở thành một dược phẩm chuyên điều trị bệnh gan mật ở Châu âu từ thế kỷ thứ XVI và được phục hồi ở các nước Trung Âu vào cuối thập niên 1960.

Nghiên cứu ở môi trường cấy tế bào và ở súc vật thí nghiệm, thuốc có tác dụng bảo vệ tế bào gan và gần như không có độc tính. Trong nhiều nghiên cứu in vitro cho thấy thuốc có tác dụng cải thiện tỷ lệ tử vong ở các trường hợp bệnh lý gan cấp do độc chất (rượu, nấm, amanita phallôides). Các nghiên cứu in vitro trên các BN VG mạn hiện đang được tiến hành.

4.3.4. BicycloLAM

BicycloLAM là một hợp chất tổng hợp mới có hoạt tính bảo vệ gan chống lại các chất hoá học gây độc gan. Trong một thử nghiệm có đối chứng, mù đôi và ngẫu nhiên, tỷ lệ ALT bình thường ở các BN được điều trị bằng BicycloLAM tương tự với BDD, nhưng có tác dụng nhiều hơn trong việc hạ thấp aminotransferase huyết thanh. Nghiên cứu sơ bộ cho thấy điều trị bicyloLAM có thể thải trừ HBeAg và HBV DNA huyết thanh trong 34 và 47% BN. Thế nhưng kết quả cuối cùng chưa được công bố.

4.4. TÁC DỤNG CHỐNG XƠ

Trong những năm gần đây, nhiều tác giả quan tâm đặc biệt về việc dùng thuốc y học cổ truyền để điều trị các bệnh xơ trong đó có xơ gan. Hợp chất 861 (Cpd 861), gồm 10 dược thảo với Salvia miltiorrhiza là thành phần chính đã được nghiên cứu bởi Wang và cs. Trong xơ gan ở chuột thực nghiệm,lượng collagen toàn bộ (kiểu I, III và V) in vitro giảm xuống khi dùng Cpd 861. Trên các tế bào hình sao của gan được nuôi cấy, Cpd 861 gây ức chế đáng kể mRNA đối với collagen kiểu I, III, V và TGF-α. Đồng thời, Cpd 861 làm giảm thoái biến chất cơ bản ngoại vi bằng cách tăng collagenase mRNA và hoạt tính enzym. Cpd 861 cũng ức chế biểu hiện của yếu tố ức chế mô metalloproteinase. Trong một nghiên cứu mở trên 2.000 BN cho thấy cải thiện các triệu chứng trong 83% và bình thường hoá ALT trong 82% các trường hợp. Trong một nghiên cứu có đối chứng, 107 BN có bệnh liên quan đến HBV, hai lần sinh thiết được thực hiện trước và sau điều trị cho thấy tỷ lệ chuyển đảo xơ hoá sau 6 tháng điều trị là 78% trong giai đoạn S2, 82% trong giai đoạn S3 (tiền xơ gan) và 75% trong S4 (xơ gan giai đoạn đầu), đánh giá theo hệ cho điểm và chia đoạn cải tiến của Scheuer và Chevalliver. Cùng lúc đó, hiện tượng viêm và hoại tử cũng giảm đáng kể. Trong hệ nuôi cấy tế bào gan hình sao, hiện tượng ức chế tế bào theo chương trình giảm xuống sau khi dùng Cpd 861 và ngược lại, các tế bào gan lại tăng sinh. Điều này cho thấy xơ gan liên quan đến HBV trong giai đoạn sớm có thể chuyển đảo bằng Cpd 861.

Ngoài ra, còn rất nhiều thảo dược khác đã được dùng điều trị VG B mạn như picroliv, trích từ rễ cây Picrorhiza kurroa, có tác dụng chống oxy hoá, giải độc gan; TJ-9, thường được kê đơn ở Trung Quốc với tên là xiao-chai-hu-tang và ở Nhật là sho-saiko-to; chiết xuất từ nhiều dược thảo khác nhau, tác dụng trên người VG B man, nhất là người bị xơ gan; daphnoretin, trích từ *Wilkstroemia indica* có tác dụng hoạt hoá protein kinase C. Viên Haina (chiết xuất từ cây ca gai leo, *Solanum hainanese Hace)* được Trịnh Thị Xuân Hoà cho là có tác dụng chống viêm và xơ hoá.

5. VACXIN DNA

Tiêm chủng qua trung gian DNA bao gồm việc tiêm bắp hay tiêm dưới da các vật truyền biểu hiện DNA mã hoá các chuỗi mã protein sinh miễn dịch mong muốn dưới sự kiểm soát của một gen khởi đầu thích hợp. Sau đó, các peptit này được biểu hiện trên bề mặt tế bào trong các phân tử phức hợp phù hợp tổ chức chính (PHPHTTC). Vacxin DNA đã được thử nghiệm ở trong nhiều động vật thực nghiệm loài vật khác nhau, như chuột, thỏ và mèo trong đa số trường hợp, có một đáp ứng miễn dịch kéo dài và mạnh ở mức độ tế bào B và T. Thật vậy, trong loài vật, tiêm chủng qua trung gian DNA đã được chứng minh gây các đáp ứng kháng thể và TBTGĐTB chống lại rất nhiều tác nhân gây bệnh, như cúm, HIV và virut gây bệnh dại.

Với sự phát triển của nhiều vacxin tiểu đơn vị và phụ gia VG B khác nhau, hiện nay phương pháp điều trị này có nhiều cải tiến. Tại viện Pasteur, một vacxin DNA

tiền S2/S dưới sự kiểm soát của một gen khởi đầu CMV đã làm phân giải hoàn toàn biểu hiện HBV ở chuột chuyển gen với tiền S2/s. HBsAg biến mất khỏi hệ tuần hoàn, sau đó mất phiên mã tiền S2/S 2,1, kb ở tế bào gan. Điều thú vị ở đây là không có hiện tượng viêm, sự ức chế này có thể chỉ được diễn ra ở mức độ phiên mã. Đến nay, tác dụng không gây độc tế bào chỉ gặp trong chuột chuyển gen và việc xác định tác dụng này ở người là rõ ràng cần thiết.

Tuy nhiên, dù hiệu quả ở người không có gì nghi ngờ, vacxin DNA chống HBV chưa được dùng ở người do mối lo ngại về tác dụng thường gặp khi dùng DNA tái tổ hợp, như vấn đề hoà nhập cũng như tác dụng đặc hiệu có thể gây đáp ứng miễn dịch ồ ạt với VG bạo phát xảy ra sau đó. Đáp ứng thể dịch đối với vật truyền DNA chứa các vùng S, tiền S2 và tiền S1 của HBV dưới sự kiểm soát của gen khởi đầu CMV (PCMV-S, PCMV-S2-S và PCMV-S!-S2-S) hoặc gen khởi đầu HBV nội sinh (PHBV-S2-S) được đánh giá trong chuột thực nghiệm. Một liều DNA duy nhất gây đáp ứng thể dịch kéo dài, mạnh và nhanh. Ở chuột C57BL/6 (H-2B), đáp ứng bình thường đối với tất cả 3 dạng của protein HBsAg, tiêm bắp PVMV-S sản xuất kháng thể antin-HBs đáng kể trong vòng 1 tuần, tiếp tục tăng lên trong nhiều tuần kết tiếp. Tiêm PCMV-S2-S tạo một đáp ứng rất sớm đối với các kháng nguyên tiền S2 và S. Tiêm PHBV-S2-S cũng tạo kháng thể đối với protein S2 và S, cho thấy gen khởi đầu này có chức năng trong cơ in vitro. Thất bại trong việc phát hiện kháng thể anti- tiền S1 khi tiêm PCMV-S1-S2-S có khả năng là do protein lớn bài tiết kém, còn ở bên trong tế bào. Tuy nhiên, sau 2 tuần tiêm chủng, tất cả con vật được tiêm chủng có chuyển huyết thanh và có nồng độ kháng thể cao hơn 100.IU/ml anti-HBs (10mIU/ml được xem là đủ ở người bảo vệ chống lại nhiễm virut tự nhiên). Đáp ứng kháng thể này tiếp tục tăng lên trong những tháng sau đó.

Chuột chuyển gen có thể biểu hiện chủ yếu HBsAg trong gan, được nghiên cứu. Các chuột chuyển gen tiết một lượng lớn HBsAg vào trong huyết thanh mà không sản xuất kháng thể và chúng có mô học gan bình thường. Dùng DNA plasmid PVMV-S2-S, kháng thể anti-HBs trong chuột chuyển gen này sinh ra, vì hậu quả của đáp ứng miễn dịch, nồng độ HBsAg lưu hành giảm xuống. Ở những con vật được tiêm chủng, một vài con thải trừ hoàn toàn kháng nguyên 4 tuần sau một liều tiêm DNA plasmid duy nhất và sự thải trừ này cũng tương quan với sự giảm hoặc biến mất của HBV mRNA. Hơn nữa, mô học gan ở các con chuột tiêm chủng, không thấy bất thường. Các phát hiện này cho thấy tiêm chủng bằng cách thay đổi kiểu trình diện kháng nguyên, có khả năng bẻ gãy sự dung nạp tế bào B và T đối với HBsAg và kiểm soát biểu hiện chuyển gen qua cơ chế không gây bệnh tế bào ở gan, dẫn đến khả năng thiết kế các phương cách điều trị nhiễm HBV mạn hiệu quả hơn.

Chủng ngừa DNA ở các con vật lớn như sóc đen có vẻ ít hiệu quả và cần tiêm một lượng lớn plasmid DNA. Để tăng cường hiệu quả, vacxin DNA có thể dùng chung với pLAMid biểu hiện cytokin với mong muốn làm tăng đáp ứng miễn dịch tế bào đặc hiệu và cải tiến hiệu quả bảo vệ của vacxin DNA đặc hiệu WHV.

Hiện nay đã có một số nghiên cứu thực nghiệm ở người:

Trong một nghiên cứu ở Pháp do Pol và cs thực hiện vào năm 1994, 32 BN được cho 3 liều vacxin VG B (GenHevac B-20 µg của HBsAg và protein tiền S2) với phụ gia aluminium hydroxide. Theo dõi 3 tháng sau khi chủng, mức độ HBV DNA trở nên không phát hiện được trong 10 BN (31%) và giảm 4 (13%). Sau đợt điều trị vacxin từ 6-9 tháng, IFN được dùng ở tất cả BN trong nghiên cứu. Nhìn chung, tiêm chủng đơn thuần được cho là ức chế sao chép virut trong 44% BN trong nghiên cứu.

Vitiello và cs vào năm 1995 đã tiến hành một nghiên cứu khác nhằm đánh giá các khả năng của một vacxin điều trị trên cơ sở lipopeptit. CY-1899 (Cytel Corp, La Jolla, CA) là một lipopeptit được thiết kế nhằm tạo ra một đáp ứng tế bào T gồm có 3 phần gắn kết đồng hoá trị. Đó là một peptit dùng như một biểu vị đối với tế bào T gây độc tế bào, một biểu vị tế bào T giúp đỡ và một đuôi của đầu tận cấu trúc trong hai phân tử axit palmitic. Các biểu vị tế bào T chỉ đặc hiệu đối với các BN có HLA 2.1 có trong khoảng 40% cộng đồng người Mỹ. Nghiên cứu vacxin CY-1899 bị giới hạn ở các BN có kiểu HLA này. Trong thử nghiệm giai đoạn I, thuốc được dung nạp tốt và đáp ứng TBTGTB đặc hiệu HBV được sinh ra. Tuy nhiên, đến nay không có đáp ứng lâm sàng kéo dài đối với CY-1899 được báo cáo. Tác nhân hiện được thử nghiệm đa trung tâm ở Mỹ.

Gần đây, một vacxin VG B được thiết kế bằng cách đặt một vacxin DNA trần mang HBsAg vào trong *Salmonerlla typhimurium*. Vacxin này được dùng đường uống ở chuột cho thấy một đáp ứng tế bào mạnh nhưng đáp ứng thể dịch khá yếu khi so với vacxin HBsAg tái tổ hợp, làm cho vacxin này trở thành ứng viên tốt như một vacxin điều trị cho những người mang HBV mạn do đáp ứng miễn dịch thể dịch có thể gây các tác dụng có hại như bệnh huyết thanh và bệnh ứ đọng phức hợp miễn dịch.

6. CHÉP TẾ BÀO TẠO HUYẾT

Ở BN nhiễm HBV mạn, nếu tình trạng sao chép HBV giảm xuống, tỷ lệ sống sẽ được cải thiện. Thật vậy, tiên lượng tốt do mất HBeAg và nếu mất cả HbsAg sẽ tốt hơn nữa. Tuy nhiên, thải trừ HBsAg huyết thanh trong phát triển tự nhiên của nhiễm HBV mạn thường hiếm: 0,4-2% một năm ở người da trắng và 0,1-0,8 ở người Trung Quốc. Ngay cả khi điều trị với IFN, sự thải trừ HBsAg toàn bộ chỉ xảy ra khoảng 6% ở BN điều trị với IFN-α cao hơn chuyển huyết thanh tự nhiên ở nhóm chứng (7,8% so với 1,8%, p=0,001).

Các cơ chế gây suy giảm đáp ứng miễn dịch đối với HBV ở các BN nhiễm virut mạn cần được làm rõ để hiểu bệnh sinh VG mạn và phát triển các chiến lược điều trị miễn dịch nhằm chấm dứt hoặc ức chế nhiễm virut. Sự hiểu biết xuất phát từ các trường hợp lâm sàng ghép tế bào tạo huyết alen lặn. Trong quá trình này, tuỷ xương người nhận bị huỷ bỏ bởi liệu pháp hoá học liều cao, hoặc liệu pháp phóng xạ, sau đó được chuyển tuỷ xương người cho. Quả thực, nếu dung nạp miễn dịch là yếu tố chủ

yếu trong việc phát triển tình trạng tồn tại virut, sau đó việc thay thế tuỷ xương BN bằng tế bào người cho có miễn dịch chống HBV có khả năng giúp thải trừ virut ở người nhận nhiễm HBV mạn. Thực vậy, sự thải trừ được báo cáo sau khi ghép tế bào tạo huyết từ người cho có miễn dịch HBV, có khả năng chuyển giao miễn dịch tế bào và cả miễn dịch dịch thể.

Gần đây, Lau và cs đã chứng minh thải trừ HBsAg huyết thanh ở người nhiễm HBv mạn sau ghép tế bào tạo huyết alen lặn kết hợp với ghép tuỷ anti-HBs(+). Hơn nữa, các tác giả cũng chứng minh thải trừ HBsAg chỉ xảy ra với tuỷ xương người cho anti-HBs và anti-HBc(+) mà không xảy ra với tuỷ xương người cho chỉ dương với anti-HBs. Tất cả những người nhận ghép tế bào tạo huyết alen lặn bị bùng phát VG trước khi chuyển huyết thanh HBsAg với một thời gian trung vị 3,3 tháng (1,6-24 tháng) sau ghép tế bào tạo huyết. Bạch cầu đa nhân người cho được xét nghiệm cho thấy một đáp ứng tế bào T $CD4^+$ đặc hiệu HBcAg, tuy không đáp ứng với HBsAg. Vào lúc theo dõi sau cùng, đa số người nhận có đáp ứng tế bào T $CD4^+$ đặc hiệu HBcAg và không có người nào có đáp ứng với HBsAg. Xét nghiệm PCR đối với nhiễm sắc thể Y trong các tế bào T $CD4^+$ ở người nhận thấy có nguồn gốc của người cho. Trong quá trình bùng phát VG trước khi xảy ra chuyển huyết thanh HBsAg, các tế bào T $CD4^+$ của người nhận tăng biểu hiện các dấu ấn hoạt hoá (CD25, HLA-DR) và tế bào T ký ức (CD45RO) so với lần theo dõi trước đây. Do đó, chuyển huyết thanh HBsAg sau khi ghép tế bào tạo huyết alen lặn kết hợp với hoạt hoá tế bào lympho T $CD4^+$ đặc hiệu HBcAg của người cho, chứng tỏ tế bào T $CD4^+$ đặc hiệu HBcAg người cho "trợ giúp tế bào T liên phân tử" đối với chuyển huyết thanh HBsAg.

Các phát hiện thú vị khác xảy ra khi ghép tế bào tạo huyết tự thân. Một BN nhiễm HBV mạn và ung thư bạch huyết đã thải trừ HBV huyết thanh sau liệu pháp hoá học liều cao và truyền tế bào mầm máu ngoại vi, theo một cơ chế chưa rõ. Liệu pháp hoá học liều cao và truyền tế bào ngoại vi tự thân có thể bẻ gãy sự tái tạo dung nạp HBV, một hiện tượng tương tự với bệnh ký chủ- mầu ghép tự thân. Một khả năng khác là dùng yếu tố kích thích quần lạc bạch cầu hạt để động viên tế bào mầm ngoại vi góp phần loại trừ virut. Thải trừ HBsAg xảy ra 33 tháng sau khi thực hiện phương pháp. Loại trừ muộn cũng đã được báo cáo ở BN được điều trị với IFN-α.

Việc ghép tế bào tạo huyết, khi điều trị nhiễm HBV mạn, bị ức chế bởi bệnh suất, tử suất và chi phí cao. Việc cải tiến phương pháp này, như dùng các tế bào lympho anti-HBs có thể giảm các biến chứng. Gần đây, người ta đã chứng minh là chuyển giao miễn dịch cho người nhận đối với HBsAg có thể cảm ứng qua miễn dịch người cho tuỷ xương hoặc ghép các tế bào lympho máu ngoại vi. Điều hy vọng là sự hiểu biết tốt hơn các cơ chế nền của phương pháp chuyển giao miễn dịch cho người nhận có hoặc không có dùng các chất tương tự nucleosit giúp thiết kế các chiến lược điều trị tốt hơn trong tương lai đối với nhiễm HBV mạn (nhất là trong giai đoạn dung nạp miễn dịch).

Đây là một lựa chọn tốn kém và có nhiều tác dụng phụ. Gần đây, một trường hợp tử vong đã được báo cáo khi dùng phương pháp chuyển giao miễn dịch này bằng cách chuyển tuỷ xương anti-HBs(+) vào người nhận HBsAg (+). Nguyên nhân của trường hợp tử vong này còn đang bàn cãi hoặc là do liên quan trực tiếp đến liệu pháp này, hoặc là do tái hoạt HBV.

7. CÁC PHƯƠNG PHÁP THỰC NGHIỆM KHÁC

Một số phương pháp mới trong liệu pháp VG B hiện nay đang được phát triển (bảng 13-6). Nhiều phương pháp trong số này dựa vào các tiến bộ gần đây nhất trong sinh học phân tử, sự phối hợp các chất kháng virut và các thuốc điều biến miễn dịch và vacxin liệu pháp.

7.1. PHỐI HỢP CÁC CHẤT TƯƠNG TỰ NUCLEOSIT

7.1.1. LAM và famciclovir

Lau và cs đã chứng minh liệu pháp phối hợp LAM và famciclovir có hiệu quả hơn đơn điều trị LAM trong ức chế sao chép HBV. Ngoài ra, liệu pháp phối hợp ức chế tổng hợp HBV cccDNA là thế bình thường để kháng với LAM.

7.1.2. LAM và adfovir dipivoxil

Perrillo và cs thực nghiệm trên 5 BN nhiễm HBV mạn kháng LAM sau 9-19 tháng điều trị. Trong đó, 4 BN kháng thuốc sau ghép gan và BN còn lại có xơ gan ổn định (Child A). Trong mỗi trường hợp, kháng thuốc được xác định bởi một hoặc nhiều đột biến gen HBV DNA polymerase và cùng với bệnh gan nền hoạt động. Các BN được điều trị với adefovir dipivoxil với liều 5-30mg mỗi ngày. Nồng độ HBV DNA thuyên giảm từ 2-4 $\log_{10}$ ở 4 trường hợp và trường hợp thứ 5 có HBV DNA (-) khi đo bằng PCR định lượng sau khi tái ghép gan kết hợp với HBIg. Sự cải thiện về mặt virut học cùng với nồng độ ALT ổn định hoặc giảm xuống ở 4 BN. Ức chế HBV DNA kéo dài trong thời gian điều trị trung bình 13 tháng (11-15 tháng), gồm cả một BN đã ngưng điều trị LAM. Các thay đổi nhẹ trong chức năng thận thấy trong quá trình điều trị ở đa số BN nhưng không cần phải ngưng thuốc sớm. Nghiên cứu này chứng tỏ adefovir dipivoxil có thể là một liệu pháp hiệu quả đối với các HBV đột biến kháng LAM cũng như HBV hoang dại.

7.2. OLIGONUCLEOTIT NGƯỢC HƯỚNG

Oligonucleotit ngược hướng được phát triển trong điều trị VG B là các mảnh ngắn của DNA bổ trợ cho HBV DNA, kháng virut bằng cách gắn kết vào HBV DNA theo một kiểu khá đặc hiệu và ức chế dịch mã RNA. Để có thể dùng oligonucleotit ngược hướng cho nhiều mục tiêu sinh học, vấn đề còn tồn tại là việc không thể đưa các phân tử này vào trong tế bào. Một giải pháp khả thi là dùng công nghệ gen để phân phối các phân tử qua các vectơ virut.

7.3. RYBOZYM ĐẦU BÚA

Rybozym đầu búa là các phân tử RNA ngắn có hoạt tính endoribonuclease có khả năng thoái biến RNA đích. RNA đích được xác định bằng các chuỗi mã cạnh sườn trên rybozym bổ trợ cho RNN đích. Rybozym đặc hiệu HBV DNA đã được thiết kế và được chứng minh biểu hiện hoạt tính chống virut in vitro, nhưng còn tương đối sớm trong việc phát triển kỹ thuật này.

Ngoài ra, liệu pháp gen cũng có nhiều hứa hẹn nhằm đưa các chất kháng virut vào các điểm sao chép của virut.

7.4. PROTEIN VIRUT ĐƯỜNG UỐNG

Protein virut đường uống (dưới tên EHT899) để điều trị cho những người VG B mạn sẽ bắt đầu nghiên cứu giai đoạn II tại Israel. Trong nghiên cứu giai đoạn I, đáp ứng khá thuận lợi ở 15 BN VG B mạn được điều trị bằng EHT899 đường uống trong 20 tuần. Điều trị đã làm giảm đáng kể nồng độ virut và men gan trong máu ở đa số BN, cùng với giảm tổn thương gan do HBV. Các kết quả này được cho là có tỷ lệ thành công vượt quá các phương pháp điều trị chuẩn khác. Giá thành của protein này lại khá thấp.

Uống protein virut có thể gây ức chế miễn dịch ở người mạn tính. Điều này có thể có tác dụng trị liệu vì phần lớn các tổn thương do nhiễm HBV mạn là do sự tấn công miễn dịch không thích hợp vào tế bào gan nhiễm HBV. Protein đặc hiệu HBV dùng đường uống được cho là làm giảm nhẹ tổn thương gan qua trung gian miễn dịch có hại, trong khi gia tăng miễn dịch kháng virut hiệu quả.

7.4.1. Phong toả đáp ứng miễn dịch có hại

BN có gan tiến triển là do đáp ứng miễn dịch của cơ thể gây tổn thương chứ không phải do virut. Mặc dù đáp ứng miễn dịch giết tế bào gan nhiễm virut, nhưng chính virut vẫn không bị thải ra khỏi cơ thể. Đáp ứng miễn dịch tiếp tục tấn công tế bào gan, tế bào gan cố gắng tự sửa chữa bằng cách thay thế tế bào bị tổn thương bằng mô sẹo xơ hoá. Tiến trình này dẫn đến xơ gan và các biến chứng khác đe doạ cuộc sống. Sự tấn công miễn dịch không ngơi nghỉ cũng gây sự tăng sinh các tế bào gan không lành mạnh khởi đầu phát triển UTTBG.

IFN alpha nhằm vào việc tăng cường hệ miễn dịch giúp tế bào dốc toàn lực tấn công virut. Thế nhưng bản thân virut VG B lại không gây bệnh. Vấn đề ở đây là dùng các protein virut ức chế sự tấn công miễn dịch.

7.4.2. Dung nạp niêm mạc

Cơ chế ức chế này, được gọi là dung nạp niêm mạc, đã được nghiên cứu trong các lãnh vực khác và được thử nghiệm như một liệu pháp điều trị khá hiệu quả ở một vài bệnh tự miễn. Dung nạp niêm mạc được tin là quá trình tự nhiên dự phòng một phản ứng miễn dịch đối với thức ăn. Khi cho BN VG B hoạt động ăn protein

virut với số lượng nhỏ, cơ thể BN trở nên dung nạp hoặc chấp nhận một số tế bào nhiễm virut, qua đó ức chế sự tấn công miễn dịch trên các tế bào gan nhiễm virut.

Liệu pháp dung nạp niêm mạc có thể không trừ tiệt căn VG B mạn. Thế nhưng, phương pháp sẽ giúp đáp ứng miễn dịch của BN VG mạn hoạt động thành người mang không triệu chứng và làm ngừng tiến triển của bệnh gan. Liệu pháp ảnh hưởng đến hệ miễn dịch, làm giảm hiện tượng viêm ở gan, việc kết hợp với một thuốc kháng virut như LAM có thể khá tốt do LAM làm ngừng sao chép virut.

7.5. IMINO-SUGARS

Chất ức chế imino-sugar (N-nolyl-deoxynojjrimycin, N-nonyl-DNJ) trong quá trình glycan gắn kết đầu tận N có hoạt tính kháng virut ở sóc đen thực nghiệm nhiễm HBV mạn. Khi nghiên cứu cơ chế tác dụng của hợp chất này, người ta phát hiện imino-sugar có thể ức chế bài tiết HBV mà không ức chế quá trình glycan gắn kết N. Tuy imino-sugar là chất ức chế glycosidase màng lưới nội bào tương, người ta chứng minh rằng imino-sugar vẫn còn hoạt tính kháng virut ở nồng độ không thể tác động lên chức năng glycosidase lưới nội bào tương.

7.6. VITAMIN B1

Gần đây, Wallace và Weeks đã báo cáo 3 trường hợp VG B mạn được điều trị với vitamin B1 (100mg, uống) đã cải thiện nồng độ ALT và HBV DNA huyết thanh. Trong mỗi trường hợp, phân tích thống kê cho thấy chức năng gan được cải thiện và nồng độ virut xuống thấp liên quan trực tiếp đến việc dùng vitamin B1.

Wallce và Weeks đã đưa ra các bằng chứng về vitamin B trong điều trị VG B mạn.

1. Vitamin B1 có tính kháng virut. TRong một cố gắng trắc nghiệm khả năng kháng virut HIV của nhiều hợp chất chứa sulfua, người ta đã phát hiện chỉ có thiamin disulfit làm giảm sao chép HIV in vitro.

2. Vitamin B1 có thể làm chậm và đảo ngược tình trạng tổn thương gan trong VG B mạn bằng cách giảm quá tải sắt. Các nhà nghiên cứu đã thấy có sự phối hợp giữa nồng độ sắt ở gan hoặc ở huyết thanh tăng lên với tỷ lệ cao của VG B mạn và đáp ứng kém đối với intereron. Thiamin cần thiết trong sự tạo thành dihydrolipoate, chất này có trách nhiệm loại sắt gắn kết với ferritin trong môi trường yếm khí ở pH trung tính. Thiếu hụt tương đối vitamin B1 làm dihydrolipoate không đủ để gắn kết và loại sắt ra. Thừa sắt và qua đó gây độc cho gan có thể khiến những người phơi nhiễm tiến triển đến nhiễm HBV mạn. Ngược lại, vitamin đủ hoặc thừa có thể làm tăng loại sắt bằng việc tạo thành dihydrolipoate, giúp gan ít bị tổn thương hơn.

3. Có bằng chứng dịch tễ cho thấy có liên quan giữa cộng đồng thiếu vitamin B1 và tần suất nhiễm HBV. Vitamin B1 là coenzym thiết yếu cho nhiều con đường biến dưỡng bao gồm phức hợp pyruvate dehydrogense, α-ketoacid decarboxylase và tổng hợp acetylcholin. Thiếu hụt vitamin B1 hiếm gặp ở Mỹ ngoại trừ những người nghiện

rượu mạn, những người này lại có tần suất VG B cao hơn cộng đồng chung. Thiếu hụt vitamin B1 khá phổ biến ở Đông Á, nơi mà việc cho vitamin vào gạo không được thực hiện và VG B là dịch lưu hành ở cộng đồng này.

4. Cũng có bằng chứng gián tiếp in vitro cho rằng vitamin B1 có tác dụng cải thiện trên tình trạng nhiễm HBV. Các nhà nghiên cứu Châu Á đã dùng siro vitamin B1 như một giả dược để so sánh hiệu quả tác dụng của interferon trên trẻ mang HBV mạn. Trong một nghiên cứ ở Trung Quốc trên trẻ mang HBV mạn, có một tỷ lệ tương tự (17% trên 18 tháng) mất HBV DNA ở cả hai nhóm, nhóm điều trị bằng interferon và nhóm dùng giả dược có vitamin B1 sau 12 tuần can thiệp. Trong một nghiên cứu độc lập, tỷ lệ của nhóm dùng giả dược có vitamin B1 có HBV DNA (-) còn cao hơn nhóm dùng IFN có điều trị trước với prednisone. Mặt khác, không có ai trong nhóm dùng giả dược có vitamin B1 biểu hiện bất cứ dấu hiệu tiến triển bệnh với bằng chứng aminotransferase tăng khi dùng vitamin B1 trong 6 tháng và một tháng theo dõi.

Tuy nhiên, phát hiện này cần được nghiên cứu sâu hơn để có một đánh giá đúng đắn.

8. TÓM TẮT

Sau đây là bản danh sách các hợp chất đã và đang phát triển trong điều trị VG B (bảng 13-8). Đây chỉ là thông tin về tình trạng thuốc ở Mỹ, đăng trên tờ báo Informed của Tổ chức VG B phi lợi nhuận, trên số báo phát hành vào ngày 13/9/2001.

Bảng 13-8. Các hợp chất đã và đang phát triển trong điều trị VG B

Tên thuốc	Cơ chế	Công ty	Tình trạng ở Mỹ
Interferons Bắt chước tự nhiên các chất miễn dịch chống nhiễm khuẩn sản xuất trong cơ thể			
IFN alpha-2b (intron A)	Điều biến miễn dịch	Shering-lough, Madison, NJ	FSA cho phép 1991
IFN khác: FDA cho điều trị HCV, Không điều trị HBV: Welferon (Glaxo), Rocheron (Roche), infergen (Amgen)			
CHẤT TƯƠNG TỰ NUCLEOSIT: Cạnh tranh với men DNA polymerase virut trong sao chép virut VG B			
LAMivudine, Epivir-HBV	Ức chế DNA polymerase virut	Glaxo Smith Knine	FDA cho phép 1998
Adefovir Dipivoxil	Ức chế DNA polymerase virut	Gilead Sciences, CA	Thử nghiệm giai đoạn III
Entecavir	Ức chế DNA polymerase virut	Bristol-Myers Squibb	Giai đoạn III
FTC (Coviracil)	Ức chế DNA polymerase virut	Triangle, RTP, NC	Giai đoạn III
DAPD (DXG)	Ức chế DNA polymerase virut	Triangle	Giai đoạn II

L-FMAU (Clevudine)	Ức chế DNA polymerase virut	Triangle	Giai đoạn II
L-dT	Ức chế DNA polymerase virut	Novirio, Boston, MA	Giai đoạn II
L-dC	Ức chế DNA polymerase virut	Novirio	Giai đoạn I/II
MCC-478	Tiền chất tương tự nucleosit	Eli Lilly, Indianapolis	Giai đoạn I, Đức
Fluoro-L và D nucleosit	Ức chế DNA polymerase virut	Pharmasset, GA	Tiền lâm sàng
Racivir (RCV)	Ức chế DNA polymerase virut	Pharmasset	Tiền lâm sàng
L-Fd4C (ACH-126, 443)	Ức chế DNA polymerase virut	Achillion, CT	Tiền lâm sàng
THUỐC KHÁNG VIRUT KHÔNG NUCLEOSIT			
XTL-001	Kháng thể đơn dòng người	XTL Biopharm, Israel	Giai đoạn II, Israel
IminoSugars (nonyl-DNJ)	Ức chế tạo nếp protein	Synergy, Edison, NJ	Tiền lâm sàng
CÁC THUỐC TĂNG CƯỜNG MIỄN DỊCH KHÔNG IFN: Tăng cường các tế bào miễn dịch chống nhiễm tế bào T và sản xuất IFN tự nhiên trong cơ thể			
Theradigm	Thuốc kích thích miễn dịch	Epimmune, CA	Giai đoạn II
Tymosin α -1(Zadaxin)	Thuốc kích thích miễn dịch	SciClone, CA	Giai đoạn II với LAM Thuốc mồ côi ở Mỹ Được phép ở 13 nước
Vacxin HBV DNA	Thuốc kích thích miễn dịch	Jefferson Center, PA	Tiền lâm sàng
VacxinpeS1S2, Hepagen	Thuốc kích thích miễn dịch	Medeva, Anh	Tiền lâm sàng
EHT899	Protein đường uống	Enzo Biochem, NY	Giai đoạn II, israel
HBV antigen	Dung nạp đường uống	Ora Gen, Philadelphia	Tiền lâm sàng
Điều trị sau phơi nhiễm và/hoặc sau ghép gan			
BayHep B	Globulin miễn dịch HBV	Bayer US, Pittburgh	FDA cho phép 1977
Nabi-HB	Globulin miễn dịch HBV	Nabi, Boca Raton, FL	FDA cho phép 1999
Anti-hepatitis B	Globulin miễn dịch HBV	Cangene, Canada	Giai đoạn III, Canada

Đây là một thời kỳ tiến triển nhanh, đầy hứng thú trong điều trị VG B. Lợi ích của vacxin VG B làm giảm tỷ lệ đáng kể tỷ lệ mắc HBV mới trong những năm sắp

tới. Việc dùng IFN-α đã tạo sự thuyên giảm kéo dài trong 30-40% BN nhiễm virut VG mạn. Các chất tương tự nucleosit có tác dụng ức chế HBV DNA polymerase, mà thuốc đầu tiên được cho phép ứng dụng trên lâm sàng là LAM. Ứng dụng LAM trong điều trị VG B mạn đã được xem là một đột phá mới mở ra một kỷ nguyên chất tương tự nucleosit. Hiện nay, nhiều tác nhân tương tự nucleosit khác (adefovir dipivixil, Entecavir. FTC, DAPD, L-FMAU, L-dC, MCC-478, Fluoro-L và D nucleosit, racivir, L-Fd4C...) đang được phát triển có hoạt tính kháng virut mạnh, không độc, hiệu quả đối với các BN còn lại, đang có nhiều hứa hẹn. Tuy nhiên, hiện vẫn chưa có một tác nhân nào có hiệu quả chắc chắn trên BN VG B mạn. Sau cùng, nhiều tác nhân và các kỹ thuật mới (theradigm, thymosin alpha-1, vacxin HBV DNA, vacxin tiền S1/S2, kháng nguyên HBV, EHT899, sẽ cho nhiều hứa hẹn trong tương lai. Ngoài ra, y học dân tộc cổ truyền đã và đang được nghiên cứu và ứng dụng điều trị nhất là ở các nước Châu Á.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Bùi Đại, Nguyễn Văn Âu, Nguyễn Trọng Chính, Hoàng Văn Diệu, Vũ Bằng Đình, Phạm Ngọc Đính, Nguyễn Kim Nữ Hiếu, Nguyễn Văn Mùi và Nguyễn Hoàng Tuấn. Chẩn đoán và điều trị bệnh truyền nhiễm. NXB Quân đội nhân dân, Hà nội 1998, 24s-67.

2. Main-J; Thomas-HC. Hepadnaviridae. Treatment of chronic hepatitis B. in Zuckerman AJ, Thomas HC, editors. Viral hepatitis.2nd ed. London. Churchill Livingstone; 1998: 227-36.

3. O'Brien-C; Moonka D. Antiviral Chemotherapy for Viral Hepatitis. In S. Specter editor. Viral hepatitis: Diagnosis, Therapy, and Prevention. Totowa, NJ. Humana Press Inc. 1999: 251-316.

4. Bùi Hữu Hoàng, Trần Thiện Tuấn Huy. Các điều trị khác trong VG virut. Trong viêm gan virut B: từ cấu trúc đến điều trị. Bộ môn nội, TĐHYDTP.HCM. 2000: 149-63.

5. Thyagarajian SP; Thyrunalasundari T; Subramanian S; Venkateswaran PS; Blumberg BS. Effect of Phyllantus amarus on chromic carriers of hepatitis B virut. The Lancet. 1998 Oct; 1: 764-766

6. Koff RS. Advances in the treament of chronic viral hepatitis. JAMA, Vol 282 No. 6 Aug.11,199.http:// hepatitis-central. Com/hcv/hepatitis/advances/treatment.

7. Schuppan - D; Jia-JD; Brinkhaus-B; Hahn-EG. Herbal Products for Liver Disease: A Therapeutic Challenge for the New Millennium. Hepatology, Vol 30 (4), October 1999: 1099-1104.

8. mehrotra R; Kulshreshtha DK; Goyal P; Patnaik GK; Dhawan BN. In vitro effect of phyllantus amarus on hepatitis B virut. Indian-J-Med-Res. 1991 Mar; 93: 71-3.

9. Blumberg BS; Millman I; Venkateswaran PS; Thyagarajian SP. Hepatitis B virut and primary hepatocellualar carcinoma: treament of HBV carriers with phyllantus amarus. Vaccine. 1990:8 Suppl: S86-S91.

10. Lock A.S.F. Therapy of hepatitis B. The American Association for the Study of Liver Diseases. Nov.1994: 147-161.

11. Capalbo-M; Palmisano-L; binino-F; Pellas-C; Maset-J. Intramuscular natural beta interferon in the treament of chronic hepatitis B: a multicentre trial. Italian Hepatitis B Study Group. Ital-J-Gastroenterol. 1994 Jun; 26(5): 238-41.

12. Wang BE. Treatment of chromic liver diseases with traditional Chinese medicine. J Gastroeenterol Hepatol. 1S (Suppl). 2000: E6-E70.

13. Wallace AE; Weeks WB. Thiamine treatment of chromic hepatitis B infection. Am J Gatrol, March 2001; 96(3): 864-8 [cited 2001 Apr 27]. Available from URL: http: //dispatch.mail-list. com/archives/hbv-research msg 02311.html.

14. Lau GKK. Use of immunomodulatory therapy (other than interferon) for the treatment of chromic hepatitis B virut infection. J Gastroenterol hepatol, 1S (Suppl). 2000: E46-E52.

15. Yao GB. Treatment of chromic hepatitis B in China. J Gastroenterol Hepatol, 1S (Suppl), 2000: E61-E66.

16. Lau GKK. Tsiang M; Hou J; Yuen ST; Carman WF, Zhang L; Gibbs C; LAM SK. Combination theraphy with LAMivudine and famciclovir for chromic hepatitis B-infected Chinese patients: a viral dynamics study. Hepatology 2000: 32: 394-399.

17. Vũ Bằng Đình, Nguyễn Trọng Chính, Nguyễn Kim Nữ Hiếu. Ảnh hưởng của levamisol đối với miễn dịch tế bào trên những bệnh nhân viêm gan B mạn tính hoạt động HBsAg. Y học thực hành. 1996, số 3 (320). tr 19-21.

18. Vũ Bằng Đình, Nguyễn TRọng Chính, Nguyễn Kim Nữ Hiếu, Nguyễn Ngọc Quang. Một số nhận xét về diễn tiến lâm sàng và thay đổi miễn dịch tế bào ở BNviêm gan B mạn hoạt động được điều trị bằng thymogen. Y học thực hành. 1996, số 4 (321), tr 1-4.

19. Hà Văn Ngạc, Phan Thị Phi Phi, Trần Dũng Sĩ, Hà Văn Mạo, Trần Thị Chính, Trương Thị Mộng Trang. Dùng thuốc sirô Hebevera điều trị cho những người bề ngoài khoẻ mạnh mang kháng nguyên bề mặt virut viêm gan B (HBsAg+). Y học thực hành. 1997, số 9 (339), tr 24-27.

20. Trịnh Thị Xuân Hoà, Nguyễn Văn Mùi, Nguyễn Anh Tuấn. Một số đặc điểm lâm sàng, siêu cấu trúc gan và hiệu quả bước đầu điều trị bệnh nhân viêm gan virut B mạn hoạt động bằng thuốc Haina. Kỷ yếu công trình NCKH chuyên ngành truyền nhiễm. Bệnh viện 103, Học viện Quân Y. Hà Nội 2001, tr 119.

21. Rodrigues CMP; Guangsheng F; Ma X; Kren BT; Steer CJ. A novel role for ursodeoxycholic acid in inhibiting apoptosis by modulating mitochondrial membrane perturbation. J. Clin Invest 1998; 101: 2790-2799.

22. Nguyễn Văn Nguyên, Đào Ngọc Bảo, Dương Xuân Nhương, Đỗ Khắc Hiếu, Nguyễn Thị Tỵ. Đánh giá bài thuốc từ mật gấu nuôi trong điều trị bệnh viêm gan mãn và xơ gan giai đoạn đầu. Chương trình KY-02. Học viện Quân Y 1994.

23. Lê Võ Định Tường, Nguyễn Đình Khán, Nguyễn Văn Khôi, Nguyễn Hào Quang, Thiệu Khắc Quang, Nguyễn Viết Thịnh, Bùi Trọng Hợp. Kết quả bước đầu nghiên cứu tác dụng của chế phẩm hepamin (bào chế từ cây diệp hạ châu đắng, Phyllanthus amarus) trên người mang virut viêm gan B. Y học thực hành. 1998, số 5 (348), tr 19-23.

24. Siegel F; Lu M; Roggendorf M. Coadministration of gamma interferon with DNA vaccine expressing woodchuck hepatitis virus (WHV) core antigen enhances the specific immune response and protects against WHV infection. j. Virol 2001 Jun; Jun; 75 (11): 5036-42.

25. Perrillo R; Schiff E; Yoshida; Statler, Hirsch; Wright; Gutfreund K; LAMy P; Murray A. Adeforir Dipivoxil fof the treatment of LAMivudine-resista nt hepatitis B mutants. Hepatology 2000; 32: 129-134.

26. Eren R; Ilan E; Nussbaum O; Lubin I; Terkieltaub D; Arazi Y; Moshe OB; Kitchinzky A; Berr S; Gopher J; Zauberman A; Galun E; Shouval D; Daudi N, Eid A; Jurim O; Magnius Lo; Hammas B; Reisner Y; Dagan S. Preclinical evaluation of two human anti-hepatitis B virus (HBV) monoclonal antibodies in the HBV-Trimera mouse model and in HBV chromic carrier chimpanzees. Hepatology 2000; 32: 588-596.

27. HBF drug watch for chromic hepatitis B. Update 9/13/2001. http://www hepb.org/drug watch. Html

28. Oral Viral Proteins. Informed. Newsletter of the Hepatitis B Foundation, 31, Fall 2000; 5

29. Mehta A; Carrouee S; Conyers R; Jordan R; Butters T; Dwek RA; Block TM. Inhibition of hepatitis B DNA replication by imino-sugars without the inhibition of the DNA poymerase: Therapeutic implications. hepatology 2001 2001 Jun; 33 (6): 1488-95.

30. Hepagene effecttive in difficult-to-treat hepatitis B patients. http: //www.pslgroup.com/dg/1592C2.htm.

31. Woo PC; Wong L; Zheng B; Yuen K. Unique immunogenicity of hepatitis B virus DNA vaccine presented by live- attenuated Salmonella typhimurium.

Chương 14
VIÊM GAN KỊCH PHÁT

Trang

1. KHÁI NIỆM SUY GAN TỐI CẤP, CẤP VÀ BÁN CẤP *405*
2. NGUYÊN NHÂN *407*
3. CƠ SỞ CỦA HỘI CHỨNG LÂM SÀNG *408*
4. SỰ LIÊN QUAN CỦA NHIỀU TÁC NHÂN VIRUT VG KHÁC NHAU *409*
4.1. Suy gan cấp do HBV *409*
4.2.. Suy gan cấp do HCV *409*
4.3. Suy gan cấp do HEV *410*
4.4. Suy gan cấp do HGV *410*
4.5. Suy gan cấp do nhiễm các virut khác *410*
5. XỬ TRÍ SUY GAN CẤP *410*
5.1. Bệnh não và phù não *410*
5.1.1. Cơ chế thần kinh phế vị *411*
5.1.2. Cơ chế gây độc tế bào *411*
5.2. Bệnh đông máu *413*
5.3. Hệ tim mạch *413*
5.4. Sử dụng N-Acetylcystein *414*
5.5. Sử dụng các chất co cơ tim *414*
5.6. Các biến chứng hô hấp *415*
5.7. Suy thận và các rối loạn biến chứng *415*
5.8. Nhiễm khuẩn khuyết *416*
5.9. Ghép gan và đánh giá tiên lượng *416*
5.10. Các can thiệp điều trị khác *416*
6. CÁC THIẾT BỊ CHỐNG DỠ GAN SINH HỌC NHÂN TẠO *417*
6.1. Thiết bị Demtriou *417*
6.2. Thiết bị Elad *417*
7. TIÊN LƯỢNG *419*
8. TÓM TẮT *420*
TÀI LIỆU THAM KHẢO *420*

1. KHÁI NIỆM VỀ SUY GAN TỐI CẤP, CẤP VÀ BÁN CẤP

Lucke và Mallory lần đầu đã mô tả VG gây tử vong do hậu quả của VG dịch tễ vào năm 1946. Họ phân biệt hai diễn tiến lâm sàng: cấp, gây tử vong nhanh chóng và bán cấp với một diễn tiến chậm hơn nhưng tiên lượng giữa hai thể bệnh đều xấu

ngang nhau. Sau này, năm 1970, Trey và Davidson mô tả suy gan kịch phát như "một bệnh có khả năng phục hồi, gây tổn thương gan trầm trọng, trong đó bệnh não do gan bắt đầu khoảng 8 tuần sau triệu chứng đầu tiên, và trước đó không có bệnh gan". Trong nhiều trường hợp có bệnh sử phù hợp với VG virut cấp, nhưng thường không đặc hiệu, khiến cho việc xác định thời gian khởi đầu bệnh khó khăn. Năm 1989, Gimson và cs mô tả "suy gan khởi đầu muộn" là thể bệnh não do gan phát triển trong khoảng thời gian 8 đến 24 tuần sau khi vàng da. Tuy nhiên, những nhà nghiên cứu ở Pháp đã đưa ra các định nghĩa khác dùng thuật ngữ "suy gan kịch phát" đối với các BN có bệnh não phát triển trong vòng 2 tuần sau bắt đầu vàng da và thuật ngữ "suy gan dưới kịch phát" để mô tả những người phát triển bệnh não từ 2 đến 12 tuần từ khi vàng da xuất hiện.

VG kịch phát là một bệnh cảnh hiếm gặp. Ở Mỹ, có khoảng 2000 trường hợp mỗi năm được chẩn đoán là VG kịch phát. Bệnh khởi phát đột ngột, tiến triển nhanh và tỷ lệ tử vong cao khiến cho VG kịch phát là bệnh cấp cứu tích cực.

Đây là nhóm BN có khởi đầu nhanh nhất của bệnh não nhưng lại có cơ may hồi phục tự nhiên tốt nhất. Đối với nhóm này, Williams, vào năm 1996, đã đề nghị một phân loại mới trong đó suy gan cấp được dùng như thuật ngữ chung có các nhóm phụ: tối cấp, cấp và bán cấp nhằm phản ánh các kiểu lâm sàng khác nhau, nguyên nhân và quan trọng nhất là tiên lượng bệnh (bảng 14-1).

- **Suy gan tối cấp**: gồm các BN phát triển bệnh não trong vòng 7 ngày sau khi vàng da. Đa số các BN có tình trạng nhiễm độc gan cấp do dùng quá liều acetaminophen, một số ít do VG A hoặc B cấp. Tiến triển đến bệnh não độ IV nhanh với phù não.

- **Suy gan cấp**: gồm những BN từ khi có vàng da đến biểu hiện bệnh não trong khoảng 8 đến 28 ngày. Có tỷ lệ phù não cao tương tự nhưng tỷ lệ sống sót thấp hơn.

- **Suy gan bán cấp**: gồm những BN từ khi có vàng da đến khi biểu hiện bệnh não từ 5-26 tuần. Các BN thường là VG kịch phát không A không B, không có tác nhân virut nào được xác định. Tuy phù não trong nhóm BN này thấp, một hậu quả xấu vẫn thường xảy ra.

Bảng 14-1. Sự xếp loại mới của suy gan cấp, trên cơ sở thời gian từ dấu hiệu đầu tiên của vàng da đến khi xuất hiện bệnh não, theo các nguyên nhân khác nhau (Theo O'Grady và cs).

Các kiểu lâm sàng suy gan cấp	Tỷ lệ % tối cấp (0-7 ngày)	Tỷ lệ % cấp (8-28 ngày)	Tỷ lệ % bán cấp (5-26 tuần)	Cộng %
VG A	55,2	31	13,8	100%
VG B	62,5	29	8,3	100%

VG không A, không B	13,6	38,8	47,6	100%
Các phản ứng thuốc đặc ứng	35,2	52,9	11,7	100%

2. NGUYÊN NHÂN

Sự khác biệt về địa lý dẫn đến khác biệt về nguyên nhân VG kịch phát. Tại một trung tâm chuyên khoa ở Anh, 75% BN VG kịch phát là do nhiễm độc acetaminophen, đa số là tự tử. Tại Ấn Độ, VG E có vai trò bệnh sinh quan trọng trong VG kịch phát KAKB, trong khi ở Nhật, VG B lại thường gặp hơn. Bảng 14- mô tả nguyên nhân và tiên lượng VG kịch phát ở 12 trung tâm ở Mỹ.

Bảng 14-2. Nguyên nhân và tiên lượng ở BN VG kịch phát (Mỹ)

	Số BN	Ghép gan đúng vị trí	Tỷ lệ sống sót tự nhiên
Acetaminophen	60	7	34
Các thuốc khác	34	17	7
VG B	30	19	4
Không xác định	43	26	11
VG A	20	7	8
Bệnh Wilson	18	17	0
VG tự miễn	17	5	4
Linh tinh	73	24	6
Cộng	295	122 (41%)	74 (25%)

Đối với nguyên nhân là VG virut, VG A là nguyên nhân hiếm gặp và có tiên lượng tốt hơn. VG B là nguyên nhân VG kịch phát hay gặp trên thế giới, nhất là vùng Viễn Đông. Các yếu tố virut học đặc hiệu virut VG B có thể thúc đẩy VG kịch phát bao gồm các thể đột biến, đồng nhiễm hoặc bội nhiễm với virut VG D và tái hoạt hóa virut VG B tự nhiên hay do dùng thuốc. Đối với virut VG C, đa số các nghiên cứu cho rằng virut này không gây VG kịch phát. Nhưng vai trò của VG C khá phức tạp: trong 2 báo cáo ở Pháp và Nhật, ghi nhận đồng nhiễm với VG C trong hơn phân nửa BN có VG B kịch phát. VG E, phổ biến ở Ấn Độ, đặc biệt gây VG kịch phát ở phụ nữ mang thai.

Bảng 14-3. VG virut cấp và suy gan kịch phát ở Mỹ

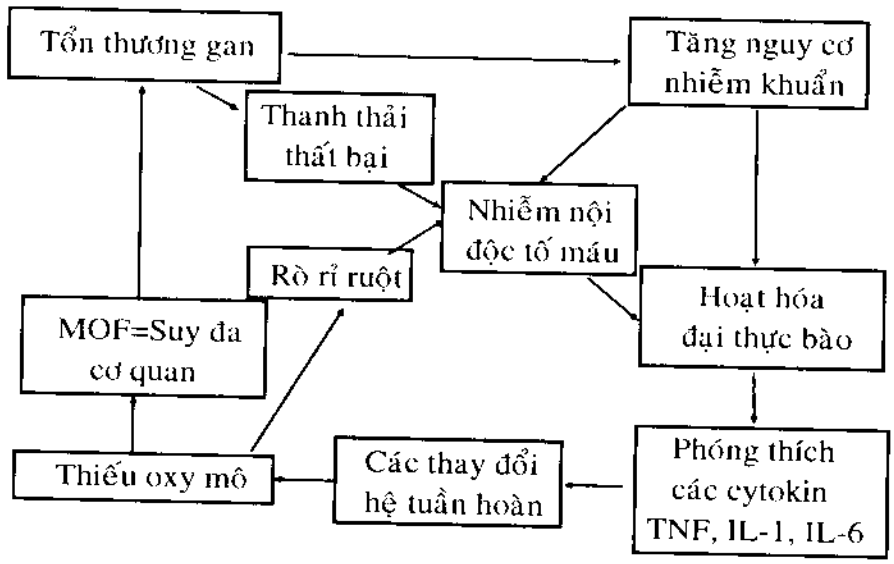
Kiểu	Tỷ lệ tử vong %	Ước tính số BN vàng da	Số tử vong
VG A	0,2-0,4	75.000	120-304
VG B	1,0-1,2	100.000	950-1220
VG KAKB	1,5-2,5	37.500	570-950
Cộng		212.000	1640-2474

3. CƠ SỞ CỦA HỘI CHỨNG LÂM SÀNG

Ngoài tình trạng **bệnh não do gan** cần được xác định, **bệnh đông máu** nặng được thấy khá đặc trưng trong suy gan cấp cùng với **vàng da**, khi bệnh tiến triển, có thêm **tổn thương thận** và bằng chứng **suy đa cơ quan** khác.

Các dấu hiệu và thể lâm sàng của bệnh phụ thuộc vào sự cân bằng giữa 3 yếu tố:

- Khả năng tái sinh của gan.
- Các hậu quả biến dưỡng bất lợi do khiếm khuyết một chức năng gan
- Ảnh hưởng toàn thân của các chất độc do tế bào gan hoại tử thải trừ vào huyết thanh.



Hình 14-1. *Chu kỳ lẩn quẩn trong bệnh sinh và cơ sở của tình trạng suy đa cơ quan trong VG kịch phát.*

Các triệu chứng và dấu hiệu tổn thương cơ quan thường được xem xét riêng biệt, nhưng phụ thuộc lẫn nhau và đều có nguồn gốc từ tổn thương gan ban đầu (hình 14-1). Hệ quả của tổn thương gan là sự bảo vệ ký chủ đối với nhiễm virut bị tổn thương nghiêm trọng và nhiễm vi khuẩn thứ phát, có nhiễm nội độc tố trong máu, hoạt hóa đại thực bào, cùng với sự phóng thích cytokine và yếu tố hoại tử u. Hậu quả là thiếu oxy mô và tổn thương một số cơ quan, cũng như đối với ruột, và làm gan bị tổn thương thiếu máu thêm.

4. SỰ LIÊN QUAN CỦA NHIỀU TÁC NHÂN VIRUT VG KHÁC NHAU

Bất cứ virut nào gây VG cấp đều có khả năng làm tăng nguy cơ kịch phát. Các tác nhân virut gây suy gan cấp liên quan đến tần suất nền của nhiễm virut trong mỗi nước riêng biệt. VG A kịch phát thường gặp ở những nước đông dân và hệ thống vệ sinh kém, nguy cơ kịch phát tăng theo tuổi. VG B hay gặp ở vùng Viễn Đông nơi tỷ lệ người mang virut VG B cao.

4.1. SUY GAN CẤP DO HBV

Trong suy gan cấp liên quan đến HBV, sao chép virut thường ngưng khi bắt đầu có biểu hiện lâm sàng. Kháng nguyên bề mặt được thải trừ nhanh chóng, và sự hiện diện kháng thể IgM anti-HBc huyết thanh có thể là dấu ấn nhiễm virut duy nhất.

Những người nam đồng tính có nguy cơ phát triển VG B kịch phát nhiều hơn mà nguyên nhân đến nay vẫn chưa được hiểu rõ. Các trường hợp VG kịch phát hay xảy ra trong các nhóm tiêm chích ma túy và trong nhóm bạn tình của họ. Đồng nhiễm virut VG D và HBV và bội nhiễm virut VG D trên người mang HBV thường có diễn tiến suy gan cấp. VG B kịch phát cũng có thể phát triển ở các BN có tình trạng HBV tái hoạt sau khi điều trị ức chế miễn dịch.

Sự liên quan giữa các chủng HBV đột biến (đột biến tiền lõi) với suy gan cấp là chủ đề của nhiều báo cáo khá mâu thuẫn. Carman và cs là những người đầu tiên chứng minh đa số BN VG B kịch phát có HBeAg(-) bị nhiễm với virut đột biến tiền lõi, trong khi các BN có HBeAg(+) bị nhiễm với virut nguyên sinh. Suy gan cấp gây nên bởi các virut đột biến tiền lõi có lẽ do truyền nhiễm bởi virut đột biến này hơn là một đột biến nhanh của một virut nguyên sinh gây nhiễm. Tuy nhiên, trong một số các nghiên cứu khác lại không thấy có sự kết hợp giữa nhiễm virut đột biến và VG có diễn tiến kịch phát.

4.2. SUY GAN CẤP DO HCV

Về VG C, trong một loạt BN đáng kể suy gan cấp ở các nước phương Tây, các trường hợp nhiễm HCV không có hoặc hiếm gặp, tuy có vài báo cáo riêng lẻ đã được ghi nhận. Tuy nhiên, ở Nhật Bản hơn phân nửa BN suy gan cấp hoặc bán cấp trong một đợt dịch đã có bằng chứng nhiễm VG (HCV). Trong một đợt dịch khác ở Nhật Bản, nhiễm virut phối hợp có HCV RNA trong một số BN suy gan cấp do HBV và thường có tiên lượng xấu. Kinh nghiệm ở Pháp về nhiễm virut phối hợp cũng tương tự, với gần phân nửa BN HBsAg(+) có suy gan cấp trong một đợt dịch có HCV RNA phát hiện được trong huyết thanh. Trong một nghiên cứu ở Đài Loan, HCV RNA được phát hiện trong 40-50% các trường hợp VG virut kịch phát.

4.3. SUY GAN CẤP DO HEV

VG E thường gặp hơn ở những nước cận nhiệt đới và thường có tử vong cao ở phụ nữ mang thai. Tuy nhiên, một nghiên cứu gần đây do Sallie và cs đã chứng minh virut VG E có một tỷ lệ nhỏ trong các trường hợp VG đơn phát trong đó không có bệnh sử đi du lịch các nơi trên thế giới.

4.4. SUY GAN CẤP DO HGV

Nhóm virut GB được mô tả gần đây và VG G có vài đồng nhất đối với flavivirut (đặc biệt là VG C) gây VG virut không A-E kịch phát, vẫn chưa được xác định. Trong một nghiên cứu ở Nhật, 3 trong 6 trường hợp suy gan cấp (loại bán cấp và chưa rõ nguyên nhân) cho thấy các tín hiệu dương về sự hiện diện của bộ gen GBV-C trong huyết thanh. Phân tích trình tự nucleotit xác định các tín hiệu này có nguồn gốc từ một trình tự GBV-C.

4.5. SUY GAN CẤP DO NHIỄM CÁC VIRUT KHÁC

Các nhiễm virut khác đôi khi gây ra suy gan cấp bao gồm nhiễm virut cytomegalovirut, Epstein-Barr, herpes simplex, coxsackie B và echovirut. Gần 50 trường hợp VG kịch phát gây nên bởi herpes simplex đã được báo cáo, bệnh khá trầm trọng với hơn 90% tử vong. Cả hai kiểu 1 và kiểu 2 của herpes virut đều có thể bệnh này, nhưng kiểu 2 thường gặp ở phụ nữ trong 3 tháng cuối của thai kỳ. Gần đây, herpes virut kiểu 6 đã được báo cáo gây VG kịch phát.

Tại Anh, tỷ lệ tất cả các trường hợp suy gan kịch phát trong đó nguyên nhân là virut chiếm tỷ lệ gần 30%, với hơn phân nửa những trường hợp này có virut VG huyết thanh âm tính. Tại Pháp, tỷ lệ suy gan cấp do virut cao hơn, HBV là một tác nhân virut chính. Ở Mỹ, số liệu cũng tương tự, với VG virut chiếm 62% các trường hợp. Trong nhiều trường hợp, không có tác nhân VG virut đặc hiệu nào được xác định (như VG A, B, C, D, và E âm tính), dù dự đoán lâm sàng vẫn là tổn thương do VG virut.

5. XỬ TRÍ SUY GAN CẤP

Điều trị tập trung vào việc nâng đỡ tích cực các cơ quan bị suy nhằm cung cấp môi trường tối ưu cho quá trình tái tạo gan; đối với các trường hợp chờ ghép gan, nhằm duy trì tình trạng lâm sàng của BN cho đến khi có thể nhận được cơ quan của người cho.

5.1. BỆNH NÃO VÀ PHÙ NÃO

Bệnh não do gan do tích tụ các toxin gây tổn thương chức năng thần kinh và tổn thương hàng rào máu–não. Sự dẫn truyền thần kinh với sự gia tăng axit γ-aminobutyric (GABA) liên quan trong bệnh sinh, tuy các đồng vận sinh GABA

không tăng lên và số lượng và ái lực của các thụ thể GABA bình thường. Các nghiên cứu gần đây ở thú vật cho thấy dẫn truyền thần kinh kích thích sinh GABA có thể tăng lên bởi sự hiện diện của nồng độ tăng cao của chất đồng vận benzodiazepine như diazepam và N-desmethyl-diazepam. Các phối tử thụ thể benzodiazepine nội sinh được thấy trong dịch não tủy của BN có bệnh não do gan và trong vỏ não thùy trán của vài BN chết vì suy gan cấp do paracetamol. Trong một nghiên cứu mở về các tác dụng của flumazenil, một đối vận thụ thể benzodiazepine, 5/11 đợt bệnh não ở 10 BN có suy gan cấp được cải thiện.

Một số chất khác đã được xem là toxin như amoniac, axit béo chuỗi trung bình và mercaptan. Các chất này có thể tác động hợp lực gây hôn mê ở các con vật bình thường. Vi khuẩn chí trong ruột được cho là có vai trò trong bệnh sinh. Các giải pháp như giảm protein và dùng lactulose trong các giai đoạn sớm, tuy có rất ít bằng chứng về lợi ích của chúng.

BN tiến triển đến bệnh não độ IV trong các nhóm suy gan tối cấp và cấp có nguy cơ phát triển tăng áp nội sọ do phù não. Tăng áp nội sọ có thể do sự phát triển của dịch não tủy, của thể tích máu hoặc mô não. Các thay đổi trong thể tích dịch não tủy khó xảy ra vì qua các nghiên cứu hình ảnh đã cho thấy các não thất thường bị xẹp. Sự gia tăng lưu lượng máu não, cũng khó xảy ra, vì lưu lượng máu não thường bị giảm. Hai cơ chế đã được làm rõ trong bệnh sinh của phù não: do thần kinh phế vị và gây độc tế bào.

5.1.1. Cơ chế thần kinh phế vị

Hàng rào máu-não bị tổn thương dẫn đến tăng tính thấm và làm dịch giàu protein thoát khỏi lòng mạch vào khoảng ngoại bào. Tuy nhiên, hình ảnh này không gặp trong mô hình suy gan cấp ở loài vật. Nội mô có vẻ nguyên vẹn và các vật truyền trong bào tương hình như có trách nhiệm gia tăng chuyên chở các chất trong não.

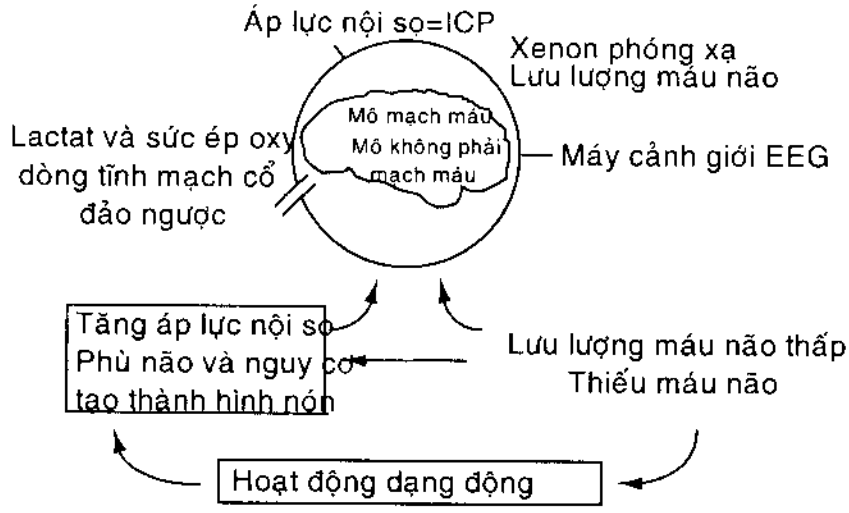
5.1.2. Cơ chế gây độc tế bào

Một số không bào của tế bào nội mô tăng lên gặp trong các mao mạch não của BN chết vì suy gan cấp, hình ảnh vi điện tử cũng cho thấy sự phù nội mạch của các mõm chân của các tế bào hình sao quanh mao mạch, cho thấy sự hiện diện của một cơ chế gây độc tế bào. Phù não gây độc tế bào có thể do amoniac hoặc do ức chế bơm Na^+, K^+ -ATPase. Huyết thanh của các BN suy gan cấp giảm đáng kể hoạt tính Na^+, K^+ -ATPase nhạy cảm với ouabain.

Hai cơ chế hình thành phù não không loại trừ lẫn nhau và có bằng chứng cả hai đều có vai trò của mình. Gia tăng áp lực nội sọ có các triệu chứng lâm sàng như tăng áp toàn thân (huyết áp tăng nhanh lên trên 150 mmHg), mất não tư thế và các phản

xạ đồng tử bất thường. Phù gai thị hiếm gặp. Các tín hiệu lâm sàng thường xuất hiện kịch phát.

Munoz và cs thấy chỉ có 33% các BN có một tăng áp nội sọ và đây là bằng chứng của phù não khi được quét bằng CT. Giám sát áp lực nội sọ bằng thiết bị là phương pháp duy nhất xác định chẩn đoán một cách chắc chắn, cũng như giám sát đáp ứng điều trị (hình 14-2). Bộ cảm biến áp lực Camino ngoài màng cứng có thể được đưa vào qua một lỗ khoang nhỏ 2 mm trên bán cầu não không trội ở thùy trán. Đo lường trực tiếp áp lực nội sọ giúp tính toán áp lực tưới máu não (áp lực động mạch trung bình - áp lực nội sọ). Xử trí được thực hiện nhằm duy trì áp lực nội sọ lớn hơn 50 mm Hg.



Hình 14-2. *Giám sát tăng áp nội sọ và phù não*

Mannitol (0,3-0,4 g/kg) truyền tĩnh mạch nhanh một lần là điều trị hàng đầu và có thể lập lại nếu cần, trừ khi áp lực thẩm thấu huyết tương tăng quá 310 mosm/l. Ở các BN suy thận, hoặc các BN không bài niệu với Mannitol, dùng siêu lọc để lấy ra độ 3 lần thể tích được cho của cả khối mannitol mỗi 30 phút.

Thiopental được dùng khi phù não đề kháng với việc sử dụng mannitol.

Tăng thông khí kéo dài không có lợi vì làm giảm sự tiêu thụ oxy não và làm tăng sự sản xuất lactat trong não.

Corticosteroit cho dự phòng cũng không có giá trị.

Động kinh được kiểm soát tốt bằng diazepam tĩnh mạch với liều 10 mg.

N-acetycystein Một thử nghiệm về tác nhân này trong các BN suy gan cho thấy các dấu hiệu tăng áp lực trong não được giảm xuống. Các nghiên cứu sau đó cho

thấy lưu lượng máu não gia tăng do tiêm truyền N-acetycystein và qua đó tiêu thụ oxy não gia tăng đáng kể.

5.2. BỆNH ĐÔNG MÁU

Số lượng các tiểu cầu thường giảm nhẹ lúc khởi đầu suy gan cấp, chức năng của tiểu cầu khá bất thường. Đáp ứng kết tụ kém có lẽ do một khiếm khuyết mắc phải bên trong tiểu cầu. Ngược lại, kết dính tiểu cầu được tăng cường, có thể do nồng độ của yếu tố von Willebrand gia tăng. Gan thải trừ các yếu tố đông máu được hoạt hóa và các tiểu cầu già từ hệ tuần hoàn qua hệ lưới nội mô. Sự giảm chức năng của hệ lưới nội mô cho phép các sản phẩm hoạt hóa của quá trình đông máu tiếp tục lưu hành trong suy gan cấp. Điều này làm tiêu thụ yếu tố đông máu tăng thêm với khả năng hình thành vi huyết khối và lắng cặn trong vi tuần hoàn.

Sự chảy máu nặng xảy ra trong 30% các BN, thường là xuất huyết đường tiêu hóa trên. Dự phòng thường qui:

Các chất phong tỏa thụ thể H2

Sucralfate: nhỏ giọt của sucralfate vào trong dạ dày nhằm bảo vệ niêm mạc.

Máu được truyền để thay thế lượng máu mất đi.

Bổ sung vitamin K

Huyết tương tươi đông lạnh: điều chỉnh thời gian prothrombine với huyết tương tươi đông lạnh là cần thiết nếu BN đang chảy máu nhưng không có lợi khi được dùng dự phòng.

Yếu tố VIII đậm đặc: BN dùng yếu tố này dễ phát triển đông máu nội mạch.

Tiểu cầu: duy trì lượng tiểu cầu lớn hơn 50 x 10^9/l bằng cách truyền tiểu cầu là hợp lý.

Các chất ức chế đông máu: antithrombin III và protein C thấp trong suy gan cấp, và sự bổ sung các chất này được đề nghị nhằm làm ngưng sự tiêu thụ thêm các yếu tố đông máu.

5.3. HỆ TIM MẠCH

Hồi phục thể tích với máu toàn phần và dung dịch 4,5% albumin nhằm duy trì hemoglobin ở khoảng 12 và 14 g/dL.

Giám sát áp lực đổ đầy tim phải: áp lực đổ đầy tim phải và tim trái được giám sát bởi một ống thông nổi động mạch phổi nhằm theo dõi và tối ưu hóa sự bành trướng thể tích.

Điều trị rối loạn nhịp tim: loạn nhịp tim hiếm gặp và thường xảy ra vào lúc đưa ống thông vào tĩnh mạch trung ương hoặc thiếu oxy máu, giảm hoặc tăng kali huyết.

Điều trị sức đề kháng mạch máu toàn thân thấp: đề kháng mạch máu toàn thân thấp có thể liên quan đến các thay đổi trong các mức độ cytokin và hệ nitric oxit. Việc dùng tại chỗ yếu tố hoại tử u (TNF) đã được chứng minh làm giãn các tiểu động mạch nhỏ trong một mô hình súc vật *in vivo*, và khi được tiêm cho súc vật khỏe mạnh, TNF gây ra các thay đổi huyết động toàn thân tương tự các thay đổi được quan sát trong suy gan cấp. Sự gia tăng sản xuất TNF và IL-1 và nồng độ IL-6 huyết thanh cao đã gặp trong suy gan cấp. Một giả thuyết được đề ra là sự giãn mạch trong suy gan cấp do tổng hợp yếu tố giãn mạch có nguồn gốc nội mạc (EDFR) qua một vài cytokine.

Các rối loạn khác: ở các BN có một áp lực mạch máu trung bình đủ, sự oxy hóa động mạch, thiếu oxy mô và toan huyết axit lactic thường gặp và kết hợp với các hậu quả xấu.

5.4. SỬ DỤNG N-ACETYLCYSTEIN

Các công trình trên mô hình chuột cho thấy N-acetylcystein bảo vệ tế bào gan khỏi các tổn thương do gốc tự do oxygen gây nên bởi interferon và nội độc tố. Thêm vào đó, N-acetylcystein, với nồng độ *in vivo*, làm tổn thương hóa hướng động và sự sinh sản các gốc oxy bởi bạch cầu đa nhân trung tính. N-acetylcystein làm giảm đáng kể các thay đổi huyết học và sinh bệnh học trong động vật thử nghiệm bị suy đa cơ quan.

Bảng 14-4. Các biến số chuyên chở oxy trước và trong lúc tiêm truyền N-Acetylcystein trong 15 BN suy gan cấp (13 do VG không A không B, và 2 do VG A)

	Đường cơ bản (trung vị)	N-Acetylcystein
Sự phân phối oxy (ml/phút/m2)	580 (331 đến 1547)	680 (353 đến 1624) [a]
Sự tiêu thụ oxy (ml/phút/m2)	102 (66 đến 294)	134 (97 đến 316) [a]
Tỉ suất trích oxy (%)	19 (8 đến 31)	22 (9 đến 31) [a]

[a] $P < 0,0001$ so với giá trị ban đầu.

5.5. SỬ DỤNG CÁC CHẤT CO CƠ TIM

Dobutamin không hiệu quả trong việc làm tăng huyết áp động mạch trung bình, các tác nhân co mạch chủ yếu dùng ở các BN có suy gan kịch phát là epinephrine và norepinephrine, bắt đầu với liều lượng 0.1μg/kg/phút. Tuy nhiên, các tác nhân co mạch này có thể làm tổn thương thêm sự oxy hóa mô trong suy gan cấp. Trong một nghiên cứu, huyết áp động mạch tăng lên sau khi truyền epinephrine hoặc norepinephrine, nhưng sự trích oxy giảm xuống, làm giảm tiêu thụ oxy. Nhằm giảm

các tác động phụ của epinephrine-norepinephrine trên sự phân phối và hấp thụ oxy, phương pháp được đề nghị là truyền prostacycline với liều lượng 5mg/kg/phút. Ngoài việc cải thiện lưu lượng vi tuần hoàn, prostacycline giúp phân tán sự tích tụ lactat, đẩy mạnh phân hủy fibrin và giảm trương lực sau mao mạch.

5.6. CÁC BIẾN CHỨNG HÔ HẤP

Khi BN đi vào bệnh não độ IV, nội khí quản là chủ yếu nhằm bảo vệ đường thở. Bảo vệ đường thở với ống nội khí quản nên được thực hiện. Giảm oxy huyết được xử lý với thông khí cơ học thể tích có kiểm soát trong khi BN được truyền tĩnh mạch liên tục chất giãn cơ, thường là atracurium với 50 mg/giờ. Nội soi và rửa khí quản có thể cần để lấy đi các cục nhầy gây giảm thông khí của phổi hay một đoạn phổi, hoặc nhằm xác định nguyên nhân nhiễm khuẩn. Cần phải hướng dẫn cho BN thực hiện các bài tập vật lý trị liệu lồng ngực đều đặn, nhưng phải ngưng khi BN có dấu hiệu tăng áp nội sọ.

5.7. SUY THẬN VÀ CÁC RỐI LOẠN BIẾN CHỨNG

Thẩm tách máu: suy thận cần thẩm tách máu xảy ra độ 30% các BN bệnh não giai đoạn IV do VG virut kịch phát. Suy thận có thể phối hợp suy thận chức năng và hoại tử ống thận cấp.

Dopamine: dopamine truyền tĩnh mạch liều thấp (2,5 µg/kg/giờ) có thể ngăn ngừa sự trầm trọng thêm chức năng thận và được dùng thường qui.

Lợi tiểu quai: không được khuyên dùng vì có thể làm tăng suy gan thận.

Các thuốc gây độc thận: mannitol và aminoglycosit có thể dùng, nhưng thận trọng.

Thay thận: khi có toan huyết, quá tải dịch, tăng kali máu, hoặc creatinin > 400 µmol/l.

Thẩm tách máu bằng máy ngắt quãng có thể làm trầm trọng thêm tình trạng phù não.

Chống đông: heparine cần thiết dù có rối loạn đông máu. Có thể thay bằng prostacysline, thuốc có thể an toàn ở BN với một số lượng tiểu cầu dưới $70x10^9$/l.

Điều trị hạ đường huyết do insulin lưu hành tăng lên, tổn thương tân sinh đường, bất lực trong việc huy động dự trữ glycogen. Các mức độ glucoze máu được giám sát từng giờ, và glucoze 50% 50 ml được truyền tĩnh mạch nếu mức độ trong máu giảm xuống dưới 3,5 mmol/l.

Điều trị toan huyết: sử dụng bicarbonat sodium truyền tĩnh mạch không ích lợi và thẩm tách máu hoặc lọc thẩm tách máu động-tĩnh mạch liên tục có thể lấy đi các ion hydro nhưng không điều trị vấn đề nền và ít khi điều chỉnh pH động mạch.

5.8. NHIỄM KHUẨN KHUYẾT

Nhiễm khuẩn được xảy ra trong hơn 80% BN. Các vi sinh thường gặp là staphylococci, streptococci và vi khuẩn dạng coli. Nấm thường được phân lập, chủ yếu là *Candida spp*, nhưng *Aspergillus spp* cũng được báo cáo như một tác nhân gây bệnh hay gặp. Kháng sinh được bắt đầu ở các BN có nghi ngờ nhiễm khuẩn huyết và việc lựa chọn kháng sinh trực tiếp từ các kết quả nuôi cấy hàng ngày. Không có đáp ứng sau 48 giờ phải nghĩ đến nguyên nhân do nấm và một đợt điều trị 14 ngày với amphotericin B và 5-flucytosine thường đủ. Giá trị của việc sát khuẩn đường tiêu hóa chưa được chứng minh; tuy nhiên, giá trị của việc sử dụng kháng sinh dự phòng được xác định trong nghiên cứu đối chứng gần đây nhất.

5.9. GHÉP GAN VÀ ĐÁNH GIÁ TIÊN LƯỢNG

Hiểu biết về tiên lượng BN VG kịch phát ngay lúc nhập viện sẽ giúp quyết định đưa BN vào danh sách ghép gan. Nhiễm HIV cần được loại trừ và thực hiện các xét nghiệm chức năng tim không xâm lấn. Khẩn cấp tìm người cho gan, đôi khi phải chấp nhận cả lá gan không phù hợp nhóm máu ABO. Tỷ lệ sống sót toàn bộ ở BN VG kịch phát sau ghép thấp hơn các bệnh khác, trung bình từ 60-65% sau 1 năm.

Tiêu chuẩn hiện nay được dùng trong ghép gan khẩn cấp không phải không có sai lầm. Một tỷ lệ nhỏ BN được ghép gan hiện nay có thể sống sót tự nhiên mà không cần ghép gan. Khi chưa có phương cách tiên lượng hoàn hảo, sự sai lầm này là khó tránh. Nhiễm khuẩn không kiểm soát, viêm tụy và tăng áp nội sọ không phục hồi là các chống chỉ định trong ghép gan.

Ghép gan đúng vị trí là thủ thuật ngoại khoa thường dùng. Ghép gan bổ trợ, trong đó một phần gan bình thường được đặt đúng vị trí hoặc ở vị trí khác, đã được đánh giá với hy vọng cung cấp sự nâng đỡ tạm thời trong khi chờ gan tổn thương hồi phục hoàn toàn. Khi đó, ức chế miễn dịch ngưng dùng và BN có thể tránh được việc dùng thuốc suốt đời. Tuy nhiên, sự kiện này không xảy ra ở tất cả BN; các kết quả ban đầu cho thấy BN suy gan tối cấp có thể hưởng lợi từ phương pháp này.

Các vấn đề về phí tổn và sự tiếp cận khiến ghép gan thành một kiểu điều trị không phổ thông trong VG kịch phát. Sự phát triển căn bệnh nguy hiểm này có thể được ngăn chặn trong nhiều trường hợp với nỗ lực chủng ngừa VG B trong cộng đồng, không kết hợp acetaminophen và rượu, làm sáng tỏ bệnh sinh của VG không A-E.

5.10. CÁC CAN THIỆP ĐIỀU TRỊ KHÁC

Corticosteroit không có ích lợi và có thể làm tăng tỷ lệ tử vong.

Truyền insulin và glucagon liên tục nhằm đẩy mạnh tái tạo gan đã được thử nghiệm, nhưng trong các nghiên cứu có đối chứng, không thấy có cải thiện tỷ lệ tử vong.

Thuốc kháng virut: Levin và Hahn chứng minh trong VG virut kịch phát, các tế bào đơn nhân máu ngoại vi không thể sản xuất interferon và mức độ interferon lưu hành thấp một cách đáng kể. Trong một nghiên cứu khác, các nhà nghiên cứu dùng IFN-α cho 32 BN VG virut kịch phát (VG A, 17 BN; VG B, 7; không A không B, 6 và herpes và cytomegalovirut, mỗi loại một BN). 16 BN (50%) hồi phục, bao gồm 9/22 (41%) những người bệnh não độ III và độ IV.

Prostaglandin: các prostaglandin thuộc nhóm E đã cho thấy bảo vệ tế bào gan trong loài vật suy gan cấp do virut và nhiễm độc. Ở người, khi so sánh với lô chứng, tỷ lệ sống sót tăng lên được báo cáo bởi Sinclair và Levy. Tuy nhiên, trong các nghiên cứu khác, không có tác dụng có ý nghĩa nào được chứng minh.

Các kháng thể đơn dòng: thử nghiệm có giả dược, đối chứng về kháng thể đơn dòng kháng nội độc tố ở BN nhiễm khuẩn huyết gram âm cho thấy đây là một điều trị an toàn và hiệu quả và đối vận thụ thể IL-1 chứng tỏ hiệu quả trong ở thỏ nhiễm khuẩn huyết. Đến nay, vẫn chưa có nghiên cứu nào khảo sát tác dụng của các tác nhân này trong suy gan cấp.

6. CÁC THIẾT BỊ CHỐNG ĐỠ GAN SINH HỌC NHÂN TẠO

Hai thiết bị chống đỡ gan sinh học nhân tạo (bioartificial) hiện nay đang trải qua thử nghiệm lâm sàng.

6.1. THIẾT BỊ DEMTRIOU

Thử nghiệm tiên phong do Demetriou ở Mỹ dựa trên cơ sở nuôi cấy tế bào gan lợn. Huyết tương phân lập được đưa lần đầu qua một cột than hấp phụ để lấy ra các chất độc có thể gây tổn thương các tế bào gan nuôi cấy và sau đó, qua các sợi rỗng trong thiết bị chứa các tế bào gan được nuôi cấy. BN điều trị theo cách này được duy trì khá thành công cho đến khi ghép gan được thực hiện và cải thiện độ bệnh não với sự bình thường hóa của áp lực nội sọ là các lợi ích ấn tượng được tuyên bố bởi các nhà nghiên cứu.

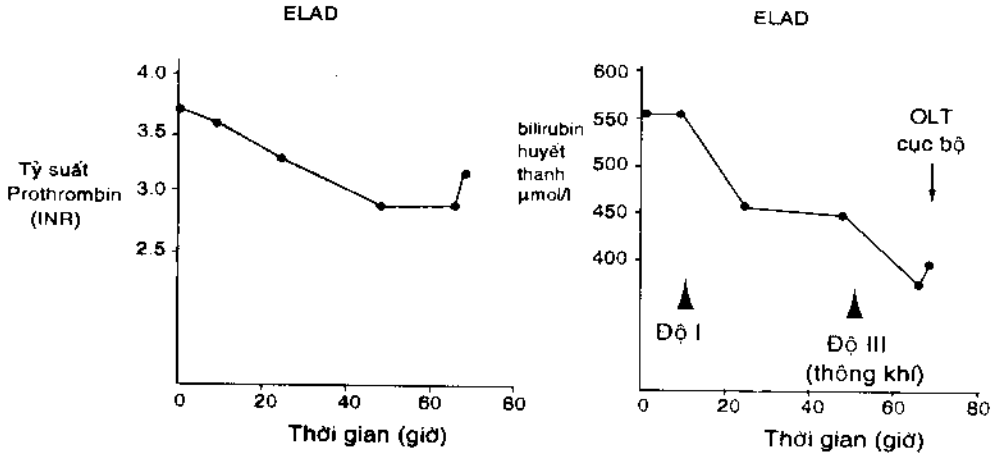
6.2. THIẾT BỊ ELAD

Một thiết bị khác, được biết dưới tên là ELAD (thiết bị trợ giúp gan ngoài cơ thể=extracorporeal liver assist device), dựa trên cơ sở các tế bào u nguyên bào gan được nuôi cấy. Thiết bị này được phát triển bởi Sussman và cs ở Houston. Mỗi cột chứa 200gr tế bào sao cho dòng điện đi vào 2 cột phải có độ 20% đến 30% chức năng gan bình thường. Một siêu lọc được đưa vào khoảng ngoài mao mạch chứa các

tế bào gan độ 20 ml/phút và tái tưới máu vào trong dòng máu trở về sau khi qua một hệ thống lọc nhằm ngăn chặn bất cứ sự đi qua nào của các tế bào u nguyên bào gan vào trong BN.

Một nghiên cứu thăm dò có đối chứng về thiết bị ELAD thực hiện trên 24 BN suy gan cấp cho thấy phù hợp sinh học (biocompatibility) của thiết bị là tốt. Một số ít BN có bệnh não tiến triển, điều chỉnh các bất thường huyết động khá nhanh. Không có khác biệt trong các tỷ lệ sống sót được chứng minh nhưng số mẫu trong các nhóm còn nhỏ. Một cải tiến khả năng loại trừ galactoze trung bình sau 6 giờ trong nhóm được điều trị là đo lường chức năng phụ được cung cấp bởi thiết bị hỗ trợ gan.

Trong hình 14-3 cho thấy cách dùng 2 hình thức hỗ trợ gan tạm thời ở một em bé Ấn Độ 14 tuổi tại Anh bị suy gan cấp do VG virut kịch phát được cho là không A không B. Cả INR và mức bilirubin huyết thanh giảm xuống trên dòng ELAD, mà BN lưu lại thêm khoảng 66 giờ. Tuy nhiên, độ bệnh não cho thấy xấu đi phần nào. Vào giai đoạn này, khi BN không còn đủ tiêu chuẩn ghép, BN được quyết định tiến hành ghép gan một phần thay vì ghép toàn phần đúng vị trí nhờ một phương tiện khác cung cấp sự chống đỡ gan tạm thời. Trong phương thức này, thùy trái của chính gan BN được lấy ra và phần tương ứng của cơ quan người cho được thế vào đúng vị trí. Với việc ghép gan một phần như thế (bổ trợ), khả năng hồi phục hoàn toàn của chính gan BN còn và nếu điều này xảy ra, gan ghép có thể được loại ra qua phẫu thuật hoặc có thể được làm teo đi bằng cách ngưng dùng ức chế miễn dịch. Ở đứa trẻ này, sinh thiết gan nhiều lần cho thấy sự hồi phục dần dần và điều trị ức chế miễn dịch hoàn toàn không dùng nữa sau 6 tháng. Vào thời điểm hội thảo Strasbourg về ghép gan bổ trợ, năm 1996, toàn thế giới có 30 BN được điều trị như thế, 19 (30%) sống sót. Trong 13 BN (43% của cả đợt), ức chế miễn dịch được ngưng sau khi chức năng gan hồi phục.



***Hình 14-3.** Đồ thị biểu diễn sự cải thiện INR (tỉ suất prothrombin) và bilirubin huyết thanh trong một em bé trai 14 tuổi suy gan cấp không A không B trong lúc nhờ thiết bị hỗ trợ gan ngoài cơ thể (ELAD). (Theo McCarthy và cs).*

7. TIÊN LƯỢNG

VG kịch phát trước đây đã có tỷ lệ tử vong khoảng 90%. Để giảm thiểu tỷ lệ tử vong, nên tập trung BN vào các đơn vị chuyên khoa có khả năng chữa được bệnh này. Hơn nữa, một số đáng kể BN chết vì bệnh này, tỷ lệ sống sót tự nhiên thay đổi từ 20-50%, với tiên lượng tốt hơn ở BN suy gan kịch phát do acetaminophen hoặc do VG A. Tiên lượng đã được cải thiện đáng kể khi phương pháp ghép gan được thực hiện.

Các tiêu chuẩn tiên lượng dựa vào các thông số lâm sàng lúc nhập viện. Các BN được phân loại tùy theo nguyên nhân, do acetaminophen hay không, trong bệnh não không phải là tiêu chuẩn tiên lượng.

Bảng 14-5. Các chỉ số tiên lượng kém trong suy gan kịch phát

BN nhiễm độc acetaminophen

- PH < 7,3 (không kể độ bệnh não và sau khi điều chỉnh tình trạng thể tích), hoặc
- Thời gian prothrombin > 100 giây và creatinin huyết thanh > 300 µmol/l ở BN bệnh não độ III hoặc IV.

BN không phải do nhiễm độc acetaminophen

- Thời gian prothrombin > 100 giây (không kể độ bệnh não) hoặc 3 điểm sau đây:
  - **Tuổi < 10 hoặc > 40**
  - Nguyên nhân: VG KAKB, phản ứng thuốc.
  - Khoảng thời gian vàng da đến bệnh não > 7 ngày
  - **Thời gian prothrombin > 50 giây**
  - Bilirubin huyết thanh > 300 µmol/l (> 17 mg/dl)

Các tiêu chuẩn này đã được khảo sát tại nhiều trung tâm và có một giá trị tiên đoán dương tính chấp nhận được (khoảng 80%).

Vai trò của sinh thiết gan, trong việc xác định số lượng tế bào gan còn sống, còn đang tranh cãi. Các phương pháp khác nhằm xác định tiên lượng bao gồm thể tích gan được đo bằng phương pháp quét CT, số lượng huyết tương tươi đông lạnh được dùng để điều chỉnh rối loạn đông máu vá xác định điện thế gợi thân thể-cảm giác, đang được đánh giá.

8. TÓM TẮT

Suy gan cấp còn là một bệnh đặt ra yêu cầu lớn về nguồn lực, về chuyên gia và các tiến bộ liên quan đến chăm sóc BN. Các chuyên gia liên quan ở tất cả các mức độ -y học, điều dưỡng và kỹ thuật- đều cần thiết nếu các kết quả tối ưu được đạt tới. Các tỷ lệ sống sót ở BN suy gan cấp đang tiếp tục cải thiện. Trong 15% đến 20% các trường hợp, ghép gan sẽ là cần thiết và các BN như thế phải được đánh giá cẩn thận về khả năng tiên lượng nếu họ không ghép gan. Điều này cần phải xác định các chỉ thị tiên lượng ban đầu trong diễn tiến của bệnh. Chuyển BN suy gan cấp đến các trung tâm gan có kinh nghiệm trong xử trí bệnh này là cần thiết sao cho tất cả các phương thức điều trị tốt nhất có thể dùng được cho họ.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. **Williams R.** Clinical aspects of viral liver disease. Treatment of fulminant hepatitis. In Zuckerman AJ, Thomas H
2. C, editors. Viral Hepatitis. 2nd ed. London. Churchill Livingstone; 1998: 477-88.
3. **Blei AT.** Fulminant Hepatic Failure. In Liver Disease- Diagnosis and Management. Churchill Livingstone. 2000: 282-293.
4. **Phạm Song.** Viêm gan do virut (A, B, non A/ non B). Bách khoa thư bệnh học tập I. NXB y học, 1991, 327 - 48.
5. **Bùi Đại, Nguyễn Văn Mùi, Nguyễn Hoàng Tuấn** ...Bệnh học truyền nhiễm. NXB Quân đội nhân dân. Hà nội 1999.

Chương 15

GHÉP GAN TRONG ĐIỀU TRỊ VIÊM GAN VIRUT MẠN

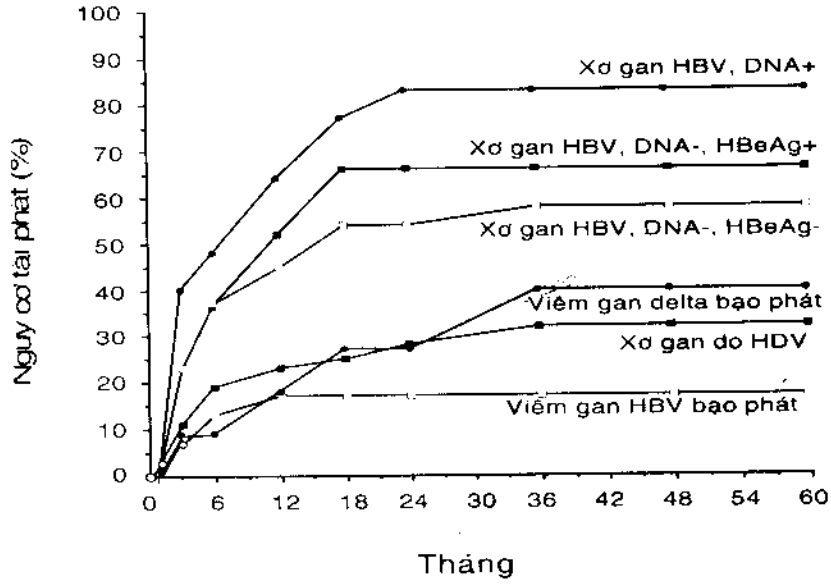
Trang

1. CÁC CHỈ ĐỊNH GHÉP GAN ĐỐI VỚI BỆNH GAN LIÊN QUAN ĐẾN HBV ...421
2. CÁC KẾT QUẢ GHÉP GAN TRONG BỆNH GAN LIÊN QUAN ĐẾN HBV 423
2.1. Cơ sở lý thuyết 423
2.2. Các tổn thương gan ghép do tái nhiễm HBV 424
3. DỰ PHÒNG TÁI NHIỄM HBV SAU GHÉP 425
3.1. Dự phòng tái nhiễm HBv sau ghép 425
3.1.1. Các yếu tố nguy cơ HBV tái phát sau ghép gan đúng vị trí 425
3.1.2. Các cơ chế của HBIG được đề nghị 425
3.1.3. Nhiễm virut đột phá và đột biến HBV vỏ ngoài trong quá trình điều trị HBIG ... 427
3.1.4. HBIG kết hợp với các tác nhân kháng virut mới 428
3.1.5. Các khuyến cáo hiện nay và các dự báo tương lai 429
3.2. Các Bn Vg B kịch phát 430
3.3. Vai trò của sự sao chép HBV 430
3.3.1. Dự phòng miễn dịch anti-HBs đa clôn 430
3.3.2. Dự phòng miễn dịch anti-HBs đơn clôn 432
3.4. Chủng ngừa chủ động 432
3.5. Điều trị kháng virut 432
3.5.1. Trước khi ghép gan 432
3.5.1.1. Interferon-α tái tổ hợp 433
3.5.1.2. Các tác nhân kháng virut khác 433
3.5.2.1. Adenine Arabinoside A (ARA-A) và Monophosphate (ARA-AMP) 434
3.5.2.2. IFN tái tổ hợp 434
3.5.2.3. Các tác nhân kháng virut khác 434
4. CÁC BN VỚI TÌNH TRẠNG SAO CHÉP HBV 435
5. GHÉP GAN ĐỐI VỚI BỆNH GAN LIÊN QUAN ĐẾN VIRUT HDV 435
6. TÓM TẮT 435
TÀI LIỆU THAM KHẢO 436

1. CÁC CHỈ ĐỊNH GHÉP GAN ĐỐI VỚI BỆNH GAN LIÊN QUAN ĐẾN HBV

Ghép gan hiện nay là một thủ thuật khá phát triển, và là một phương pháp điều trị có hiệu quả nhất cho bệnh gan giai đoạn cuối. Các BN bệnh gan mạn do virut VG B (HBV) thuộc vào nhóm có chỉ định ghép gan lớn. Tuy nhiên, sau ghép, gan được ghép có nguy cơ tái nhiễm HBV và phát triển VG cấp hoặc mạn tính, nguy cơ gây

thải loại mẫu ghép, người bệnh sẽ chết hoặc phải ghép lại (hình 15-1). Nguy cơ tái nhiễm HBV rất cao ở các BN được phát hiện có HBV sao chép trước khi ghép gan. Hơn nữa, chỉ định ghép gan ở các BN HBsAg(+), nhất là trong những người có sao chép HBV, còn bàn cãi.



***Hình 15-1.** Nguy cơ HBV tái phát tính theo tổn thương gan ban đầu và tình trạng sao chép virut trước khi ghép gan*[1].

Các chỉ định ghép gan (bảng 15-1) đối với bệnh gan liên quan đến HBV tương tự với các chỉ định trong các bệnh gan khác.

***Bảng 15-1: Các chỉ định ghép gan trong bệnh gan do HBV*[1]**

Báng bụng không kiểm soát hoặc khó kiểm soát.
Viêm phúc mạc do vi khuẩn tự phát.
Xuất huyết tiêu hóa tái phát.
Các đợt bệnh não do gan.
Các nồng độ albumin, prothrombin thấp và bilirubin cao.

Các tình trạng trên là các chỉ thị giá trị về mức độ trầm trọng của xơ gan và trên cơ sở đó BN cần được ghép gan. Các đặc trưng đặc hiệu trong tiên lượng bệnh gan mạn liên quan đến HBV như sau[1]:

- Bệnh thường tiến triển trong các BN sao chép HBV tồn tại
- Bệnh hoạt động được gợi ý bởi nồng độ cao của transaminaza huyết thanh
- Về xét nghiệm mô học: hoại tử và thâm nhiễm các tế bào viêm ở gan.

Ngược với các bệnh gan mạn khác (như xơ mật nguyên phát), tiên lượng của xơ gan liên quan đến HBV khó đánh giá, vì diễn tiến của bệnh khá thay đổi như[1]:

- Ngừng sao chép HBV, tự nhiên hoặc sau điều trị kháng virut, thể hiện bằng sự biến mất HBV DNA trong huyết thanh và chuyển huyết thanh từ HBeAg thành anti-HBe
- Tái hoạt hóa HBV với HBV DNA và HBeAg xuất hiện trở lại trong huyết thanh.

Bởi thế, bệnh gan mạn liên quan đến HBV có thể nặng, tiến triển đến bệnh gan không hồi phục, hoặc bệnh có thể nặng nhất thời, với mức độ trầm trọng tăng lên trong lúc chuyển HBeAg thành anti-HBe, sau đó là một tình trạng cải thiện khá tốt.

2. CÁC KẾT QUẢ GHÉP GAN TRONG BỆNH GAN LIÊN QUAN ĐẾN HBV

2.1. CƠ SỞ LÝ THUYẾT

Nguy cơ tái nhiễm HBV sau ghép gan từ 75 đến 90% nếu không dự phòng. Tái nhiễm gây VG mẫu ghép và trong một số trường hợp sẽ gây suy gan dẫn đến tử vong[2]. Cơ chế của tái nhiễm HBV sau ghép gan là một chủ đề còn tranh cãi. Ba giả thuyết chủ yếu đã được đề ra:

- Nhiễm virut mẫu ghép tức thì trong hoặc ngay sau ghép gan do HBV lưu hành.
- Tái nhiễm mẫu ghép do sao chép và phát tán HBV từ các điểm ngoài gan
- Kết hợp của cả 2 cơ chế trên.

Samuel và cs tin rằng cơ chế thứ nhì dính líu phần nào trong tái nhiễm HBV của gan được ghép. HBV cũng được chứng minh hiện diện trong một vài điểm ngoài gan, như các tế bào đơn nhân, tủy xương, thận và tụy. Sao chép HBV đã được phát hiện trong các tế bào đơn nhân máu ngoại biên của BN nhiễm virut mạn. Một dạng sao chép của HBV cũng đã được phát hiện trong các tế bào đơn nhân máu ngoại vi ở các BN được ghép gan, nhưng không có trong huyết thanh, cho thấy các tế bào đơn nhân trong máu ngoại vi có dính líu trong cơ chế tái nhiễm HBV của gan ghép. HBV có thể được phát hiện bằng PCR trong huyết thanh và cả trong các tế bào đơn nhân máu ngoại vi, nhưng không có trong gan được ghép, cho thấy các hạt HBV vẫn còn trong cơ thể dù có thải trừ HBsAg biểu kiến. Trong một nghiên cứu, 11 BN HBsAg(+) trước khi ghép gan đã trở thành HBsAg(-) sau ghép khi nhận globulin miễn dịch anti-HBs. Điều này cho thấy trong các BN nhận Ig anti-HBs, HBV có thể không có trong mẫu gan ghép dù HBV có mặt trong huyết thanh.

Một cách giải thích về sự tái nhiễm HBV ở các BN nhận Ig anti-HBs là sự xuất hiện đột biến của HBV nhất là trong gen vỏ ngoài do chọn lọc sức ép miễn dịch bởi globulin miễn dịch. Trong 2 báo cáo, các đột biến trong gen vỏ ngoài được quan sát ở một số BN tái nhiễm HBV nhận Ig anti-HBs. Tuy nhiên, trong một vài BN tái nhiễm

HBV không có các đột biến, cho thấy có thể có các cơ chế khác. Gần đây, Samuel và cs đã chứng minh trong một BN tái nhiễm HBV, tuy đã nhận Ig anti-HBs mà chủng HBV ưu thế sau ghép là chủng ưu thế hiện diện trong các tế bào lympho trước ghép, cho thấy một chọn lọc sức ép miễn dịch của chủng HBV bởi Ig anti-HBs, chứng minh vai trò của các lympho ngoài gan như một nguồn tái nhiễm HBV sau ghép.

2.2. CÁC TỔN THƯƠNG GAN GHÉP DO TÁI NHIỄM HBV

Tái nhiễm HBV của gan được ghép có các đặc điểm:

1. Sau khi HBsAg xuất hiện trở lại, có nguy cơ phát triển các tổn thương của gan được ghép.
2. Phần lớn trường hợp, HBsAg tái xuất hiện sẽ gây VG cấp và dẫn đến VG mạn hoạt động.
3. Gan được ghép bị xơ nhanh chóng, khoảng 12 tháng sau khi HBsAg xuất hiện trở lại.

Diễn tiến trầm trọng trên mẫu gan ghép có thể liên quan đến điều trị ức chế miễn dịch sau ghép, làm tăng sao chép HBV. Tuy nhiên, các cơ chế khác hơn cơ chế miễn dịch cũng được đưa ra. Trong các BN ức chế miễn dịch mắc bệnh gan do HBV (không ghép gan) và trong các BN có bệnh gan do HBV được ghép thận, một diễn tiến nặng lên nhanh chóng của tổn thương gan là bất thường.

Một vài tác giả đã nhấn mạnh rằng, trong các BN tái nhiễm HBV sau ghép gan, các nồng độ HCV RNA và HBsAg rất cao và cho rằng HBV có thể trực tiếp gây bệnh cho tế bào gan trong tình huống này. Số lượng lớn HBsAg và HBeAg trong chất tế bào và HBcAg trong nhân của các tế bào gan đã được chứng minh. Các đặc trưng mô học của các tổn thương liên quan đến HBV trên gan ghép bao gồm một lượng nhỏ thâm nhiễm viêm, phát triển nhanh chóng đến xơ gan, và ứ mật thường gặp kết hợp với hoại tử tế bào gan.

Ở Luân Đôn, nhóm King's College đã mô tả một kiểu bệnh lý lâm sàng bất thường trong một số BN có một tiên lượng rất xấu, được gọi là VG ứ mật xơ hóa. Các đặc trưng mô học là xơ hóa quanh khoảng cửa lan toả, ứ mật tiểu quản và tế bào, các tế bào gan to lên kết hợp với biểu hiện HBsAg trong chất tế bào lan rộng, các mức độ khác nhau của biểu hiện trong chất tế bào của HBcAg và HBeAg và biểu hiện trong nhân của HBcAg và HBeAg. Các đặc trưng này khác biệt với các kiểu tổn thương thường gặp do HBV của gan ghép, được xác định đặc điểm bởi biểu hiện HBcAg cao trong nhân và đặc điểm không lan tỏa rộng của HBsAg. Davies và cs cho rằng sự hiện diện HBsAg rộng khắp ở các BN có VG ứ mật xơ hóa gợi ý một cơ chế trung gian không miễn dịch cho tổn thương tế bào gan. Demetris và cs ghi nhận một sự tăng dần HBsAg trong bào chất và cả trong nhân, trong các BN tái nhiễm HBV. Trong một số BN, các tác giả nhấn mạnh thoái hóa của tế bào gan kết

hợp với biểu hiện virut đáng kể, nhưng không viêm. Điều này củng cố quan niệm cho rằng trong một số trường hợp, HBV gây bệnh tế bào một cách trực tiếp. Tuy mức độ HBsAg và HBcAg cao trong gan ở các BN VG ứ mật xơ hóa, nồng độ HBsAg trong huyết thanh không khác biệt với nồng độ ở BN không ghép gan có bệnh gan liên quan đến HBV và với các BN được ghép có tái nhiễm HBV mà không có VG ứ mật xơ hóa. HBV đã được chứng minh gây bệnh tế bào trực tiếp trong các mô hình chuột chuyển gen và các dòng tế bào HepG2 chuyển nhiễm HBV. Ngược lại, BN HBsAg huyết thanh âm sau ghép gan thường có mô học gan bình thường và không có dấu ấn HBV trong gan được ghép, nói lên tầm quan trọng trong dự phòng HBsAg tái xuất hiện trong huyết thanh của các BN sau ghép gan.

3. DỰ PHÒNG TÁI NHIỄM HBV SAU GHÉP

3.1. DỰ PHÒNG TÁI NHIỄM HBV SAU GHÉP

3.1.1. Các yếu tố nguy cơ HBV tái phát sau ghép gan đúng vị trí

Hai quyết định then chốt của tái nhiễm là tình trạng sao chép virut trước ghép và kiểu bệnh gan (cấp hay mạn). Các BN có tình trạng virut sao chép trước ghép (được đánh giá bởi phương pháp lai HBV DNA quy ước) và các BN xơ gan là những người có nguy cơ tái nhiễm HBV mảnh ghép cao nhất. Trong nghiên cứu ở châu Âu, tái nhiễm HBV mảnh ghép ở BN xơ gan không dự phòng miễn dịch là 67 ± 4%, bất kể tình trạng HBV sao chép trước ghép. Ở BN có bằng chứng sao chép virut trước ghép (HBV DNA hoặc HBeAg(+)), tái nhiễm HBV xảy ra 83% ± 6%. Các BN có bội nhiễm virut delta hoặc có VG B kịch phát có nguy cơ tái nhiễm thấp hơn (lần lượt là 32% và 17%) .

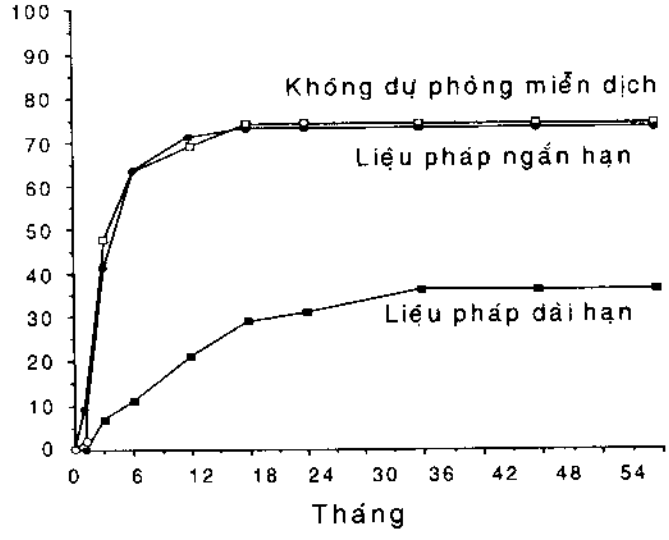
3.1.2. Các cơ chế của HBIG được đề nghị

Việc dùng globulin miễn dịch anti-HBs (HBIG= hepatitis B immune globulin), để ngăn ngừa tái nhiễm HBV sau ghép gan lần đầu được báo cáo vào năm 1978 ở một BN nhận HBIG trong giai đoạn suy năng gan (anhepatia) và vào ngày thứ 6 sau ghép. BN trở thành HBsAg(-) sau khi tiêm vào ngày thứ 6. Mục tiêu của điều trị này là trung hòa các hạt HBV lưu hành trong thời kỳ suy năng gan và sau ghép. Các báo cáo sau đó đã chứng minh là phần lớn các BN vẫn còn HBsAg(+) hoặc HBsAg(+) trở lại một thời gian ngắn sau khi dùng HBIG theo kiểu này. Tuy nhiên, dù dùng ngắn hạn, HBIG hình như làm chậm sự tái xuất hiện của HBsAg sau ghép gan .

Tại Hannover, Đức, Lauchart và cs vào năm 1987 đã báo cáo các liều HBIG rất cao được cho trong 6 ngày đầu sau ghép gan nhằm trung hòa HBsAg. Liều HBIG được cho nhắc lại vào tháng thứ sáu sau ghép, nếu nồng độ anti-HBs huyết thanh dưới 100 IU/L. Tất cả BN trở nên HBsAg(-) sau ghép gan. Trong một báo cáo vào năm 1991 do Muller và cs, HBsAg xuất hiện trở lại ở một số BN sau khi ngưng HBIG 6 đến 12 tháng sau ghép[1].

Cũng năm 1991, Samuel và cs sử dụng HBIG tương tự như nhóm Hannover, nhưng không ngưng HBIG vào 6 tháng sau ghép. Các BN đã nhận 10.000 đơn vị HBIG trong giai đoạn suy năng gan; sau đó, 10.000 đơn vị mỗi ngày cho 6 ngày đầu sau phẫu thuật. Nồng độ anti-HBs huyết thanh được đánh giá hàng tuần và 10.000 IU được dùng trở lại khi nồng độ xuống dưới 100 IU/L. Tỷ lệ 2 năm tái xuất hiện HBsAg trong các BN xơ gan do VG B (59%) cao hơn trong các BN xơ gan do đồng nhiễm virut VG B và D, hoặc trong những BN kịch phát (0%). Hơn nữa, tỷ lệ 2 năm tái nhiễm HBV cao hơn đáng kể trong các BN xơ gan do HBV là những người có HBV DNA huyết thanh dương so với những người HBV DNA(-) trước khi ghép gan (lần lượt là 96% và 29%). Tuy nhiên, không có tương quan giữa tỷ lệ 2 năm tái nhiễm HBV và tình trạng HBeAg huyết thanh trước ghép trong đợt này: 63% ở các BN HBeAg(-) và 55% HBeAg(+). Các BN được điều trị bởi nhóm Hannover trong đó việc sử dụng HBIG không liên tục từ 6 đến 12 tháng sau ghép, tỷ lệ tái nhiễm HBV là 88% trong các BN HBV DNA(+) và 28% trong các BN HBV DNA(-) trước ghép. Trong một số BN được cho HBIG từ 6 đến 12 tháng, HBsAg xuất hiện trở lại trong huyết thanh ngay lập tức và cho đến nhiều tháng sau khi ngưng điều trị .

Trong một nghiên cứu đa trung tâm ở châu Âu vào năm 1993 do Samuel và cs[1] thực hiện, tác dụng lâu dài (hơn 6 tháng) của Ig anti-HBs được chứng minh bằng sự giảm đáng kể tỷ lệ tái phát HBV từ 75% ở BN không dùng hoặc dùng một thời gian ngắn Ig anti-HBs, so với 33% ở các BN điều trị lâu dài Ig anti-HBs ($p < 0,001$). Nghiên cứu này nói lên lợi ích của điều trị lâu dài Ig anti-HBs ở các BN được ghép gan do xơ gan liên quan đến HBV, có HBV DNA(+). Trong một phân tích đa biến số, điều trị lâu dài Ig anti-HBs liên quan độc lập với một tỷ lệ giảm tái phát HBV và với tỷ lệ sống sót tốt hơn (hình 15-2).



***Hình15-2**: Nguy cơ tái phát của HBV theo thời gian dùng HBIG. Nguy cơ tái phát thấp trong nhóm dùng liệu pháp dài hạn hơn các nhóm khác.*

Cơ chế mà HBIG bảo vệ gan ghép chống tái nhiễm HBV chưa được hiểu rõ. Các kháng thể đối với quyết định a thường gặp của HBsAg bảo vệ chống nhiễm HBV bất kể kiểu phụ nào, được chỉ rõ bởi HBIG dùng trước hoặc ngay sau phơi nhiễm. Tuy nhiên, hiệu quả của HBIG ở BN ghép gan nhiễm HBV tồn tại hiện chưa rõ. Một giả thuyết cho rằng HBIG bảo vệ các tế bào gan chống lại HBV được phóng thích từ các điểm ngoài gan qua việc phong tỏa một thụ thể HBV giả định. Tính gây độc qua trung gian tế bào phụ thuộc kháng thể cũng góp phần vào việc phân giải tế bào mục tiêu nhiễm virut. Dù bất cứ cơ chế nào, có bằng chứng một đáp ứng phụ thuộc liều lượng đối với điều trị HBIG sẽ bảo vệ đa số BN được ghép gan chống tái nhiễm HBV mảnh ghép .

Dựa vào hiểu biết hiện nay về bệnh sinh miễn dịch của HBV, không thể dùng chủng ngừa thụ động đơn thuần để làm tiệt căn virut, nhất là ở các BN ghép gan đang dùng thuốc ức chế miễn dịch. Tuy nhiên, HBIG có thể trung hòa virion lưu hành, có lẽ qua sự kết tủa miễn dịch và hình thành phức hợp miễn dịch. Sự thuyên giảm nhiễm HBV kết hợp với việc hình thành phức hợp miễn dịch của các lớp phụ IgG1 và IgG3. Celis và cs đề nghị là các kháng thể đơn dòng hoặc đa dòng phức hợp miễn dịch với HBsAg (anti-HBs) có thể gây hiệu quả miễn dịch mạnh chống HBsAg. Phức hợp miễn dịch có thể tăng lượng HBsAg trung hòa bởi các tế bào trình diện kháng nguyên và tăng cường một đáp ứng tăng sinh của các dòng tế bào T đặc hiệu HBsAg.Tuy nhiên, phức hợp miễn dịch lưu hành của protein vỏ ngoài được ghi nhận ở các BN nhiễm HBV ẩn anti-HBc(+) và ở các BN nhận HBIG sau ghép gan có khả năng hồi phục nhiễm HBV mạn .

HBIG cũng có thể ảnh hưởng đến chức năng điều hòa miễn dịch, được chứng minh bằng IgG bình thường trong các rối loạn tự miễn. Các BN nhận HBIG lâu dài có một tỷ lệ thải mảnh ghép thấp hơn so với tất cả các chỉ định khác của ghép gan đúng vị trí, ngoại trừ bệnh gan do rượu, hơn nữa, trong một số BN ghép gan được trị liệu HBIG, HBV DNA có mặt trong các tế bào gan mà không có bằng chứng tổn thương tế bào gan, một đáp ứng viêm ký chủ, hoặc virut lưu hành cho thấy một vài thể ức chế hoặc dung nạp miễn dịch liên quan đến HBIG .

3.1.3. Nhiễm virut đột phá và đột biến HBV vỏ ngoài trong quá trình điều trị HBIG.

Các đột biến protein vỏ ngoài sau phơi nhiễm liên tục HBIG tương đối thường gặp. Ý nghĩa lâm sàng của các đột biến này cần được đánh giá riêng rẽ từng BN, vì không phải tất cả các đột biến liên quan đến tái nhiễm HBV có triệu chứng. Tuy nhiên, dựa vào kinh nghiệm có hạn chế, liệu pháp kết hợp dùng 2 tác nhân kháng virut có vẻ hiệu quả hơn khi dùng các tác nhân này kế tiếp nhau .

Sự xuất hiện các đột biến thoát thường xảy ra do sức ép chọn lọc gây nên bởi các tác nhân điều biến miễn dịch hoặc kháng virut hoặc bởi chính hệ miễn dịch. Các

đột biến gen bề mặt đã được mô tả kết hợp với chủng ngừa thụ động và chủ động, trong chẩn đoán nhiễm HBV cấp bị bỏ sót, ở các BN HBV điều trị với anti-HBs đơn dòng sau ghép gan và kết hợp với sự thất bại của HBIG đa dòng sau ghép. Một nghiên cứu báo cáo về sự gia tăng đáng báo động các đột biến protein vỏ ngoài từ 9% trước năm 1992 đến 54% sau này, hiện tượng có thể do hậu quả dùng anti-HBs huyết tương người cho (được chủng ngừa chống HBV) thay vì anti-HBc(+)/anti-HBs(+) để bào chế HBIG. Các đột biến thường xảy ra ở HBV trung hòa quyết định a của protein bề mặt, giữa aa121-149 là mục tiêu chủ yếu đối với HBIG và chứa aa trội 142-145 với một thay thế glycin thành arginin tại aa145. xuất hiện các đột biến như thế tương quan với thời gian điều trị và với tỷ lệ thất bại mẫu ghép tăng lên. Các đột biến này thường không được phát hiện do các hạn chế của xét nghiệm phát hiện hiện nay. Ý nghĩa lâm sàng của các đột biến HBsAg còn chưa chắc chắn, vì không phải tất cả các BN đều phát triển các dấu hiệu lâm sàng của tổn thương gan khi tái nhiễm với các virut thoát hoặc ngay cả với virut nguyên sinh, có thể một phần do ức chế miễn dịch. Ngưng điều trị HBIG thường dẫn đến hồi biến từ tình trạng virut huyết đột biến thoát trở về thể nguyên sinh. Cuối cùng, hiện chưa có nhất trí về liệu pháp HBIG nên ngưng hay không khi chẩn đoán có virut đột phá .

Đa số các nhà lâm sàng ngưng HBIG, ít nhất tạm thời và thử dùng một trong các tác nhân kháng virut mới như LAM

3.1.4. HBIG kết hợp với các tác nhân kháng virut mới

Tái phát nhiễm HBV dù điều trị HBIG đơn thuần có thể xảy ra, tùy thuộc vào sao chép và lượng virut trước khi ghép gan. Vì thành công giới hạn với interferon alpha trong bệnh cảnh ghép gan, sự chú ý gần đây tập trung vào các tác nhân kháng virut mới hơn, bao gồm LAM, famciclovir, ganciclovir và adefovir. Hiện nay, liệu pháp kháng virut kèm thêm HBIG có thể được cân nhắc trong một số tình huống lâm sàng bao gồm:

1. Điều trị trước khi ghép gan ở BN có sao chép HBV rõ ràng
2. Điều trị sau ghép ở BN dùng HBIG có bằng chứng sao chép virut trước ghép
3. Các BN phát triển nhiễm virut đột phá-thoát trong khi nhận điều trị HBIG
4. Các BN sau ghép không được điều trị HBIG
5. Nhiễm HBV sau ghép mới
6. LAM ức chế men phiên mã ngược của HBV

Vì thế, sao chép virut có thể bắt đầu bị ức chế trong gần 100% BN, nhưng tình trạng virut huyết bùng phát sẽ xảy ra trên 80% sau khi ngưng điều trị. LAM cũng có một tác dụng điều biến miễn dịch bằng cách khôi phục tính đáp ứng kém tế bào T đối với kháng nguyên nucleocapsit. Nếu được xác định, đặc tính này có thể giải thích một phần các báo cáo mâu thuẫn về chuyển huyết thanh anti-HBs sau ghép.

Một số các nghiên cứu đã xác định hiệu quả của LAM trong bệnh cảnh quanh ghép (peri-OLT), đơn thuần, hoặc phối hợp với HBIG. Tỷ lệ tái phát sau ghép thay đổi từ 17,5 - 50% với các tỷ lệ cao hơn gặp ở những người có bằng chứng sau ghép. Trong một thử nghiệm gồm 13 BN, dùng LAM trước ghép và sau ghép phối hợp LAM với HBIG thải trừ HBV sau ghép ở tất cả BN trong 28 ngày, xét nghiệm PCR không thấy bằng chứng HBV lưu hành cho đến 346 ngày.

Hai tác nhân kháng virut khác, famciclovir một tiền chất của penciclovir và ganciclovir được đánh giá trong các nghiên cứu ban đầu trong dự phòng tái nhiễm HBV mẫu ghép khá thành công và các thử nghiệm lớn hơn cần thiết nhằm xác định vai trò của các tác nhân này.

3.1.5. Các khuyến cáo hiện nay và các dự báo tương lai

Đến nay, các BN sau ghép gan có nguy cơ phải nhận từ 80.000-120.000 đơn vị HBIG hàng năm để ngừa tái nhiễm HBV mẫu ghép với thời gian không thể xác định. Chi phí của HBIG ở châu Âu cao hơn ở Mỹ, vào khoảng 28 đến 47 cents cho mỗi đơn vị anti-HBs tiêm bắp đến 1 USD cho một đơn vị tiêm tĩnh mạch. Như thế chi phí hàng năm từ 22.400 đến 120.000 USD khiến nhiều BN không đủ điều kiện ghép gan.

Các phát triển mới về liệu pháp kháng virut sẽ hạ thấp giá thành và cải tiến quy trình điều trị hiệu quả. LAM nên được bắt đầu ít nhất 4 tuần trước ghép, nhưng khó mà chọn thời gian lý tưởng vì ngày ghép gan thường khó dự kiến. Tuy nhiên, cách dùng LAM đơn thuần trong ghép gan có thể được làm rõ qua các thử nghiệm lâm sàng có đối chứng, có thể tin là tỷ lệ 40% đột biến YMDD đột phá hiện nay (được chọn lọc qua liệu pháp kháng virut và kết hợp với kháng thuốc) thuyết phục mạnh mẽ chống lại việc duy trì điều trị LAM đơn thuần trong đa số BN. Các BN phát triển đề kháng LAM sau ghép có thể đáp ứng với tác nhân kháng virut khác như adefovir dipivoxil, do phát triển đột biến YMDD. Tuy nhiên, phải chờ các số liệu từ các thử nghiệm lâm sàng có đối chứng thích hợp trước khi chọn một tác nhân thực nghiệm mới cho các BN có sao chép HBV trước ghép. Bởi thế, dù có các hạn chế nêu trên, điều trị với LAM trước ghép và HBIG sau đó hình như là chiến lược tốt nhất hiện nay cho các BN này; hạ thấp liều HBIG và dùng đường tiêm bắp có thể giảm thêm giá thành của dự phòng HBV sau ghép.

Liệu pháp HBIG không nên ngưng nếu không có bằng chứng nhiễm virut đã thuyên giảm hoặc chuyển huyết thanh anti-HBs kéo dài. Các BN ứng viên như thế bao gồm những người bị VG B kịch phát hoặc nhiễm virut delta, mà sự tái phát HBV của họ xuống thấp sau ghép hơn các BN bị VG B mạn. Một cố gắng gây chuyển huyết thanh anti-HBs ở người nhận HBIG một năm sau ghép qua tiêm chủng với HBsAg tái tổ hợp đã làm chuyển huyết thanh anti-HBs trong 14/16 BN Tây Ban Nha với thời gian theo dõi trung vị là 14 tháng không tái phát HBV. Tuy nhiên, nồng độ anti-HBs trong thực nghiệm này còn thấp, và cần phải theo dõi lâu dài hơn. Bởi thế,

trước khi ngưng HBIG, cần có một phương pháp xác định rõ ràng tình trạng hồi phục nhiễm HBV, và để xác định chuyển huyết thanh ẩn trong khi nhận HBIG. Bởi thế, phương pháp cải tiến trong việc ghi nhận thải trừ virut là cần thiết nhằm xác định thời khoảng điều trị tối ưu.

Khi không có thải trừ virut được ghi nhận, HBIG không được ngưng hoặc chỉ nên thay thế bằng liệu pháp kháng virut chỉ khi nào được giám sát chặt chẽ, nhất là trong các thử nghiệm lâm sàng.

3.2. CÁC BN VG B KỊCH PHÁT

Với các BN VG B kịch phát, HBIG dễ dàng kiểm soát nguy cơ tái nhiễm HBV. Trong nghiên cứu của Samuel và cs, các BN được ghép gan vì VG B kịch phát và được điều trị HBIG lâu dài, tỷ lệ tái nhiễm HBV bằng không. Ngược lại trong loạt điều trị của Tods và cs, tái nhiễm HBV xảy ra ở 718 BN được ghép gan vì VG B kịch phát mà không nhận Ig anti-HBs. Nghiên cứu ở đa trung tâm ở châu Âu cho thấy, dù điều trị gì đi nữa, nhiễm HBV tái phát trong 67% BN được ghép gan vì xơ gan liên quan đến HBV, 40% trong những người ghép gan vì VG kịch phát do HDV, 32% trong những người xơ gan liên quan đến HDV, và 17% ở những người ghép vì VG kịch phát liên quan đến HBV. Tỷ lệ tái phát thấp ở các BN VG B kịch phát có thể do đa số các BN này, HBV DNA(-) vào lúc ghép gan. Tác dụng của điều trị Ig anti-HBs dài ngày rõ ràng được nhấn mạnh trong nhóm các BN, với VG B kịch phát lần lượt là 50% ở các BN không nhận Ig anti-HBs và 0% ở các BN dùng Ig anti-HBs lâu dài. Tái nhiễm HBV ở các BN được ghép vì VG B kịch phát ít nặng nề hơn so với các BN được ghép vì xơ gan liên quan đến HBV.

3.3. VAI TRÒ CỦA SỰ SAO CHÉP HBV

3.3.1. Dự phòng miễn dịch anti-HBs đa clôn

Vai trò của tình trạng sao chép HBV trước ghép trong tái nhiễm HBV sau ghép lần đầu tiên được đề cập trong một nghiên cứu ở Pittsburgh, trên các BN được điều trị HBIG lâu dài; 8 trong 45 BN có anti-HBe(+), nhưng không có BN nào có HBeAg(+) thải trừ HBsAg sau ghép. Ngược lại, trong một nghiên cứu từ King's College, tái nhiễm HBV phát triển sau ghép trong 7/9 BN không sao chép và trong tất cả 10 BN sao chép. Theo Samuel và cs, mức độ HBV DNA trước ghép, được đánh giá bằng phương pháp lai trực tiếp, là yếu tố tiên lượng tốt nhất của tái nhiễm HBV sau ghép gan. Trong nghiên cứu đa trung tâm ở châu Âu trên 372 BN HBsAg(+) được ghép gan, tỷ lệ tái phát HBV tùy thuộc vào tình trạng sao chép của HBV được đánh giá bằng sự phát hiện HBeAg và HBV DNA trong huyết thanh vào lúc ghép. Có 83% xơ gan HBV có HBV DNA và HBeAg(+); 66% xơ gan HBV có HBV DNA(-) và HBeAg(+); 58% xơ gan HBV có HBV DNA và HBeAg đều âm tính (P =0,05). Tỷ lệ nhiễm HBV tái phát thấp trong các BN xơ gan HDV và trong các BN VG B kịch phát có thể là do đa số BN HBV DNA(-) vào lúc ghép gan. Trong

một phân tích đa biến số, HBeAg và HBV DNA(+) liên quan độc lập với nguy cơ tái phát HBV trong các BN ghép gan do xơ gan HBV. Sự phát hiện HBV DNA trước ghép bằng PCR, nhạy hơn phương thức lai trực tiếp, có thể giúp dự báo nguy cơ tái nhiễm tốt hơn sau ghép gan.

Bảng 15-2. Sự tái phát HBV sau ghép gan trong xơ gan do HBV (bất cứ tình trạng sao chép nào) [1]

Tác giả	Số BN	Điều trị dự phòng tái nhiễm HBV	Tái phát HBV (%)
Samuel và cs	40	Ig antiHBs lâu dài	59[a]
Muller cà cs	23	Ig antiHBs 6, 12 tháng	56,5
Todo và cs	38	Không, IFN, Ig antiHBs thời gian ngắn	81,6
Hopf và cs	7	Ig antiHBs lâu dài hoặc ngắn ngày+IFN	71,4
O'Grady cs	20	Không, Ig antiHBs ngắn ngày	90
Samuel và cs	29	Không	78[b]
	37	Ig antiHBs ngắn ngày	90[b]
	100	Ig antiHBs dài ngày	56[b,c]

[a] tỷ lệ thống kê bảo hiểm 2 năm.

[b] tỷ lệ thống kê 3 năm.

[c] p < 0,001 với thời gian ngắn và không điều trị

Bảng 15-3. Tái phát HBV sau ghép gan đối với xơ gan do HBV sao chép

Tác giả	Số BNs	Điều trị dự phòng tái nhiễm HBV	Tái phát HBV (%)
Samuel và cs	16	Ig antiHBs lâu dài	96[a]
Muller cà cs	9	Ig antiHBs 6, 12 tháng	89
O'Grady cs	11	Không, Ig antiHBs ngắn ngày	100
Samuel và cs	16	Không	75[b]
	14	Ig antiHBs ngắn ngày	71[b]
	47	Ig antiHBs dài ngày	70[b]

[a] tỷ lệ thống kê 2 năm.

[b] tỷ lệ thống kê 3 năm.

Bảng 15-4. Tái phát HBV sau ghép gan đối với xơ gan do HBV không sao chép

Tác giả	Số BN	Điều trị dự phòng tái nhiễm HBV	Tái phát HBV (%)
Samuel và cs	24	Ig antiHBs lâu dài	29[a]
Muller cà cs	14	Ig antiHBs 6, 12 tháng	28
O'Grady cs	9	Không, Ig antiHBs ngắn hạn	78
Samuel và cs	15	Không	67[b]
	13	Ig antiHBs ngắn hạn	92[b]
	37	Ig antiHBs dài ngày	38[b,c]

[a] tỷ lệ thống kê 2 năm.

[b] tỷ lệ thống kê 3 năm.

[c] p < 0,001 với thời gian ngắn và không điều trị

Tuy kết luận này không dựa trên các nghiên cứu có đối chứng, nhưng rõ ràng dùng lâu dài HBIG làm giảm tỷ lệ tái nhiễm HBV sau ghép gan trong các BN xơ gan do virut B HBV DNA(-) và trong BN VG kịch phát, nhưng không có trong các BN xơ gan do virut VG B có HBV DNA(+). Nhiều nghiên cứu gần đây đã cho thấy sự duy trì nồng độ kháng thể anti-HBs rất cao trong huyết thanh vượt quá 500 IU/L có thể giảm tỷ lệ tái nhiễm HBV trong các BN HBV DNA(+). Có sự nhất trí ở châu Âu là ghép gan có thể thực hiện ở các BN xơ gan HBV không sao chép nếu họ được điều trị bằng Ig anti-HBs tối thiểu là một năm (bảng 15-2). Tỷ lệ tái nhiễm HBV toàn bộ tùy theo tình trạng sao chép HBV trước ghép (bảng 15-3, 15-4).

3.3.2. Dự phòng miễn dịch anti-HBs đơn clôn

Giá thành cao của HBIG đa clôn, cần sử dụng lâu dài, và các kết quả xấu trong các BN HBV DNA(+) thúc đẩy sử dụng anti-HBs đơn clôn. Trong nghiên cứu của Samuel và cs, 7 BN đã được điều trị với anti-HBs đơn clôn của chuột; HBsAg đã tái xuất hiện trong 4 BN vào các ngày sau ghép 0, 143, 186, và 230. Một trường hợp tái nhiễm HBV sau ghép gan như một hậu quả của đột biến HBV đã được báo cáo, đột biến có thể là thứ phát đối với anti-HBs đơn clôn chọn lọc chống lại một biểu vị. Trong tương lai, việc sử dụng anti-HBs đơn clôn cho người là cần thiết chống lại các biểu vị được chọn lọc, qua đó tránh được các đột biến xuất hiện.

3.4. CHỦNG NGỪA CHỦ ĐỘNG

Chủng ngừa chủ động đã được dùng trong gan ghép, đơn độc hoặc kết hợp với HBIG. Nhiều phương thức đã được đề nghị: 4 liều dùng liên tiếp vacxin kết hợp HBIG hoặc một liều cao vacxin duy nhất. Theo Samuel và cs, liều cao (gấp 4 lần liều thông dụng) của một vacxin HBV chứa protein tiền S2 đã cho các kết quả đáng thất vọng, không thu được đáp ứng anti-HBs nào. Các kết quả từ các trung tâm khác cũng tương tự, nhưng có một số kết quả khác lại rất khích lệ, làm khó phác họa nên một kết luận rõ ràng nào về hiệu quả của chủng ngừa HBV trong dự phòng tái nhiễm HBV.

3.5. ĐIỀU TRỊ KHÁNG VIRUT

3.5.1. Trước khi ghép gan

Mục tiêu của điều trị kháng virut trước khi ghép gan là làm ngưng sao chép HBV và qua đó giảm nguy cơ tái nhiễm HBV sau ghép gan. Vì một trong những nguy cơ chính của nhiễm virut mẫu ghép là sự hiện diện của tình trạng sao chép virut trước khi ghép gan, điều này có vẻ hợp lý trong cố gắng phòng ngừa sao chép HBV trước khi ghép.

3.5.1.1. Interferon-α tái tổ hợp

Interferon-α tái tổ hợp (IFN) là một tác nhân kháng virut và kích thích miễn dịch. IFN chủ yếu được dùng trong các BN VG B mạn hoạt động hoặc xơ gan B còn bù và các BN có sao chép HBV. IFN làm ngưng sao chép HBV bằng cách thải trừ HBV DNA huyết thanh và chuyển huyết thanh HBeAg thành anti-HBe trong 30 đến 50% BN.

- Các yếu tố dự báo cho một đáp ứng tốt đối với IFN là những người gốc da trắng, nhiễm HBV trong tuổi vị thành niên hoặc tuổi trưởng thành, tình trạng ức chế miễn dịch, và không đồng nhiễm với HIV.

- Các yếu tố dự báo cho một đáp ứng kém là người gốc châu Á, nhiễm HBV vào lúc sinh hoặc trong thời kỳ chu sinh, và suy yếu miễn dịch.

Hơn nữa, IFN hiệu quả trong các BN có các mức độ HBV DNA thấp và mức transaminaza cao, và trong những người có kiểu HBV nguyên sinh. IFN thường được cho với liều 3 đến 10 triệu đơn vị, 3 lần một tuần, tiêm dưới da. Các tác dụng phụ gồm có giảm bạch cầu trung tính, giảm tiểu cầu, các triệu chứng giống cúm, các rối loạn tâm thần và các rối loạn tuyến giáp. Kinh nghiệm điều trị IFN trong các BN xơ gan mất bù, giảm bạch cầu trung tính, và giảm tiểu cầu (như các BN chờ ghép gan) thì nên hạn chế. Tổn thương gan tăng nặng, thường đi kèm chuyển huyết thanh HBeAg thành anti-HBe, có thể dung nạp IFN kém trong các BN có xơ gan nặng. IFN cũng được dùng ở các BN chờ ghép gan, và ghép gan khẩn cấp cần được cân nhắc nếu tình trạng chức năng gan xấu đi nghiêm trọng.

Trong một nghiên cứu thăm dò, interferon được dùng trước ghép cho 22 BN, không có tái phát virut sau ghép gan có ý nghĩa. Tuy nhiên, các BN này trở thành HBV DNA(-) với xét nghiệm PCR vào thời điểm ghép gan như một hậu quả của điều trị interferon làm ít tái nhiễm HBV sau ghép hơn các BN còn HBV DNA huyết thanh dương qua PCR. Điều này gợi ý rằng sự phát hiện HBV DNA huyết thanh bằng PCR có lẽ là một dự báo nguy cơ tái phát HBV. Interferon được dùng với liều cao và thời gian điều trị dài hơn có lẽ có thải trừ HBV DNA khỏi huyết thanh. Tuy nhiên, IFN liều cao khó duy trì trong nhóm BN này.

3.5.1.2. Các tác nhân kháng virut khác

Các tác nhân kháng virut được phát triển gần đây như ganciclovir, famciclovir và lamivudine có thể có vai trò trong nhiễm HBV. Thực vậy, các tác nhân này có một tác dụng kháng virut trực tiếp mạnh và nhanh, được dung nạp tốt, và vị trí của chúng trong bệnh cảnh trước ghép đang được nghiên cứu.

3.5.2. Sau ghép gan

Điều trị nhiễm HBV của mẫu ghép thì khó vì sao chép virut B cao, đang điều trị thuốc ức chế miễn dịch và bệnh ghép tiến triển nhanh.

3.5.2.1. Adenine Arabinoside A (ARA-A) và Monophosphate (ARA-AMP)

Các tác nhân kháng virut này tác động trực tiếp lên sự sao chép HBV mà không có tác dụng kích thích miễn dịch. Các tác dụng phụ bao gồm giảm bạch cầu hạt, đau cơ, và bệnh thần kinh ngoại vi. Thuốc được dùng tiêm tĩnh mạch (ARA-A) hoặc tiêm bắp (ARA-AMP). Trị liệu không kéo dài hơn 6 tuần vì các tác dụng phụ. Samuel và cs điều trị 21 BN tái nhiễm HBV sau ghép gan với ARA-AMP. Liều 10 mg/kg/ngày được cho trong 5 ngày, sau đó là 10 mg/ngày tiêm bắp trong 21 ngày. Dung nạp tương đối tốt, các tác dụng phụ chính là mệt mỏi và đau cơ thoáng qua. Một tác dụng kháng virut đáng kể được ghi nhận, nhưng tác dụng này tạm thời. Vào cuối điều trị, tất cả BN còn HBsAg(+) và 5/21 HBV DNA(-). Sau đó HBV DNA xuất hiện lại trong tất cả BN HBV DNA(-). Một liệu trình thứ nhì của ARA-AMP được dùng cho phần lớn BN, và 30% BN có thải trừ HBV DNA và 10% thải trừ HBsAg.

3.5.2.2. IFN tái tổ hợp

IFN đã được báo cáo gây thải loại cấp tính của mẫu ghép thận, và vì thế, được dùng thận trọng trong dự phòng hoặc điều trị tái nhiễm HBV sau ghép gan. Mặt khác, IFN kết hợp với sự phát triển thải loại cấp hoặc mạn tính trong các BN ghép gan được điều trị với VG C trong mẫu ghép. Ở một BN không dùng HBIG, IFN trong dự phòng tái nhiễm HBV cho các kết quả đáng thất vọng. Tuy nhiên, trong hai BN nhận HBIG và IFN lâu dài, tái nhiễm HBV không xảy ra. IFN cũng được dùng điều trị tái nhiễm HBV sau ghép gan mà không ảnh hưởng lên sao chép virut. Trong 13 BN tái nhiễm với HBV sau ghép gan được điều trị với IFN với liều 3 MU 3 lần một tuần trong 6 tháng, mức độ transaminaza không thay đổi và HBsAg vẫn còn; tác dụng trên nồng độ HBV DNA không được báo cáo trong thử nghiệm này. Trong một nghiên cứu gần đây tại Đại học California, San Francisco, 14 BN ghép gan với nhiễm VG B tái phát được điều trị với IFN tái tổ hợp, 3 triệu đơn vị, 3 lần một tuần với thời gian trung bình 23 tuần. 4/14 BN có đáp ứng hoàn toàn, mất HBV DNA trong huyết thanh. Trong 10 người không đáp ứng, một BN thải loại mảnh ghép và được ghép lại, 3 được ghép lại vì VG B tái phát, 3 chết, và 3 còn sống với tình trạng tồn tại HBV DNA huyết thanh.

3.5.2.3. Các tác nhân kháng virut khác

Vị trí của các tác nhân kháng virut mới như ganciclovir, famciclovir và lamivudine đã được đánh giá. Các lợi ích chính của các tác nhân kháng virut trực tiếp này là, do không có tác dụng kích thích miễn dịch, không tăng nguy cơ thải loại mảnh ghép. Tác dụng kháng virut của chúng mạnh và nhanh. Bất lợi chính cũng là bất lợi chung của tất cả tác nhân kháng virut là phải dùng trong khoảng thời gian lâu dài. Đây là một yếu tố hạn chế cho ganciclovir vì thuốc được dùng tiêm tĩnh mạch, nhưng không bất lợi lắm cho famciclovir và lamivudine. Thật vậy, có một nguy cơ

đột phá trong điều trị hoặc sự tái bùng phát sao chép virut khi các tác nhân này được ngưng dùng. Sự ra đời của các tác nhân này đã cải thiện đáng kể tình trạng của các BN ghép gan tái nhiễm với HBV. Với việc dùng phương pháp kháng virut trong điều trị, có thể thải trừ HBV DNA kéo dài khỏi huyết thanh trong 30% đến 50% các trường hợp, và thải trừ HBsAg khỏi huyết thanh trong 10% đến 20% BN.

4. CÁC BN VỚI TÌNH TRẠNG SAO CHÉP HBV

Nhóm Eurohep và Hội nghị đồng thuận về các chỉ định ghép gan đề nghị các BN có sao chép HBV phải được cân nhắc trong các thử nghiệm lâm sàng đang tiến hành tại các trung tâm đặc biệt. Samuel và cs cho rằng lựa chọn tốt nhất là kết hợp điều trị kháng virut cả trước và sau ghép, kết hợp với Ig anti-HBs. Kiểm soát sao chép như HBV DNA âm ít ra bằng các kỹ thuật lai qui ước, và nhất là bằng PCR trước ghép, phải là mục tiêu. Việc dùng ganciclovir, lamivudine hoặc famciclovir trong bệnh cảnh này, được nghiên cứu trong các thử nghiệm lâm sàng khắp thế giới. Sử dụng các tác nhân kháng virut sau ghép có lẽ phải tiếp tục cho đến khi thải trừ HBV DNA không chỉ ở gan, mà cả ở các điểm ngoài gan, đặc biệt là các tế bào đơn nhân máu ngoại vi. Trong một nghiên cứu, giảm ức chế miễn dịch được dùng ở các BN này, nhưng không có bằng chứng lâm sàng tuy đây là một phương pháp an toàn hoặc thực ra có lợi ích về mặt lâm sàng. Một vài tác giả cho rằng duy trì một nồng độ anti-HBs quá 500 IU/L sẽ hiệu quả hơn trong phòng ngừa tái nhiễm HBV.

5. GHÉP GAN ĐỐI VỚI BỆNH GAN LIÊN QUAN ĐẾN VIRUT HDV

HBV tái phát hiếm gặp ở các BN xơ gan do nhiễm HBV và HDV được ghép gan hơn là những người được ghép vì xơ gan do nhiễm HBV đơn thuần. Phần lớn BN bị xơ gan do HBV và HDV sẽ ngưng sao chép HBV vào lúc được ghép. Tỷ lệ sống sót của BN trong nhóm này khá tốt từ 91% năm đầu đến 87% vào năm thứ ba. Mặc dù số liệu tái phát thấp, cũng nên dùng anti-HBs dài ngày. Khi BN trở nên âm với HBsAg sau ghép, người ta thường phát hiện sự hiện diện của HDV trong huyết thanh (dưới dạng RNA) hoặc trong gan (dưới dạng HBV RNA). Sự hiện diện của dấu ấn delta khi mất HBsAg thường xảy ra năm đầu sau ghép; về lâu dài, các dấu ấn delta mất khỏi huyết thanh và gan. Trong các trường hợp hiếm gặp, HBsAg tái xuất hiện, người ta ghi nhận sự tái hoạt của HBV và HDV (với sự hiện diện của HBV DNA và HDV RNA) và VG mẫu ghép xảy ra. Trong trường hợp tái nhiễm HBV và HDV mẫu ghép hình như sẽ không nặng nề như khi tái nhiễm HBV đơn thuần.

6. TÓM TẮT

Tần suất tái nhiễm HBV sau ghép gan cao trong các BN xơ gan do HBV hơn là trong VG B kịch phát và liên quan đến tình trạng sao chép HBV trước khi ghép gan. Việc dùng lâu dài Ig anti-HBs sau ghép gan là phương pháp tốt nhất phòng ngừa tái

nhiễm HBV, giảm tỷ lệ tái nhiễm xuống dưới 30% trong các BN HBV DNA(-) có xơ gan liên quan HBV và xuống 0% ở các BN VG B kịch phát. Việc dùng IFN trước ghép gan không làm giảm tỷ lệ tái nhiễm HBV, nhưng điều trị bằng IFN lâu dài cần được đánh giá. Các phương thức mới cho dự phòng và điều trị nhiễm HBV cần được đánh giá sau này. Các tác nhân kháng virut mới hoặc phối hợp các tác nhân này trước và sau ghép gan cùng với mức độ bảo vệ cao của các kháng thể HBs có thể giảm hơn nữa tỷ lệ tái nhiễm HBV sau ghép gan, ngay cả trong BN có sao chép HBV.

Tại nước ta, thuộc vùng dịch lưu hành cao, số người xơ gan và UTTBG là khá lớn, hiện chưa được điều trị đúng mức. Trong khi đó, ở các nước phát triển, ghép gan là một trong các phương thức đã đem lại nhiều hy vọng cho các BN này với tỷ lệ thành công ngày càng cao. Đây phải là một trong những mục tiêu mà ngành y tế cần phải đạt được trong những năm sắp đến.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. **Samuel D, Bismuth H, Marcellin P, Benhamou JP.** Liver transplantation in the management of chronic viral hepatitis. In Zuckerman AJ, Thomas HC, editors. Viral Hepatitis. 2nd ed. London. Churchill Livingstone; 1998: 237-44.

2. **Samuel D; Féray C; Bismuth H.** Hépatites virales et transplantation hépatique. La revue du praticien (Paris), 1995; 45:197-201.

3. **Shouval D; Samuel D.** Hepatitis B Immune Globuline to prevent Hepatitis B Virus Graft Reinfection Following Liver Transplantation: A Concise Review. Hepatology 2000; Vol 13, No 6: 1189-1195.

Chương 16

CÁC KHÍA CẠNH PHÂN TỬ CỦA UNG THƯ TẾ BÀO GAN

Trang

1. SỰ KẾT HỢP DỊCH TỄ GIỮA HBV VÀ UTTBG 438
1.1. Bằng chứng của dịch tễ học HBV và UTTBG 440
1.2. Đặc điểm của dịch tễ học HBV và UTTBG 440
1.3. Các yếu tố nguy cơ dẫn đến UTTBG liên quan đến HBV 441
2. BỘ GEN VIRUT VG B 442
3. CÁC ĐẶC ĐIỂM SINH UNG THƯ CỦA PROTEIN VIRUT 445
3.1. Chất chuyển hoạt hoá X 445
3.1.1 Biểu hiện của gen HBx 445
3.1.2. Chức năng của protein X 446
3.1.3.Protein X được xem như một chất chuyển hoạt biên độ rộng 446
3.1.4. Các thực nghiệm 447
3.2. Glycoprotein bề mặt (vỏ ngoài) 448
3.2.1.Các glycoprotein vỏ ngoài trung bình và nhỏ (hoặc chính) (MHBs và SHBs): 448
3.2.2.Các glycoprotein vỏ ngoài lớn (LHBs) 449
4. HOÀ NHẬP VIRUT TRONG UTTBG. 450
4.1. Các chuỗi mà HBV hoà nhập 450
4.1.1. Các chuỗi mã hoà nhập được phát hiện trong đa số UTTBG 450
4.1.2. Các xen đoạn HBV vào bộ gen tế bào gan ký chủ 450
4.1.3.Các điểm hoà nhập của bộ gen HBV 451
4.1.4. Tái tổ hợp bộ gen HBV vào tế bào gan chủ 451
4.1.5. Sự phiên mã của các thành phần của gen S hoà nhập 452
4.1.6. Sự phiên mã của các thành phần của gen X hoà nhập 452
4.2. Các điểm đích tế bào 453
4.2.1.Các điểm đích tế bào cho sự hoà nhập 453
4.2.2.Sự hoà nhập HBV DNA có thể làm tăng tính không ổn định nhiễm sắc thể 453
4.2.3. Vùng xen đoạn của HBV trên nhiễm sắc thể tế bào gan ký chủ 453
4.3. Sự hoạt hoá xen đoạn của các gen Myc trong UTTBG MACMOT 455
4.3.1. Sự hoà nhập chuỗi mã WHV 456
4.3.2. Hoạt hoá xen đoạn của gen N-myc 456
4.3.3. Các nghiên cứu khác ở loài sóc đất 457
4.3.4. Các vấn đề cần giải quyết trong tương lai 457
5. UTTBG Ở BN HBSAG(-) 458
5.1. HBV và người nghiện rượu 458
5.2 Tần suất của UTTBG ở người có HBsAg(-) 459
6. THAY ĐỔI DI TRUYỀN TRONG UTTBG LIÊN QUAN ĐẾN HBV 462
7. CÁC YẾU TỐ KHÁC LIÊN QUAN TRONG BỆNH SINH UTTBG 464
8. TÓM TẮT 464
TÀI LIỆU THAM KHẢO 465

1. SỰ KẾT HỢP DỊCH TỄ GIỮA HBV VÀ UTTBG

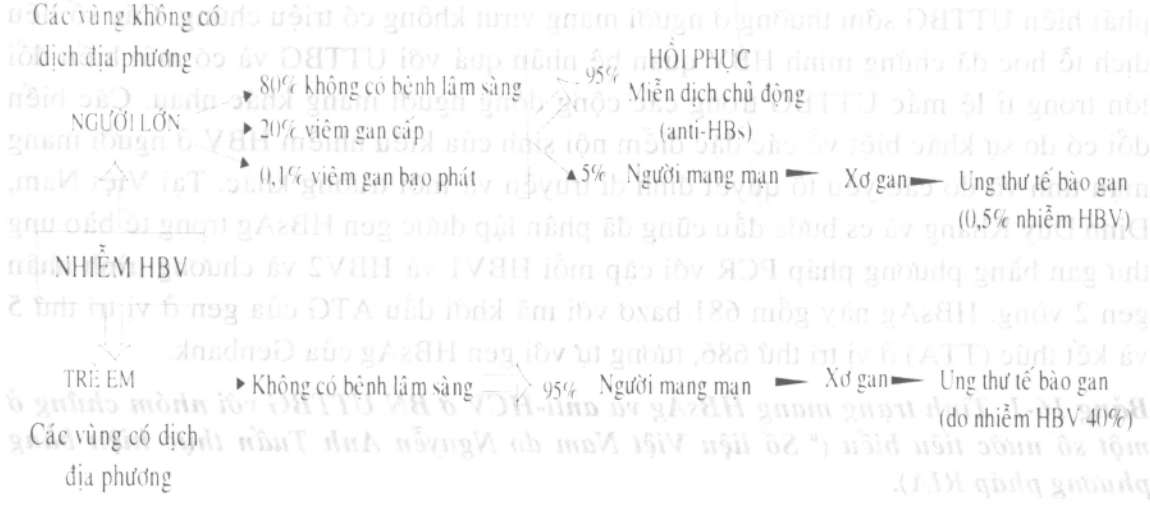
Ung thư tế bào gan (UTTBG) nằm trong số những ung thư thường gặp nhất trên thế giới và là một trong số ít ung thư của loài người liên quan về dịch tễ với nhiễm virut. Vai trò của virut VG B (HBV), tác nhân chủ yếu trong UTTBG, đã được xác định và nguy cơ phát triển UTTBG đã được dự đoán ở người mang HBV mạn cao gấp hàng trăm lần so với cộng đồng không nhiễm. Điều đó đã đưa HBV vào một trong các tác nhân hàng đầu sinh ung thư của loài người. Về dịch tễ học, một yếu tố gắn kết giữa HBV và UTTBG từ các virut loài vật cùng với HBV, tạo nên nhóm Hepadnaviridae và gây VG virut cấp và mạn tính có thể dẫn tới UTTBG. HBV sinh ung thư qua cơ chế trực tiếp hay gián tiếp hiện vẫn còn tranh luận.

HBV thường được cho là không có tác dụng trực tiếp sinh ung thư hoặc tác dụng gây bệnh trên tế bào gan nhiễm virut. Sự chuyển dạng ung thư xảy ra sau một thời gian bệnh gan mạn kéo dài, thường kết hợp với xơ gan, cho thấy một cơ chế không đặc hiệu gây ra do đáp ứng miễn dịch chống lại tế bào gan nhiễm virut. Nhiễm virut mạn tính của gan, chết tế bào tiếp diễn và do đó tăng sinh tế bào có thể làm tăng các yếu tố nguy cơ sinh ung thư. Trong một lộ trình đặc hiệu hơn, việc sản xuất protein virut kéo dài ngăn cản các quá trình biến dưỡng nội sinh và làm tế bào gan nhạy cảm đối với chất gây đột biến nội sinh hoặc ngoại sinh. Các dữ liệu gần đây dùng chuột chuyển gen chứng minh giả thuyết cho là biểu hiện mất trật tự của protein virut X, một chất hoạt hóa phiên mã, hay protein bề mặt lớn có thể góp phần vào bệnh sinh UTTBG. Virut có thể có vai trò trực tiếp như một tác nhân sinh đột biến xen đoạn. Hòa nhập DNA virut vào bộ gen ký chủ gây hoạt hóa gen tiền ung thư trực tiếp hoặc các thay đổi nhiễm sắc thể thứ phát. Một vai trò như thế đã được gợi ý bởi sự phát hiện các chuỗi mã virut hòa nhập trong DNA tế bào của UTTBG liên quan đến HBV. Tuy nhiên, hoạt hóa xen đoạn của gen có khả năng sinh ung thư chỉ được mô tả trong một ít trường hợp, và các hậu quả bất ổn di truyền do việc hòa nhập virut đã không được xác định. Các chuỗi mã HBV hòa nhập cũng có thể thay đổi sự kiểm soát tăng trưởng tế bào chủ đối bên *(in trans)*. Tất cả các cơ chế này không thể loại trừ nhau. Đến nay, tuy có nhiều thông tin về các yếu tố nguy cơ liên quan nhân quả với UTTBG, vai trò tác nhân virut và các đồng yếu tố sinh ung thư chỉ được làm sáng tỏ một phần và không có mô hình thống nhất nào giải thích cho sự góp phần của các yếu tố virut và tế bào vào bệnh sinh UTTBG đã được xác định.

Ngược lại, gần đây các nghiên cứu trên động vật nhiễm Hepadnaviridae và UTTBG tự nhiên đã đưa ra vai trò nổi trội của gen ung thư *myc* trong bệnh sinh UTTBG do hepadnavirut loài gậm nhấm gây ra. Một virut liên quan chặt chẽ với HBV là WHV, tác động chính như một tác nhân gây đột biến xen đoạn, hoạt hóa các gen thuộc họ *myc* (c-*myc* và N-*myc*) trong hơn 90% các khối u ở sóc macmot. Virut này là một virut DNA điển hình đầu tiên gây các xen đoạn với một tần số như thế.

Một virut liên quan khác là virut gây VG ở loài sóc đất (GSHV), sinh ung thư yếu hơn. Sự hòa nhập của GSHV DNA không dính líu vào quá trình sinh ung thư ở ký chủ tự nhiên, các khuếch đại thường thấy của gen ung thư c-*myc* đã được mô tả ở các khối u loài sóc. Gần đây, các hepadnavirut có liên quan khác được phân lập từ loài sóc bắc cực ở Alaska, nhưng các cơ chế bệnh sinh UTTBG trong loài vật nhiễm virut này đến nay chưa được xác định. Ở UTTBG người, không có bằng chứng cho thấy một vai trò quyết định của gen *myc* được hoạt hóa, tuy khuếch đại c-*myc* đôi khi được mô tả, gợi ý đến một cách chuyển dạng khác. Các khác biệt liên quan đến các quyết định virut hoặc đến các yếu tố đặc hiệu loài cần được xác định.

Các nghiên cứu dịch tễ học đã góp phần tích cực vào sự hiểu biết nguyên nhân của UTTBG. Vào cuối năm 1970, nhiễm HBV mạn được chứng minh là yếu tố nguy cơ chính sinh UTTBG. Các kết luận này đã kích thích nghiên cứu về cơ chế phân tử liên quan giữa HBV và UTTBG. Các yếu tố sinh UTTBG khác cũng liên quan trong bệnh sinh UTTBG người, như phơi nhiễm với aflatoxin trong thực phẩm và nghiện rượu nặng; các dữ kiện dịch tễ học gợi ý một tương quan giữa nhiễm virut mạn với HCV, xơ gan và UTTBG.



***Hình 16-1.** Sơ đồ về mối liên quan về dịch tễ học giữa HBV và UTTBG.*

Truyền nhiễm HBV, sự tiến triển đến mạn tính và tỷ lệ mắc UTTBG ở các nước có dịch và không có dịch địa phương.

Do sự kết hợp chặt chẽ nêu trên nên UTTBG có liên quan với nhiễm HBV được qui ước gọi là UTTBG nguyên phát (Dưới đây chữ UTTBG được hiểu là UTTBG nguyên phát). UTTBG nguyên phát xếp vào hàng ung thư hay gặp nhất của nam giới ở nhiều nước. Một dự đoán mới đây cho thấy UTTBG là ung thư thường gặp đứng hàng thứ 8 trên thế giới, với khoảng 250.000 trường hợp mới mỗi năm, trong đó 70% xảy ra ở châu Á.

1.1. BẰNG CHỨNG CỦA DỊCH TỄ HỌC HBV VÀ UTTBG

Nhiều bằng chứng kết hợp nhiễm HBV mạn với sự phát triển UTTBG (bảng 16-1):

1. Tỉ lệ mới mắc UTTBG và tần suất các dấu ấn huyết thanh có kiểu phân bố địa lý tương tự. UTTBG thường gặp trong vùng mà HBV là dịch lưu hành. Trong những vùng nhiễm HBV ít gặp, UTTBG thấp hơn nhiều so với các kiểu ung thư khác.
2. Bằng chứng huyết thanh nhiễm HBV được phát hiện độ 61% ở BN UTTBG châu Phi và 86% ở Trung Hoa, so với 22% cộng đồng dân cư toàn bộ sống trong các vùng này.
3. Nguy cơ của UTTBG tăng đáng kể đã được chứng minh ở người mang HBsAg so với người không mang (khoảng 200 yếu tố nguy cơ đã được báo cáo trong các nhóm chủng tộc và xã hội khác nhau qua các phương pháp nghiên cứu khác nhau).

1.2. ĐẶC ĐIỂM CỦA DỊCH TỄ HỌC HBV VÀ UTTBG

Nhiễm HBV mạn kéo dài thường có trước khi bị UTTBG, nhưng đôi khi UTTBG cũng có thể xảy ra ở trẻ HBsAg(+) dưới 12 tuổi. Ngược lại, một số lớn người mang HBsAg không biết họ đang mang virut cho đến cuối đời. Ở Viễn Đông, hiện nay phát hiện UTTBG sớm thường ở người mang virut không có triệu chứng. Các số liệu dịch tễ học đã chứng minh HBV quan hệ nhân quả với UTTBG và có một biến đổi lớn trong tỉ lệ mắc UTTBG trong các cộng đồng người mang khác nhau. Các biến đổi có do sự khác biệt về các đặc điểm nội sinh của kiểu nhiễm HBV ở người mang mạn tính và do các yếu tố quyết định di truyền và môi trường khác. Tại Việt Nam, Đinh Duy Khang và cs bước đầu cũng đã phân lập được gen HBsAg trong tế bào ung thư gan bằng phương pháp PCR với cặp mồi HBV1 và HBV2 và chương trình nhân gen 2 vòng. HBsAg này gồm 681 bazơ với mã khởi đầu ATG của gen ở vị trí thứ 5 và kết thúc (TTA) ở vị trí thứ 686, tương tự với gen HBsAg của Genbank.

Bảng 16-1. Tình trạng mang HBsAg và anti-HCV ở BN UTTBG với nhóm chứng ở một số nước tiêu biểu ([a] Số liệu Việt Nam do Nguyễn Anh Tuấn thực hiện bằng phương pháp RIA).

Nước	HBsAg(+) %		Anti-HCV dương %	
	UTTBG	Nhóm chứng	UTTBG	Nhóm chứng
Phần Lan	4	0,2	58	0,68
Pháp	9	2,2	75	1,15
Nhật	12	1,8	75	0,5
Hy Lạp	46	7,3	39	0,6
Nam Phi	61	11,3	29	0,7
Hong Kong	82	18	7	0,64
Trung Quốc	86	22	25	
Đài Loan	91	15-22	33	0,95
Việt Nam[a]	66,2			

1.3. CÁC YẾU TỐ NGUY CƠ DẪN ĐẾN UTTBG LIÊN QUAN ĐẾN HBV

Truyền nhiễm từ mẹ sang con gây tình trạng nhiễm HBV mạn có nguy cơ cao hơn những người mắc VG B lúc tuổi lớn, có lẽ do các khác biệt trong thời gian ủ bệnh (hình 16-1). Ở người mang HBsAg nhiễm virut lúc nhỏ, nguy cơ UTTBG tăng lên ở người HBeAg(+), có tổn thương gan đáng kể, kháng thể anti-HBe cao trong VG mạn và sự hiện diện của xơ gan.

Giới tính: Có sự khác nhau về giới tính (nam giới có nguy cơ từ 2 đến 8 lần phát triển UTTBG so với nữ).

Bảng 16-2. Tỷ lệ mới mắc UTTBG hàng năm được điều chỉnh theo tuổi giữa nam và nữ

Nước (có đăng ký báo cáo bệnh tật)	Tỷ lệ mới mắc (trong 100.000 người/năm)	
	Nam	Nữ
Mozambique (Marques)	112,9	30,8
Zimbabwe, Bulawayo	64,6	25,4
Algeria	1,6	1,4
Mỹ		
Người Trung Quốc	19,1	3,6
Người da đen	3,8	1,8
Người Nhật Bản	3,0	0,4
Người da trắng	2,9	1,1
Trung Quốc (Thượng Hải)	31,7	9,1
Singapore		
Người Trung Quốc	32,2	7,1
Người Malay	17,1	3,1
Người Ấn	14	4,8
Triều Tiên	13,8	3,2
Nhật (Nagasaki)	11,9	2,9

Khuynh hướng gia đình: các nhóm gia đình UTTBG hay gặp ở châu Á được ghi nhận như các yếu tố liên quan đến tần số phát triển ung thư.

Các khác biệt địa lý trong tử vong UTTBG và tần suất HBsAg đã được quan sát ở các vùng dịch lưu hành, cho thấy có liên quan đến các yếu tố độc lập hoặc phối hợp khác.

Các yếu tố môi trường:

Aflatoxin: trong những vùng dịch bệnh lưu hành cao, đặc biệt ở miền Nam châu Phi và các tỉnh miền nam Trung Quốc, sự hiện diện của aflatoxin trong thực phẩm và UTTBG đã được đưa ra trong nhiều báo cáo. Khả năng sinh ung thư của aflatoxin B_1 trong tế bào gan được biết rõ ở nhiều loài, tác động trong việc gây ra các đột biến gen p53.

Rượu: dùng quá nhiều rượu cũng làm nguy cơ UTTBG ở người mang HBV cũng như ở người xơ gan có tuổi trong những vùng tần suất HBV thấp. Tuy nhiên, việc tồn tại chung với nhiễm HBV thường không phát hiện qua các xét nghiệm huyết thanh qui ước, hoặc tồn tại chung với nhiễm HCV trong hơn 90% BN ở nhiều nước khác nhau đã đưa ra vấn đề tần suất của VG mạn gây nên do rượu.

Thuốc lá và thuốc ngừa thai uống lâu dài: vẫn còn tranh cãi.

Đồng nhiễm với các virut VG khác

Nhiễm HDV gây tổn thương gan nặng và xơ gan, có thể khởi phát nhanh UTTBG.

Nhiễm HCV: nhiễm HBV, đơn độc hoặc kết hợp với các đồng yếu tố, có thể chỉ dính líu trong 20% trường hợp UTTBG trong các vùng dịch bệnh lưu hành thấp (Bắc Mỹ và châu Âu) và Nhật Bản. Ở Nhật, tỉ lệ mắc UTTBG đã liên tục tăng lên trong thập niên vừa qua, nhưng số các trường hợp liên quan đến HBV chỉ tăng nhẹ. Hiện nay, hình như nhiễm HCV, một virut RNA ở người liên quan đến Flaviviridae và Pestiviridae, góp phần phát triển UTTBG ở các vùng này, cũng như trong những nước dịch bệnh HBV lưu hành cao (như Trung Quốc). Với sự phát triển các dấu ấn của HCV, hiện nay bằng chứng của sự kết hợp giữa nhiễm HCV, xơ gan và UTTBG đang tăng lên.

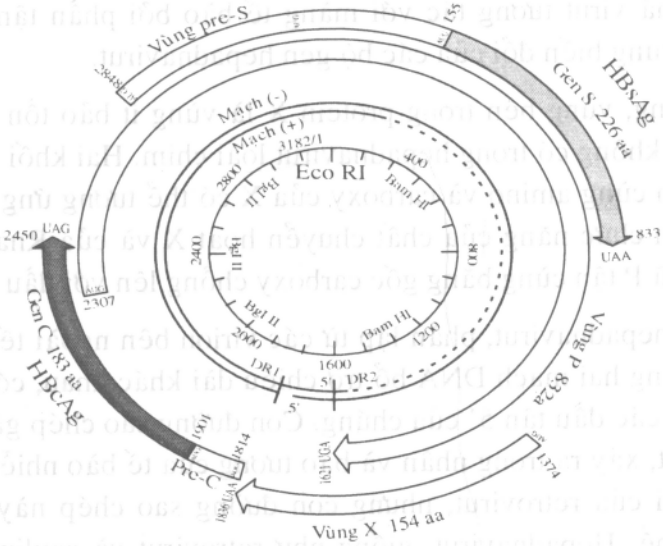
Xơ gan và UTTBG: sự liên quan giữa xơ gan và UTTBG có vẻ phức tạp, và mức độ tương quan thay đổi theo nguyên nhân của xơ gan. Xơ gan hạt to có trước hoặc kèm theo phần lớn là HBV (hơn 80% ở châu Á và 40%-60% ở châu Phi) và số còn lại là UTTBG liên quan đến HCV ở trẻ em, cũng như ở các lứa tuổi lớn hơn. Nguy cơ của UTTBG đã được xem là thấp hơn ở xơ gan hạt nhỏ HBsAg(-) thấy ở người nghiện rượu. Xơ gan và sự sinh ung thư gây nên do tác động của các yếu tố thường gặp, hay nguy cơ UTTBG tăng lên có thể liên quan đến vài cơ chế như sự kích thích tái tạo, xảy ra ở xơ gan, còn là một vấn đề chưa giải quyết.

2. BỘ GEN VIRUT VG B

Bộ gen HBV: các nghiên cứu virut học và phân tử đã phác họa một cấu trúc của bộ gen HBV, khả năng mã hóa của nó, kiểu phiên mã của các bộ gen virut riêng biệt và dung lượng chức năng của chúng. Các dạng sao chép DNA virut chủ yếu và lắp ráp virion bên trong tế bào gan nhiễm virut đã được phát hiện. Các tương tác giữa virut và tế bào kiểm soát sự gắn dính, sự cởi bỏ màng bao, nhập nội bào và các thụ thể bề mặt đối với HBV chưa được xác định đầy đủ.

Các chuỗi mã nucleotit và aa của HBV DNA được nhân dòng từ các kiểu phụ virut khác nhau (*adw, adr, ayw, ayr*) đã phát hiện một bộ gen có kích cỡ 3.2 kb và có sự hiện diện của 4 khung đọc mở (KĐM) (hình 16-2).

Các vùng C và S đặc hiệu cho protein cấu trúc của lõi và bề mặt virion (hoặc màng bao); protein dài nhất là P, mã hóa một polyprotein cần trong sao chép virut, chứa các hoạt tính đoạn mồi và sao chép (primase và replicase). KĐM nhỏ nhất được gọi là X, mã hóa cho một chất chuyển hoạt phiên mã. Toàn bộ bộ gen virut mã hóa hai KĐM khác nhau và một phần lớn bộ gen ở trong hai KĐM này. Ấn tượng nhất là sự gối lên nhau của gen P với các gen virut khác, một đặc trưng thường gặp ở các cấu trúc có tính phiên mã ngược, là sự gối lên nhau ổn định và bất thường của các chuỗi mã mã hóa và điều hòa (gen khởi đầu, gen tăng cường và tín hiệu kết thúc). Bộ gen của nhiều kiểu HBV phụ khác nhau do thay thế nucleotit đơn thuần hoặc thêm vào nhiều khối 3 nucleotit, duy trì các KĐM và chỉ thay đổi các aa bảo tồn.



***Hình 16-2.** Cấu tạo bộ gen của HBV.*

Vòng bên trong minh họa một bản đồ giới hạn của bộ gen *ayw*. Bộ gen mạch kép không hoàn chỉnh được trình bày bằng đường vòng đậm. Bốn KĐM mã hóa 7 peptit được minh họa bằng các mũi tên lớn. DR1 và DR2 là 2 chuỗi mã lặp lại trực tiếp tại các cực của các mạch DNA virut.

Biến dị bộ gen ở các virut kiểu phụ tương tự đã được xác định ở nhiều BN khác nhau và trên cùng một BN ở nhiều thời điểm khác nhau trong nhiễm virut cấp. Các biến dị gen này có thể góp phần vào các sai lầm trong tổng hợp DNA mạch âm bằng men phiên mã ngược, một enzym thiếu chức năng đọc-sửa liên quan đến polymerase. Một số các đột biến trong vùng tiền-S/S, trong gen lõi, hoặc trong gen khởi đầu gen lõi dẫn đến các biến dị HBV với các thay đổi đặc điểm bệnh học và miễn dịch học. Các đột biến thường gặp ở vùng tiền lõi ức chế sản xuất HBeAg và thường gây tổn thương gan nặng. Các hạt virut khiếm khuyết mang một bộ gen mất đoạn đã được mô tả, cho thấy HBV cùng với các virut khác, nhất là với retrovirut, phát triển các biến dị khiếm khuyết ở ký chủ.

Tuy các thể virut mất đoạn đã được quan sát ở UTTBG người, tạo nên các protein dung hợp lõi/polymerase, nhưng không có bằng chứng thực nghiệm về các bộ gen HBV khiếm khuyết tự do có các đặc tính sinh ung thư, hoặc các kiểu phụ HBV đặc hiệu có thể sinh ung thư nhiều hơn các kiểu khác.

So sánh bộ gen HBV với bộ gen của hepadnavirut loài vật cho thấy cấu tạo bộ gen về cơ bản giống nhau và có nhiều tương đồng ở mức nucleotit và aa. Các vùng bảo tồn nhất ở trên các gen C và S và trong polymerase virut. Mức độ tương đồng yếu hơn trong vùng tiền-S1, tuy vẫn có cấu tạo chung và hướng không ưa nước tương tự. Biên độ chủ hẹp của các hepadnavirut khác nhau gợi ý thụ thể tế bào của các virut này (hiện chưa xác định đầy đủ) bảo tồn yếu trong quá trình phát triển. Do đó, các chuỗi mã virut tương tác với màng tế bào bởi phần tận cùng amino của vùng tiền-S1, là vùng biến đổi của các bộ gen hepadnavirut.

Cuối cùng, vùng bên trong protein X là vùng ít bảo tồn ở hepadnavirut loài có vú, gen này không có trong hepadnavirut loài chim. Hai khối tương đồng mạnh trong các phần tận cùng amino và carboxy của X có thể tương ứng với sức ép bảo tồn đối với hoạt tính chức năng của chất chuyển hoạt X và của Rnase H virut mã hóa bởi các chuỗi mã P tận cùng bằng gốc carboxy chồng lên với đầu tận 5' của X.

Bộ gen hepadnavirut, phân lập từ các virion bên ngoài tế bào nhiễm virut, được tạo thành bằng hai mạch DNA bổ trợ chiều dài khác nhau, có cấu trúc vòng bởi các cặp bazơ tại các đầu tận 5' của chúng. Con đường sao chép gần giống nhau giữa các hepadnavirut, xảy ra trong nhân và bào tương của tế bào nhiễm virut, có thể so sánh với vòng đời của retrovirut, nhưng con đường sao chép này hoàn toàn bên ngoài nhiễm sắc thể. Hepadnavirut, giống như retrovirut và caulimovirut, có bước phiên mã ngược trong sao chép. Tính tương đồng giữa các men phiên mã ngược của các virut này cho thấy chúng có một nguồn gốc tiến hóa chung.

Trong nhiễm hepadnavirut có sao chép, một cân bằng nghiêm ngặt về số lượng các sản phẩm gen virut riêng biệt cần cho sao chép virut hoạt động và phóng thích các virion gây nhiễm, cũng như cần cho sự tồn tại của của tế bào chủ nhiễm virut. Mặc dù kích cỡ bộ gen HBV nhỏ và một cấu tạo khá đặc của các chuỗi mã mã hóa, biểu hiện của các gen virut khác nhau lệ thuộc vào sự điều hòa phức tạp với các mức độ khác nhau, cả phiên mã và sau phiên mã. Mỗi gen HBV được kiểm soát bởi một bộ tín hiệu điều hòa độc lập, có lẽ tác động phối hợp với các thành phần HBV trong biểu hiện gen virut. Trong gan nhiễm virut mạn và trong các dòng tế bào giúp sao chép virut hoạt động, hai phiên mã HBV chính với kích cỡ phân tử 3.5 và 2.1 kb được sản xuất từ khuôn cccDNA với các mức độ gần tương tự và các phiên mã nhỏ 2.4 và 0,8 kb đã được mô tả. Các RNA polyadenyl hóa trực tiếp tổng hợp 7 protein virut:

- Loại 3,5 kb RNA mã hoá protein lõi, kháng nguyên e, polymerase.
- Loại 2,1 kb RNA mã hóa glycoprotein bề mặt chính và trung bình
- Loại 2,4 kb RNA mã hóa protein bề mặt lớn
- Loại 0,8 kb RNA mã hóa hoạt tính chuyển hoạt X

Kiểu phiên mã của các hepadnavirut sóc đen (WHV) và sóc đất (GSHV) trong gan nhiễm mạn tính khá giống nhau, trong khi các phiên mã DHBV khác nhau chủ yếu do mức độ RNA 2,4 kb cao hơn. Trong bộ gen HBV, hai thành phần gen tăng cường kích thích phiên mã từ các gen khởi đầu virut: EN I, định vị khoảng 450 bp trên dòng của gen khởi đầu lõi và EN II định vị trong vùng mã hóa gen X. Gần đây, các nghiên cứu gen tăng cường WHV, GSHV và DHBV đã nêu ra tính đặc hiệu gan thường gặp nhưng phân ly tiến hóa đáng kể trong các thành phần điều hòa hepadnavirut.

3. CÁC ĐẶC ĐIỂM SINH UNG THƯ CỦA PROTEIN VIRUT

Biểu hiện kéo dài của các gen virut từ lâu đã được cho là không trực tiếp tác động gây độc tế bào. Chuyển nhiễm các tế bào nuôi cấy có HBV DNA thường không kết hợp với chuyển tính sinh ung thư và đa số các dòng chuyển gen của chuột mang bộ gen HBV nguyên vẹn hoặc các cấu trúc gen phụ không bao giờ cho thấy dấu hiệu tổn thương tế bào gan nào. Tuy nhiên, các nghiên cứu gần đây trong các hệ thực nghiệm riêng biệt cho thấy biểu hiện quá mức khác thường của các protein virut, gồm sản phẩm gen X và các protein bề mặt trong các thể nguyên gốc hoặc đã biến đổi, có thể góp phần làm tế bào gan bị nhiễm chuyển dạng ác tính.

3.1. CHẤT CHUYỂN HOẠT HOÁ X

KĐM HBV nhỏ nhất ban đầu được mang tên X, vì lúc đó người ta chưa rõ nó có mã hóa protein nào không trong nhiễm HBV. Khảo sát các chuỗi mã nucleotit và aa của HBx đã giúp dự đoán một cơ chế điều hòa cho polypeptit X và đã phát hiện sự sử dụng codon tương tự như trong các gen tế bào nhân thực, cho thấy rằng X có lẽ được tải nạp bởi bộ gen HBV. Sự bảo tồn mạnh của các chuỗi mã X trong các kiểu phụ HBV và sự hiện diện các KĐM trong các bộ gen WHV và GSHV cho thấy các sản phẩm của chúng có thể quan trọng trong sao chép.

3.1.1. Biểu hiện của gen HBx

Biểu hiện của gen HBx đã được quan sát lần đầu bởi Moriarty và Kay. Hai tác giả đã báo cáo huyết thanh của các BN UTTBG liên quan đến HBV nhận biết các peptit tổng hợp trên cơ sở các chuỗi mã X. Biểu hiện của KĐM X trong các tế bào nhân nguyên thủy và nhân thực dùng nhiều vật truyền khác nhau cho phép nhận dạng một polypeptit 16,5 kDa phản ứng với các mẫu huyết thanh ở một số BN nhiễm HBV. Các kháng thể anti-HBx được phát hiện ở các BN nhiễm cấp khoảng 3-4 tuần

sau khi xuất hiện các dấu hiệu lâm sàng và hay gặp ở các người mang HBsAg mạn như là các dấu ấn của tình trạng sao chép virut hoạt động và bệnh gan mạn.

Tuy nhiên, các nghiên cứu gần đây đã thất bại trong việc phát hiện protein HBx trong UTTBG liên quan đến HBV, trong khi protein X được phát hiện ở gan loài macmot nhiễm virut mạn và ở UTTBG cho phép sao chép WHV. Protein X chủ yếu ở trong bào tương của các tế bào nhiễm virut *in vivo* tại hoặc gần màng huyết tương và ở ngoại vi của nhân. Protein X cũng được phát hiện trong nhân của các dòng tế bào chuyển nhiễm .

3.1.2. Chức năng của protein X

Nhiều số liệu có vẻ mâu thuẫn đã thu thập gần đây về chức năng HBx trong nhiễm virut tự nhiên. Có 2 đặc trưng nổi bật cần được quan tâm.

- Xác định gen X cần thiết trong việc hình thành tình trạng nhiễm virut ở macmot.
- Sản phẩm gen X có thể chuyển hoạt phiên mã từ một số HBV và các gen khởi đầu dị thể khá quan trọng trong việc xác định vai trò sao chép virut và trong bệnh sinh.

3.1.3. Protein X được xem như một chất chuyển hoạt biên độ rộng

Tình trạng virut kích thích tế bào chủ sao chép các thành phần di truyền của chính nó:

- Protein X hoạt hóa phiên mã từ các gen khởi đầu HBV ghép cặp với các gen tăng cường và kích thích sản xuất virut trong các thử nghiệm chuyển nhiễm tạm thời.
- Protein X cũng hoạt động trên các gen khởi đầu virut dị dạng như gen khởi đầu sớm SV40, gen khởi đầu thymidin kinase của virut herpes simplex (HSV-TK), virut sarcom Rous (RSV) và đoạn lặp lại ở đầu tận dài (LTR) của virut suy giảm miễn dịch người (HIV), các gen khởi đầu tế bào gồm cả α-interferon, HLA-DR, và gen khởi đầu c-*fos*, c-*myc*.
- HBx không trực tiếp gắn DNA và có thể kích thích biểu hiện gen qua tương tác với các chất hoạt hóa phiên mã như AP-1, AP-2, CREB, ATF-2, NF-*k*B và có thể Spl hoặc với các thành phần của bộ máy phiên mã cơ bản.
- Các nghiên cứu chứng minh tác động gián tiếp của HBx bằng hoạt hóa tín hiệu qua trung gian của dòng thác Ras-Raf-MAPK hoặc bởi protein kinase C, một chức năng phù hợp với sự định vị trong bào tương ưu thế của HBx *in vivo* và trong thực nghiệm.

Tuy nhiên, biểu hiện của gen tế bào minh chứng các gen khởi đầu đáp ứng X bị kích thích ở các tế bào gan nhiễm HBV *in vivo* chưa được xác định.

3.1.4. Các thực nghiệm

Nhiều bằng chứng về vai trò của HBx trong bệnh sinh liên quan đến HBV đã được chứng minh qua các nghiên cứu gần đây:

Nghiên cứu in vitro

- HBx được báo cáo là gắn kết và bất hoạt chức năng protein p53 ức chế khối u.
- HBx tương tác với XAP-1, một DNA tế bào sửa chữa protein giống với protein gắn DNA bị tổn thương bởi tia cực tím của khí, có thể tác động đến khả năng tế bào trong việc sửa chữa các chuỗi mã DNA đột biến và làm tích tụ các thay đổi gen.
- HBx tác động lên phức hợp proteasom, được chứng minh bằng xét nghiệm lai kép và đồng định vị.

Nghiên cứu in vivo

Cho tới nay còn rất ít bằng chứng về tác động sinh ung thư trực tiếp của HBx *in vivo*.

Mức độ biểu hiện X cao được chứng minh gây chuyển dạng ác tính của vài tế bào nuôi cấy, như dòng tế bào NJH3T3 và các tế bào gan bất tử biểu hiện kháng nguyên ung thư SV40.

Các nghiên cứu về chuột chuyển gen mang KĐM X được kiểm soát bởi các chuỗi mã của gen tăng cường và gen khởi đầu HBV tự nhiên hoặc bởi các gen khởi đầu đặc hiệu gan dị thể đã làm các kết quả thêm nhiều mâu thuẫn.

- Trong một dòng chuột chuyển gen sinh ra trên cơ sở CD1 nhân giống ngoài dòng, biểu hiện HBx mức độ cao trong gan làm xuất hiện dần các trung tâm tế bào gan biến đổi, các khối u tuyến tăng sinh và carxinoma ác tính đã giết đa số con vật đực trước 15 tháng tuổi.
- Ngược lại, chuỗi thế hệ chuột thứ nhì có biểu hiện HBx thấp hơn phát triển UTTBG cùng một tỉ lệ như chuột CD1 bình thường, và các dòng chuyển gen HBx khác sinh ra ở các chủng chuột khác nhau không phát triển bệnh gan rõ ràng, tuy gen X được biểu hiện trong các tế bào gan và protein HBx có thể được phát hiện.

Các số liệu này cho thấy HBx không có hoạt tính chuyển dạng cấp tính, nhưng sự biểu hiện thái quá của nó ở chủng chuột CD1 có thể hợp tác với các gen ung thư tế bào được hoạt hoá làm chuyển dạng tế bào gan qua nhiều bước. Các ý kiến ủng hộ giả thuyết này gần đây được chứng minh bằng sự phát hiện protein X của hepadnavirut làm nhạy cảm tế bào gan trong việc chuyển dạng ác tính ở chuột chuyển gen được xử lý với chất sinh UTTBG cùng với c-*myc* trong bệnh sinh UTTBG. Các động vật thực nghiệm chuyển gen cung cấp một cơ sở nhằm xác định sự tham dự của HBx trong biểu hiện gen thay đổi và sự phát triển tế bào mất điều hòa trong bệnh sinh ung thư nhiều giai đoạn.

29-VGVRB&D

Phân tích trực tiếp gan người và các mẫu sinh thiết UTTBG

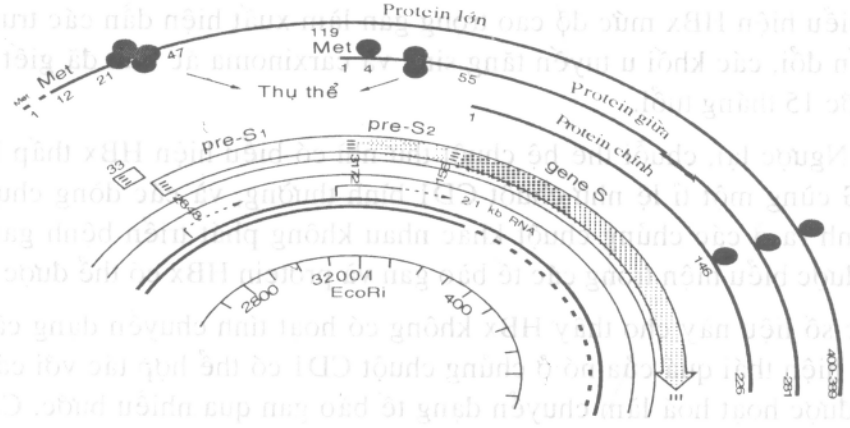
Phân tích các chuỗi mã virut hòa nhập trong DNA của khối ung thư đã đưa ra một trong các cơ chế dẫn đến sự biểu hiện quá độ của HBx trong gan nhiễm virut mạn và trong UTTBG.

Các chuỗi mã HBV thường bị ngắt quãng giữa các sự lặp lại trực tiếp của DR1 và DR2 do hòa nhập vào DNA tế bào chủ. Sự sản xuất thừa thãi các phiên mã lai virut-ký chủ có thể gây hòa nhập HBV DNA vào một dòng UTTBG. Sự hiện diện các phiên mã virut-ký chủ chứa một phiên bản đầu tận 3' bị cắt cụt của vùng mã hóa X dung hợp với các chuỗi mã tế bào bên và giữ lại khả năng chuyển hoạt lần đầu được mô tả trong UTTBG người. Hơn nữa, tăng cường khả năng chuyển hoạt của các sản phẩm gen X hòa nhập liên quan đến sự thay thế gốc tận cùng carboxy virut bằng aa tế bào. Khả năng chuyển hoạt các sản phẩm X bị cắt cụt tương tự được thực hiện do dung hợp các chuỗi mã HBV hòa nhập với DNA tế bào kế cận cũng được chứng minh ở nhiều mô VG mạn. Điều này cho thấy gen X hòa nhập có lẽ cần trong việc duy trì kiểu hình khối u phát triển ở các giai đoạn ban đầu sinh ung thư. Phù hợp với mô hình này, các mối nối virut-chủ được sắp xếp trong vùng tận cùng carboxy của X trong phần lớn UTTBG người.

Nhìn chung, các nghiên cứu về chức năng protein HBx gần đây đã góp phần phác họa rõ hơn tầm quan trọng của nó trong chuyển dạng ác tính gây nên bởi nhiễm HBV tồn tại.

3.2. GLYCOPROTEIN BỀ MẶT (VỎ NGOÀI)

Trong nhiễm HBV tự nhiên, sự sản xuất các virion gây nhiễm và các hạt HBsAg tùy vào sự điều hòa của 3 glycoprotein vỏ ngoài (hình 16-3).



Hình 16-3. *Bản đồ di truyền của 3 protein HBs* (kiểu phụ *ayw*).

3.2.1. Các glycoprotein vỏ ngoài trung bình và nhỏ (hoặc chính) (MHBs và SHBs)

Không có tổn thương gan cũng như không có UTTBG được quan sát trong các chuỗi thế hệ chuyển gen sản xuất các protein bề mặt chính và trung bình từ các

chuỗi mã điều hòa có nguồn gốc từ HBV. Tuy nhiên, số lượng và tốc độ xuất hiện các khối tiền ung thư và các ung thư nguyên phát kèm theo việc sử dụng các chất sinh ung thư đã được chứng minh tăng nhẹ ở gan chuột chuyển gen HBsAg(+), khi so sánh với con vật đẻ cùng lứa HBsAg(-), cho thấy biểu hiện HBsAg có thể tăng các tác động của chất sinh UTTBG.

3.2.2. Các glycoprotein vỏ ngoài lớn (LHBs)

Khi gen khởi đầu tiền-S1 nội sinh được thay thế bằng gen khởi đầu ngoại sinh (metallothionein hoặc gen khởi đầu albumin), sự sản sinh tỉ suất đẳng mole thô của protein S lớn đối với protein S chính và trung bình dẫn đến tích tụ nội bào các hạt vỏ ngoài hình sợi không bài tiết vào trong lưới nội bào của tế bào gan chuột chuyển gen, tạo nên các tế bào gan "kính mờ", mà các đặc trưng mô học và siêu cấu trúc đã được mô tả, được xem là điển hình của VG B mạn và cuối cùng giết chết tế bào gan.

Các vòng bên trong miêu tả một phần của bộ gen HBV được minh họa trong hình 16-2. Các điểm khởi đầu phiên mã được mô tả sơ lược. Các vòng bên ngoài cho thấy các protein lớn (LHBs), trung bình (MHBs) và chính (hoặc nhỏ) (SHBs) của vỏ ngoài. Việc đánh số dựa vào các aa của các sản phẩm dịch mã ban đầu. Met, codon gen khởi đầu methionin. Điểm tròn đen lớn đánh dấu các vị trí của các gốc glycosyl hóa, và bán cầu đen tương ứng với các vùng có thể gắn dính vào màng tế bào.

Trong các chuỗi thế hệ chuột chuyển gen, VG tồn tại nhẹ sau đó phát triển các nốt nhỏ tái tạo và cuối cùng là UTTBG vào lúc 12 tháng tuổi. Vào giai đoạn tiền ung thư, tế bào gan tăng sinh mạnh mẽ và tổn thương DNA oxy hóa lan tỏa được ghi nhận, các nốt nhỏ và các khối u tiền ung thư thu nhỏ đáng kể trong biểu hiện chuyển gen, cho thấy các tế bào gan biểu hiện mức độ polypeptit S lớn thấp (LHBs) có một lợi ích sống sót chọn lọc.

Các đồng yếu tố hóa học ngoại sinh không tạo ra gen sinh ung thư trong mô hình này, nhưng phơi nhiễm của chuột chuyển gen trưởng thành đối với chất sinh UTTBG làm phát triển nhanh hơn và lan tỏa các tổn thương tiền ung thư và UTTBG trong khi lô chứng không chuyển gen có hình thể gan không thay đổi.

Số liệu này cho thấy biểu hiện protein S không thích hợp có khả năng gây độc tế bào gan trực tiếp và có thể khởi đầu một dòng thác các sự kiện và cuối cùng chuyển dạng ác tính, tuy cơ chế phân tử của các yếu tố virut và ký chủ trong quá trình chưa được làm rõ.

Các nghiên cứu về các chuỗi mã HBV hòa nhập ở các u gan người cũng cho thấy một vai trò có thể có trong biểu hiện bất thường của gen S virut trong sự phát triển UTTBG.

- Mất đoạn vùng đầu tận carboxy của gen S sinh hoạt tính chuyển hoạt phiên mã mới.

• Các chuỗi mã HBV hòa nhập ở khối u người và dòng tế bào có nguồn gốc từ UTTBG cũng như các cấu trúc khác có các chuỗi mã tiền-S2/S bị cắt cụt tương tự, có thể kích thích gen khởi đầu SV40 trong các thử nghiệm chuyển nhiễm tạm thời. Tuy polypeptit S đột biến được giữ lại trong lưới nội bào và thể Golgi, sự chuyển hoạt xảy ra ở mức độ phiên mã và tùy thuộc vào gen tăng cường SV40.

• Gen khởi đầu P2 c-*myc* cũng kích hoạt đối bên (in *trans*). Các phát hiện này củng cố giả thuyết cho rằng sự cắt cụt 3' tình cờ của các gen tiền-S2/S hòa nhập có thể là yếu tố căn nguyên trong sinh ung thư liên quan đến HBV.

4. HOÀ NHẬP VIRUT TRONG UTTBG

Con đường sao chép hepadnavirut trong các tế bào nhiễm virut xảy ra bên trong nhân và bào tương và không cần bước hòa nhập DNA virut vào bộ gen tế bào chủ. Tuy nhiên, hepadnavirut có chung với các thành phần ngược khác của nguồn tiến hóa thường gặp, có khả năng hòa nhập DNA vào các nhiễm sắc thể tế bào. Các sự kiện phân tử dẫn đến sự xâm nhập của DNA hepadnavirut vào DNA tế bào không hoàn toàn được sáng tỏ.

Sự hòa nhập virut có thể giữ vai trò trong quá trình chuyển dạng do virut, hoặc tăng trưởng chọn lọc trên các tế bào đích làm khởi phát các nốt nhỏ tiền ung thư, hoặc tạo một bước phụ trong tiến triển ung thư. Trong khi sự kích hoạt xen đoạn của các gen ung thư nguyên thủy hiện nay là một sự kiện thường gặp ở UTTBG macmot do WHV, một cơ chế liên quan như thế trong các mẫu UTTBG rất hiếm gặp, trong đó các hoạt tính khác nhau đối với các chuỗi mã HBV hòa nhập đã được đề nghị.

4.1. CÁC CHUỖI MÃ HBV HOÀ NHẬP

4.1.1. Các chuỗi mã hòa nhập được phát hiện trong đa số UTTBG

Các chuỗi mã HBV hòa nhập đã được quan sát trong các dòng tế bào UTTBG và độ 80% UTTBG người. Sự hòa nhập HBV DNA xảy ra ở giai đoạn sớm trong nhiễm virut cấp tự nhiên và trong nhiễm thực nghiệm ở tế bào nuôi cấy. Trong các mô VG mạn, các chuỗi mã HBV hòa nhập đã được phát hiện trong đa số các UTTBG liên quan đến HBV xuất hiện từ sự tăng trưởng quá mức dòng vô tính của một ít các tế bào gan chuyển dạng.

4.1.2. Các xen đoạn HBV vào bộ gen tế bào gan ký chủ

Các xen đoạn HBV đơn thuần thường gặp ở UTTBG trẻ em nhưng ít gặp ở tuổi lớn cho thấy nhiều hòa nhập xảy ra trong quá trình nhiễm HBV lâu dài tích tụ bên trong một tế bào duy nhất. Các nghiên cứu về cấu tạo của HBV nhân dòng xen đoạn vào các mô gan và UTTBG đã cho thấy các chuỗi mã HBV được phân đoạn, tái sắp xếp và sự hòa nhập cùng các điểm tái tổ hợp được phân tán trên bộ gen virut cho

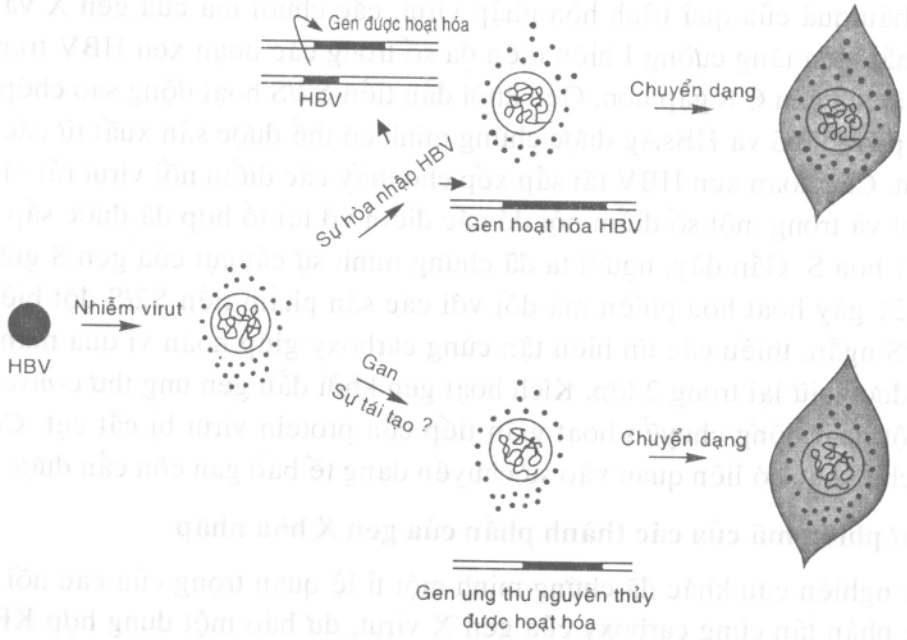
thấy hòa nhập HBV không xảy ra qua một cơ chế duy nhất, như trong trường hợp các retrovirut khác.

Các bộ gen toàn phần không có mặt trong tất cả HBV xen đoạn, bao gồm các bộ gen phụ dạng thẳng hoặc các mảnh tái sắp xếp theo các định hướng khác nhau, cho thấy các chuỗi mã không thể là một khuôn mẫu cho sự sao chép virut. Các dạng hòa nhập tạo nên một mảnh bộ gen phụ, thường gặp trong UTTBG và các mô VG của trẻ em, được tin là tiêu biểu cho các sản phẩm hòa nhập ban đầu. Các dạng này được quan tâm đặc biệt trong nghiên cứu các cơ chế phân tử có trách nhiệm hòa nhập HBV DNA.

4.1.3. Các điểm hòa nhập của bộ gen HBV

Các điểm hòa nhập thích hợp nhất đã được sắp xếp trong bộ gen HBV trong vùng "đầu tận cố kết", nằm giữa hai lặp lại trực tiếp 11 bp (DR1 và DR2) bảo tồn cao trong hepadnavirut. Một vùng hẹp bao quanh DR1 được chứng minh là đặc biệt thiên về tái tổ hợp. Vùng này xảy ra đồng thời với một lặp lại tận cùng ngắn của DNA mạch âm, làm cho một cấu trúc mạch ba thành bộ gen virut vòng. Các điểm hòa nhập kết cụm chặt chẽ tại cả hai đầu tận 3' và 5' của DNA mạch âm, cho thấy sự sao chép tác động và đặc biệt làm giãn DNA vòng có thể là các cơ chất tiền hòa nhập ưu tiên.

4.1.4. Tái tổ hợp bộ gen HBV vào tế bào gan ký chủ



Hình 16-4. Lộ trình chuyển dạng theo giả thuyết kết hợp với nhiễm HBV trong các tế bào gan người.

DNA virut có thể khởi động các gen tăng trưởng tế bào "in trans" qua các sản phẩm protein biến đổi của các chuỗi mã virut hòa nhập (X bị cắt cụt hoặc gen tiền-S2/S) (lộ trình trên), hoặc trực tiếp "in cis" bằng sự hòa nhập kế cận với các gen này (lộ trình giữa). Sự chết tế bào tiếp diễn và sự tái sinh do nhiễm virut tồn tại có thể châm ngòi sự hoạt hóa sai lệch của các gen tiền ung thư tế bào (lộ trình dưới).

Sự xâm nhập DNA tế bào bằng HBV DNA mạch đơn, dùng chủ yếu đầu tận 3' tự do, có thể xảy ra qua một cơ chế tái tổ hợp không chính thống, cũng cho thấy bằng tính đồng dạng mảng thường gặp giữa HBV và các chuỗi mã tế bào tại các điểm vỡ tái tổ hợp. Tuy các thay đổi nhỏ khác nhau trong DNA tế bào bên kết hợp với sự hòa nhập virut (cả mất đoạn vi thể và các lặp đoạn ngắn đã được mô tả), các cơ chế chính xác hơn đã được đề nghị.

Vùng chuyên trách tái tổ hợp vắt qua DR1 nằm gần chuỗi mã giống U5 bảo tồn cao giữa các hepadnavirut, cho thấy các chuỗi mã cần cho sự tái tổ hợp chính xác với DNA tế bào đã được duy trì từ một tổ tiên chung với retrovirut, mặc dầu vắng mặt một gen mã hóa cho một men hòa nhập trong bộ gen HBV. Sắp xếp các điểm men đồng phân định vị 1 thích hợp (topo 1=topoisomerase1) gần DR1 và DR2 và các nghiên cứu *in vitro* của sự hòa nhập WHV DNA vào trong DNA tế bào đã ủng hộ giả thuyết cho rằng topo1 có thể xúc tiến sự tái tổ hợp không chính thống của DNA hepadnavirut *in vivo*.

4.1.5. Sự phiên mã của các thành phần của gen S hòa nhập

Do hậu quả của quá trình hòa nhập virut, các chuỗi mã của gen X và S và của thành phần gen tăng cường I hiện diện đa số trong các đoạn xen HBV trong khi các chuỗi mã của gen C ít gặp hơn. Gen khởi đầu tiền-S2/S hoạt động sao chép trong thể hòa nhập UTTBG và HBsAg được chứng minh có thể được sản xuất từ các đoạn xen của virut. Các đoạn xen HBV tái sắp xếp cho thấy các điểm nối virut rải rác khắp bộ gen virut và trong một số điểm nối đó các điểm vỡ tái tổ hợp đã được sắp xếp trong vùng mã hóa S. Gần đây, người ta đã chứng minh sự cắt cụt của gen S giữa các gốc 77 và 221 gây hoạt hóa phiên mã đối với các sản phẩm tiền-S2/S đột biến. Protein tiền-S2/S ngắn, thiếu các tín hiệu tận cùng carboxy giúp hoán vị qua màng lưới nội bào và được giữ lại trong 2 lớp. Kích hoạt gen khởi đầu gen ung thư c-*myc* có lẽ gây ra từ một hoạt động chuyển hoạt gián tiếp của protein virut bị cắt cụt. Cơ chế này hay cơ chế khác có liên quan vào sự chuyển dạng tế bào gan còn cần được xác định.

4.1.6. Sự phiên mã của các thành phần của gen X hòa nhập

Các nghiên cứu khác đã chứng minh một tỉ lệ quan trọng của các nối virut định vị trong phần tận cùng carboxy của gen X virut, dự báo một dung hợp KĐM X vào các chuỗi mã tế bào bên theo một kiểu có thể bảo toàn dung lượng chức năng của tác nhân chuyển hoạt hóa X. Bằng chứng cho hoạt tính phiên mã ở các chuỗi mã X

hòa nhập đã được chứng minh trong các khối u và ở gan nhiễm virut mạn và có lẽ tương quan với sự mất đoạn HBxAg trong một số UTTBG người. Một số các peptit dung hợp X virut và tế bào nằm ở tính hoạt hóa phiên mã cũng đã được chứng minh. Sự tham dự của các chuỗi mã tế bào dưới dòng đối với biểu hiện hoạt hóa và để tăng cường khả năng chuyển hoạt của các chuỗi mã HBV hòa nhập đã được đề nghị. Các số liệu cho thấy biểu hiện bất thường của gen X hòa nhập và bị cắt cụt góp phần vào sự sinh ung thư liên quan đến HBV bằng sự điều chỉnh biểu hiện bình thường của các gen tế bào lệch (*in trans*) (hình 16-4).

4.2. CÁC ĐIỂM ĐÍCH TẾ BÀO

4.2.1. Các điểm đích tế bào cho sự hòa nhập

Nghiên cứu các xen đoạn virut khác nhau ở nhiều UTTBG người đã phát hiện sự hòa nhập có thể xảy ra tại nhiều điểm trên nhiều nhiễm sắc thể. Các nghiên cứu này không thể chứng minh sự hiện diện của một gen ung thư trội đã biết hoặc một gen ức chế ung thư trong vùng kế cận điểm hòa nhập. Hòa nhập HBV DNA có thể xảy ra ngẫu nhiên ở bộ gen người và không có tác động sinh đột biến trực tiếp trên các gen kiểm soát tăng trưởng trong đa số trường hợp. Tuy nhiên, ngược với quan niệm đã có, sự hòa nhập của các thành phần ngược và virut có lẽ không hoàn toàn ngẫu nhiên. Điều này đã được chứng minh qua các điểm có thể cho hòa nhập của retrovirut trong DNA nhân thực thì nhiều nhưng không phải không có giới hạn (độ 500-1.000). Các thành phần lặp lại đơn giản được xem là các điểm nóng cho sự xen đoạn HBV trong bộ gen người. Quả thực, các lập lại kiểu Alu, kiểu vệ tinh nhỏ, vệ tinh III và một số thay đổi của các chuỗi mã lặp lại theo kiểu bộ đôi thường gần các điểm xen đoạn HBV, cho thấy các vùng nhiễm sắc thể có thể tiếp cận với các họ riêng biệt của các chuỗi mã lặp lại di động cũng là các đích ưu tiên cho xen đoạn HBV. Một ngăn DNA tế bào nhỏ (H3) được xác định bằng một thành phần bazơ gần với thành phần của HBV DNA và một nồng độ lập lại Alu cao đã được xem là đích chủ yếu cho sự hòa nhập HBV ổn định.

4.2.2. Sự hòa nhập HBV DNA có thể làm tăng tính không ổn định nhiễm sắc thể

Trong nhiều khối u, các lập đoạn đảo lớn, các mất đoạn, khuyếch bội hoặc hoán vị nhiễm sắc thể kết hợp với xen đoạn HBV, cho thấy quá trình này có thể như một gen đột biến ngẫu nhiên, làm tăng các khiếm khuyết nhiễm sắc thể trong các tế bào gan. Mặt khác, HBV DNA có thể đẩy mạnh sự tái tổ hợp tương đồng ở một khoảng từ điểm xen đoạn. Vai trò của phần lớn các bất thường nhiễm sắc thể chưa được xác định, tuy một ít trường hợp các ổ gen P53 hoặc Hst-1 đã bị thay đổi do hậu quả hòa nhập HBV trong vùng nhiễm sắc thể tương tự.

4.2.3. Vùng xen đoạn của HBV trên nhiễm sắc thể tế bào gan ký chủ

Bằng chứng cho cơ chế xen đoạn gen khởi đầu hoạt tính *cis* trực tiếp đã được chứng minh trong 2 UTTBG độc lập. Các nhà nghiên cứu lần đầu phân tích các khối

u đã phát triển trong gan không bị xơ từ sự tăng sinh clôn của một tế bào chứa virut hòa nhập.

Xen đoạn xảy ra ở vùng ngoại của nhiễm sắc thể tế bào gan người

Trong một trường hợp, xen đoạn HBV xảy ra trong một vùng ngoại của gen alpha thụ thể axit retinoic (RAR-α) và các gốc tận cùng 29 aa dung hợp của gen tiền-S1 virut vào vùng gắn DNA và gắn hormon của RAR-α. Axit retinoic và retinoid là các chất có nguồn gốc từ vitamin A có tác dụng mạnh mẽ trên sự biệt hóa và tăng sinh một lượng lớn các hệ thống. RAR là thành viên của họ thụ thể kích tố tuyến giáp steroit, gồm cả gen ung thư nguyên thủy c-*erb*A. Gần đây, sự hoán vị nhiễm sắc thể dung hợp gen RAR-α vào gen tế bào được gọi là *PML* liên can đến lơxêmi tiền tủy bào cấp. Trong UTTBG người, hình như đa số kích hoạt không thích hợp của RAR-α gây ra trong biểu hiện protein HBV/RAR-α dị thường ở mức độ lớn hơn mức độ protein gốc và dự phần trong quá trình sinh ung thư.

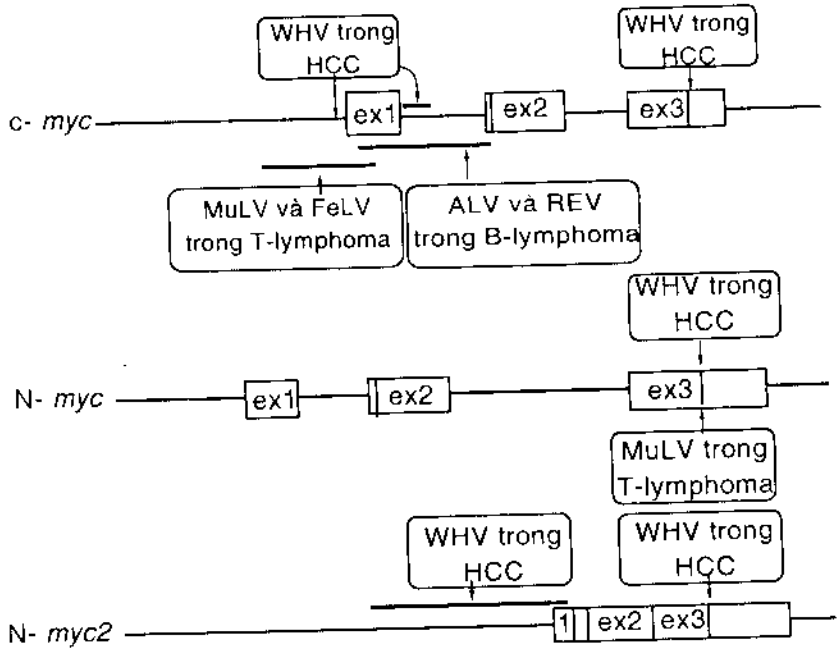
Xen đoạn xảy ra ở vùng nội của nhiễm sắc thể tế bào gan người

Trong một UTTBG thứ nhì, sự hòa nhập HBV DNA xảy ra trong vùng nội của gen A cyclin người, gây một biểu hiện các phiên mã HBV/cyclin lai mạnh. Cyclin A giữ vai trò chủ yếu trong cả hai điểm kiểm soát G2/M và G1/S của chu kỳ tế bào. Các số liệu gần đây từ phòng thí nghiệm, trên cơ sở bất hoạt của gen cyclin A bằng tái tổ hợp tương đồng, đã chứng minh cyclin A là một gen chủ yếu cho diễn tiến chu kỳ tế bào. Mã RNA lai cho một protein dị thường 430 aa, trong đó 152 aa tận cùng amino của cyclin A được thay thế bằng 150 aa từ protein virut tiền-S2 và S, trong khi 2/3 tận cùng carboxy của cyclin A, gồm cả hộp cyclin, còn nguyên vẹn. Tuy nhiên, các chuỗi mã thoái biến cyclin A nằm trong phần tận cùng amino của protein bị mất đoạn và dùng một phương pháp thoái biến *in vitro* với các tế bào trứng ếch, Buendia và cs đã nhận thấy HBV/cyclin A không thoái biến. Hiện nay Buendia và cs có được các kết quả *in vitro* chứng minh tính chất chuyển dạng của protein HBV-cyclin A. Nhiều giả thuyết đã được đề nghị giải thích cho tác dụng này. Sự không thoái biến của một phân tử giữ lại khả năng phức hợp và kích hoạt CDK kinase có lẽ dẫn đến tổng hợp DNA sớm và mất điều hòa và vì thế làm tăng sinh tế bào. Điều này cũng hoàn toàn hợp lý khi vị trí của protein HBV/cyclin A bị đổi cho vị trí màng của các phân tử tiền-S2/S trong các tế bào nhiễm HBV. Các tác giả đã đưa ra bằng chứng gần đây chứng minh vị trí protein bất thường trong các màng lưới nội bào, dẫn dắt bởi các chuỗi mã tiền-S2/S. Cuối cùng, các chuỗi mã virut tiền-S2/S hiện diện trong HBV/cyclin A bị mất đoạn ở đầu tận carboxy và có một cấu trúc tương tự như các protein tiền-S2/S mất đoạn đã mô tả. Các kết quả thu được với ung thư này trái với các kết quả thu được trong một khảo sát 43 UTTBG, không có trường hợp nào cho thấy bằng chứng tái sắp xếp gen cyclin A. Mặt khác, Buendia và cs đã chứng minh

biểu hiện của RNA cyclin A hoặc protein là dấu ấn đáng quan tâm của tăng sinh tế bào khối u *in vivo*.

Trong 2 trường hợp này, phân tích các điểm xen đoạn HBV đơn thuần cho phép xác định các gen mới kiểm soát sự tăng trưởng tế bào và biệt hóa. Cả hai nghiên cứu đã mở đường cho các phương pháp mới về lộ trình điều hòa sự phân chia và biệt hóa tế bào. Mặt khác, các nghiên cứu cung cấp bằng chứng cho vai trò của HBV như là một gen đột biến xen đoạn trong UTTBG nguyên phát. Trong 2 mẫu, một cơ chế xen đoạn gen khởi đầu hoạt tính *cis* trực tiếp đã được mô tả. Tuy nhiên, các mẫu như thế là hiếm và phân tích các khối u khác chọn lọc trên cùng các tiêu chuẩn cần để phác họa tốt hơn sự góp phần của sinh đột biến xen đoạn trên các cơ chế khác trong quá trình chuyển dạng do nhiễm HBV mạn.

4.3. SỰ HOẠT HOÁ XEN ĐOẠN CỦA CÁC GEN MYC TRONG UTTBG MACMOT



Hình 16-5. *So sánh các điểm xen đoạn của hepadnavirut và retrovirut trong các gen c-myc và N-myc.*

Các điểm đích đối với WHV trong các gen họ *myc* trong 56 khối u gan của macmot được chỉ ra trên các gen tương ứng và các gen của retrovirut của chuột và chim trong các khối u lympho tế bào B và T được minh họa ở dưới các gen. Gen ung thư N-*myc*2 không có vùng nội, được sinh ra bởi sự chuyển vị ngược của gen N-*myc*1 macmot cha mẹ, là đặc hiệu của họ Sciuridae của loài gậm nhấm. Ổ gen *win* từ 180 đến 200 kb dưới dòng của N-*myc*2 trên nhiễm sắc thể X của macmot. Sự hoạt hóa xen đoạn của các gen họ *myc* bởi WHV DNA được quan sát trong hơn 90% các UTTBG của macmot được phân tích (HCC=UTTBG).

Các động vật thực nghiệm mắc bệnh gan và ung thư do HBV tự nhiên đã được hiểu biết tốt hơn về tương tác giữa virut và ký chủ. Trong mô hình WHV/macmot thực nghiệm, phát triển tự nhiên của nhiễm virut, tình trạng DNA virut và các kiểu biểu hiện gen virut đã được nghiên cứu rộng rãi. Nhiễm truyền thực nghiệm macmot sơ sinh với virion gây nhiễm đã cho thông tin rõ ràng về hoạt tính sinh ung thư của WHV: virut này hiện nay có vẻ gây UTTBG mạnh nhất trong nhóm hepadnavirut. GSHV và VG virut loài sóc Bắc cực có vẻ sinh ung thư yếu hơn.

Nghiên cứu về sự hoạt hóa phiên mã của các gen tiền ung thư đã biết và về các điểm xen đoạn virut trong UTTBG macmot đã phát hiện WHV hoạt tác như một gen đột biến xen đoạn, hoạt hóa các gen họ *myc* (c-*myc* hoặc N-*myc*) trong hơn 90% các khối u được khảo sát.

4.3.1. Sự hòa nhập chuỗi mã WHV

Phân tích các alen c-*myc* đột biến trong hai khối u riêng biệt đã chứng minh sự hòa nhập chuỗi mã WHV trong vùng phụ cận của vùng mã hóa c-*myc*, hoặc đầu tận 5' của vùng ngoại đầu tiên hoặc trong vùng đầu tận 3' không dịch mã. Biểu hiện mất điều hòa của gen ung thư bởi các gen khởi đầu bình thường gây mất đoạn hoặc chuyển vị các vùng điều hòa c-*myc* được biết sử dụng một hiệu ứng âm tính trên biểu hiện c-*myc*, và sự đổi chỗ bằng các chuỗi mã virut bao quanh các thành phần gen tăng cường. Một cơ chế như thế gợi lại các báo cáo trước đây về sự hoạt hóa c-*myc* trong lymphoma tế bào T của chuột do virut lơxêmi chuột (MuLV). Một khảo sát gần đây trên 56 UTTBG macmot về sự tái sắp xếp c-*myc* đã cho thấy chỉ có ba trường hợp trong đó WHV DNA được xen đoạn vào ổ gen c-*myc*. Hiện nay, hoạt hóa xen đoạn của c-*myc* có thể ước tính khoảng 13% các khối u macmot. Bằng chứng về vai trò trực tiếp của sự hòa nhập WHV DNA vào c-*myc* trong chuyển dạng tế bào gan đã được chứng minh bởi sự phát triển UTTBG trong các dòng chuyển gen của chuột nhiễm WHV và các chuỗi mã *myc* từ alen đột biến của UTTBG macmot. Biểu hiện của gen chuyển trong tế bào gan gây ung thư gan nguyên phát lúc 6 đến 12 tháng tuổi có một tỉ lệ mắc là 100%.

4.3.2. Hoạt hóa xen đoạn của gen N-myc

Hoạt hóa xen đoạn của gen N-*myc* thường gặp hơn ở UTTBG macmot. Ngược với người và chuột, bộ gen macmot chứa 2 gen N-*myc* riêng biệt: N-*myc* 1, gen tương đồng với N-*myc* ở loài có vú đã biết cấu tạo tương tự trong 3 exon (vùng ngoại) và N-*myc* 2, một gen giả chức năng hoặc retroposon, giữ lại sự mã hóa bao quát và tính tương đồng chuyển dạng với N-*myc* bố mẹ. Hiện nay, như c-*myc*, N-*myc*2 đã được chứng minh là một chất cảm ứng mạnh của sự chết tế bào gan, và tác dụng này bị tác động ngược bởi *Bcl*2 và yếu tố tăng trưởng II giống insuline (IGF-II). Trong UTTBG macmot, N-*myc*2 hiện diện cách xa mục tiêu hay gặp nhất đối với sự hòa

nhập WHV DNA. Trong khoảng phân nửa các trường hợp, các xen đoạn virut được phát hiện trên dòng với gen hay trong một chuỗi mã ngắn của vùng 3' không dịch mã, được xác nhận như một điểm nóng duy nhất cho xen đoạn retrovirut vào gen N-*myc* của chuột trong lymphoma tế bào T. Biểu hiện kích hoạt của gen sinh u ngược N-*myc*2, tương quan hay gặp với biểu hiện quá độ của c-*fos* và c-*jun*, được xem như một đa số lớn của UTTBG macmot. Biểu hiện gia tăng đáng kể của các gen tiền ung thư N-*myc*, c-*fos*, c-*jun* đôi khi được quan sát trong UTTBG liên quan đến HBV, nhấn mạnh đến tầm quan trọng của yếu tố tế bào chủ trong các khác biệt quan sát các quá trình sinh ung thư bởi hepadnavirut ở người và macmot. Gần đây, sự hòa nhập WHV DNA trong một điểm nóng (*win*) định vị tại một khoảng 200 kb của N-*myc*2 trong cùng vùng nhiễm sắc thể (Xq24) được chứng minh góp phần hoạt hóa N-*myc*2 trong 25% UTTBG macmot. Nói chung, các số liệu này cho thấy sự hoạt hóa xen đoạn của gen *myc* bằng WHV DNA, từ các khoảng cách ngắn cũng như dài, xảy ra trong hơn 90% của UTTBG macmot (hình 16-5).

4.3.3. Các nghiên cứu khác ở loài sóc đất

Bằng chứng khác là các gen họ *myc* trong UTTBG loài gậm nhấm liên quan với nhiễm hepadnavirut từ các nghiên cứu của UTTBG macmot và sóc đất. Trong hai khối ung thư macmot độc lập nhau, một tái cấu trúc gen dung hợp các vùng mã hóa của c-*myc* với gen khởi đầu và các chuỗi mã dịch mã 5' của một ổ gen tế bào được gọi là *hcr* đã được quan sát. Trong một nghiên cứu UTTBG loài sóc đất, các khuếch đại hay gặp của c-*myc* thấy trong DNA tế bào khối u (11/24) và liên quan với biểu hiện tăng cường của gen sinh ung thư. Tương tự, các khuếch đại c-*myc* thường xảy ra trong UTTBG macmot do nhiễm GSHV thực nghiệm. Sự hòa nhập GSHV DNA vào bộ gen tế bào chủ, hiếm xảy ra trong các khối u loài sóc, không liên quan với các thay đổi di truyền của c-*myc*. Các thay đổi tương tự cũng được mô tả ở UTTBG loài gậm nhấm. Tuy khuếch đại của c-*myc* đã được quan sát trong UTTBG người HBV(+), đến nay vẫn không có minh chứng thực nghiệm, biểu hiện mất điều hòa của gen *myc* có thể liên quan với bệnh sinh ung thư do HBV ở gan người bằng bất cứ cơ chế hoạt động *cis* hay *trans* đã biết.

4.3.4. Các vấn đề cần giải quyết trong tương lai

Chiến lược dùng WHV trong chuyển dạng tế bào gan khá giống với vài retrovirut như virut leukemia chuột Moloney (MoMuLV), gây bệnh (thường là leukemia) diễn tiến chậm, nhấn mạnh đến tính tương đồng giữa hepadnavirut và retrovirut. Các kết luận này làm xuất hiện hai vấn đề khác biệt nhưng liên quan với nhau. Các yếu tố nào dẫn đến khả năng sinh ung thư của WHV chỉ trên tế bào gan, khi biết rằng virut này có thể gây nhiễm một số lớn các mô macmot, tuy ở mức độ thấp hơn? Các chiến lược của hepadnavirut liên quan với loài có vú được giải thích ở

mức độ phân tử như thế nào?. Để trả lời các câu hỏi này và xác định các biến dị bộ gen có trách nhiệm cho các khác biệt như thế, các thành phần điều hòa kiểm soát các biểu hiện gen virut được so sánh trong các virut VG B loài có vú. Các nghiên cứu cho thấy sự phân ly tiến hóa trong cấu tạo của các điểm gắn yếu tố nhân giữa các gen tăng cường của hepadnavirut người và loài gặm nhấm. Các nghiên cứu *in vivo* cần xác định các khác biệt này giữ vai trò nào trong các biến dị quan sát được trong khả năng sinh ung thư của hepadnavirut.

5. UTTBG Ở BN HBsAg(-)

Như đã biết, sự kết hợp giữa nhiễm HBV mạn và UTTBG khác biệt tùy theo vùng địa lý. Ở các nước phương tây (như Bắc Âu, Mỹ) và Nhật, chỉ có 15 đến 20% ung thư xảy ra ở BN HBsAg(+), và các yếu tố khác như rượu và nhiễm HCV là các yếu tố nguy cơ đã được chứng minh. Các nghiên cứu cho thấy một tần suất cao của các kháng thể anti-HBs và anti-HBc trong nhóm BN HBsAg(-) (độ 40 đến 50% ở Pháp), đã phơi nhiễm với virut (bảng 16-3). Các kháng thể này phản ánh nhiễm HBV đã qua và đã hồi phục. Tuy nhiên trong những người HBsAg(-) có UTTBG, các chuỗi mã HBV DNA có thể được phát hiện trong khối u, cho thấy sự tồn tại của nhiễm virut và sự liên can của chúng trong bệnh sinh UTTBG (bảng 16-4). Bởi thế, nên cải tiến độ nhạy của các xét nghiệm để phát hiện HBsAg, HBV DNA. Và nhiễm HBV mạn với tỉ lệ sao chép thấp, cũng có thể là một yếu tố nguy cơ cho UTTBG.

Bảng 16-3. Tần suất toàn bộ của các dấu ấn HBV ở các BN bị UTTBG

	UTTBG (%)	UTTBG ở BN xơ gan do nghiện rượu (%)
Zambia, Đài Loan	100	NT (không xét nghiệm)
Trung Quốc	98	NT
Philippines	97	NT
Senegal	96	NT
Uganda	89	NT
Nhật Bản	81	NT
Hy Lạp	80	NT
Mỹ	74	NT
Ý (miền Bắc)	49	81,5
Pháp (miền Nam)	43	58
Anh	32	27

5.1. HBV VÀ NGƯỜI NGHIỆN RƯỢU

HBV và HCV có thể tương tác với tình trạng nghiện rượu mạn tính, và có thể là bằng chứng cho tần suất HBV và HCV cao ở người nghiện rượu. Tần suất anti-HCV tăng lên ở người nghiện rượu với xơ gan (độ 40% đến 50%) so với người nghiện rượu có tổn thương gan tối thiểu (độ 20%) cho thấy nhiễm HCV liên can đến sự phát triển

của xơ gan trong một số BN này. Ngược lại, không có bằng chứng về vai trò HBV trong sự phát triển xơ gan do rượu, như tần suất anti-HBs và anti-HBc, tuy cao hơn trong cộng đồng chung, nhưng không khác biệt có ý nghĩa với có hoặc không có xơ gan được chẩn đoán (độ 20%).

Bảng 16-4. HBV DNA ở BN HBsAg(-) có UTTBG: Southern và thấm miễn dịch điểm[a].

Vùng địa lý	Khối u	Huyết thanh	Tham khảo
Pháp	17(6)/20	0/9	Bréchot và cs
	KXN	3/54	Pol và cs
	4(4)/21[b]	KXN	Marcelin và cs
Ý	0/6	KXN	Pontisso và cs
	2/8[c]	KXN	Pontisso và cs
Đức	0/17	KXN	Walter và cs
Anh	1(1)/7	KXN	Cobden và cs
	0/8	KXN	Dunk và cs
	1/6	KXN	White và cs
Mỹ	0/5	KXN	Fong và cs
Nhật	2(2)/15	KXN	Hino và cs
	4(3)/21	KXN	Hino và cs
	5/13	KXN	Koike và cs
	0/13	KXN	Horiike và cs
	½	KXN	Chen và cs
Trung Quốc	1/3	KXN	Zhou và cs
	3/3	KXN	Hsu và cs
Hong Kong	3/5	0/12	Lok và cs
Đài Loan	4/21	KXN	Lai và cs
Nam Phi	0/5	KXN	Shafritz và cs
	3/8	KXN	Shafritz và cs

Viết tắt: KXN: không xét nghiệm.

[a] Các ca dương/các ca xét nghiệm. Các số trong ngoặc chỉ các BN không có dấu ấn huyết thanh HBV nào

[b] BN có UTTBG phát triển trên gan sát liền bình thường về mặt mô học

[c] UTTBG phát triển ở trẻ em

Tuy nhiên, vẫn có bằng chứng của HBV trong UTTBG ở người nghiện rượu, vì tần suất của các dấu ấn huyết thanh HBV tăng lên một cách ý nghĩa ở các BN này (độ 50%) và khối ung thư thường chứa các chuỗi mã HBV DNA.

5.2 TẦN SUẤT CỦA UTTBG Ở NGƯỜI CÓ HBsAg(-)

Tần suất của UTTBG có HBV DNA(+) ở các BN HBsAg(-) vẫn còn tranh luận và thuộc về một số ít bản sao của các chuỗi mã DNA virut (ước đoán từ 0,1 đến 0,001) trong mỗi tế bào ung thư. Thế nên, các nghiên cứu tiến hành trong những vùng địa lý khác nhau cho thấy nhiều kết quả rất khác biệt, có lẽ là do các điều kiện kỹ thuật khác nhau (độ nhạy và độ đặc hiệu) và các tình hình dịch tễ riêng biệt. Độ

nhạy của phản ứng PCR hiện nay đã cho phép xác định các quan sát trước đây, sự chứng minh truyền nhiễm các hạt HBV hiện diện trong huyết thanh của những BN HBsAg(-) này cho hắc tinh tinh và xác định các chuỗi mã nucleotit của bộ gen HBV. Thí dụ, trong một nghiên cứu thực hiện ở các BN từ các vùng HBV lưu hành cao (Nam Phi) và thấp (Pháp, Italy), HBV DNA đã được chứng minh 8 trong 10 BN hồi phục về mặt huyết thanh và 6 trong 13 BN không có bất cứ dấu ấn huyết thanh HBV nào phát hiện được. Gần đây, các kết quả tương tự cũng thu được từ Tây Ban Nha, châu Phi và Mỹ (bảng 16-5). Không có tương quan giữa các dấu ấn HBV huyết thanh và sự hiện diện hay không của HBV DNA trong huyết thanh hoặc trong khối u. Nhìn chung, mặt bằng huyết thanh cho thấy nhiễm HBV tồn tại trong một số lớn BN có UTTBG mà HBsAg(-). Các phát hiện đã được báo cáo ở các động vật thực nghiệm UTTBG của macmot và sóc đất. UTTBG xảy ra ở 17% ở macmot hồi phục về mặt huyết thanh, so với 0% ở các con vật không nhiễm. WHV DNA được phát hiện trong các mô ung thư của macmot chuyển huyết thanh, với số lượng các bản sao cho mỗi tế bào (độ 0,1 đến 0,3) thấp hơn trong UTTBG từ các con vật WHBsAg(+) (100 đến 1.000 bản sao cho mỗi tế bào).

Bảng 16-5. HBV DNA ở BN HBsAg(-) có UTTBG: Phản ứng PCR [a]

Vùng địa lý	Khối u	Huyết thanh	Tham khảo
Pháp	5(2)/10	KXN	Paterlini và cs
	5(3)/8	11 (6) 22	Paterlini và cs
Ý	5(4)/9	KXN	Paterlini và cs
	2/3[b]	KXN	Pontisso và cs
Tây Ban Nha	KXN	12(5)/54	Ruiz và cs
Nhật	8/22[c]	KXN	Ohkoshi và cs
Nam Phi	6/8	KXN	Paterlini và cs
Senegal 18/31		KXN	Coursaget và cs
Mozambique	4(1)/11	KXN	Dazza và cs
Mỹ	14/38	25/105	Liang và cs

Viết tắt: KXN: không xét nghiệm.

[a] Các trường hợp dương tính/các trường hợp xét nghiệm. Các số trong ngoặc chỉ các BN không có bất cứ dấu ấn huyết thanh HBV nào

[b] UTTBG phát triển ở trẻ em

[c] Chỉ phân tích mô không ung thư

Ở sóc đất thực nghiệm, độ 25% các con vật đã hồi phục về mặt huyết thanh, phát triển UTTBG và các chuỗi mã GSHV hòa nhập đã được xác định ở 2 trong 5 khối u. Hơn nữa, UTTBG cũng gặp trong độ 20% (6/30) loài sóc trưởng thành, huyết thanh âm tính. Trong các khối u này, GSHV DNA không thể phát hiện bằng các phương pháp qui ước. Tuy nhiên, mức độ GSHV DNA thấp đã được thấy trong 2 trường hợp khác bằng cách dùng PCR, chứng minh sự kết hợp đã được xác lập giữa sự phát triển UTTBG trong loài sóc đất và nhiễm với GSHV.

Về tình trạng HBV DNA, số lượng bản sao ở mỗi tế bào thấp đã cản trở sự giải thích các kết quả của phương pháp thấm tách Southern. Tuy nhiên, Buendia và cs dùng xét nghiệm PCR và các đoạn mồi riêng biệt phân bố trên các gen HBV S, tiền-S/S và X đã cung cấp thêm thông tin. Một kết quả dương chỉ được chấp nhận với một số các đoạn mồi HBV, một phát hiện phù hợp với sự hiện diện của HBV DNA khiếm khuyết. Trong các BN, DNA khối u được cho là dương với tất cả các đoạn mồi HBV, phù hợp với sự hiện diện của HBV DNA tự do hoặc hòa nhập cho thấy không có các tái cấu trúc lớn. Các bộ gen HBV khiếm khuyết đã được nhận dạng hay gặp ở các khối u hơn là trong các mô khác. Mặt khác, chúng cũng được chứng minh là thường gặp ở các BN huyết thanh âm tính hoàn toàn hơn là ở các BN có anti-HBs và anti-HBc(+). Quan sát này có khả năng phản ánh một điểm kỹ thuật, vì sự hiện diện của HBV DNA khiếm khuyết có thể bị lu mờ bằng các bộ gen virut toàn vẹn đi kèm. PCR thu được với DNA từ các mẫu khối u, không phải khối u và huyết thanh ở các BN châu Âu cho thấy khác biệt đáng kể. Ở các mẫu huyết thanh và các mẫu không ung thư, khuếch đại được đạt với tất cả đoạn mồi xét nghiệm; ngược lại, DNA khối u cho lặp lại các kết quả âm tính với ít nhất một đoạn mồi. Các phát hiện này cho thấy các chuỗi mã HBV DNA trong khối u không có nguồn gốc từ các tế bào không khối u lây nhiễm hoặc các hạt có nguồn gốc từ huyết thanh. Chúng cũng phù hợp với sự mở rộng clôn của các tế bào chứa HBV DNA khiếm khuyết và hòa nhập. Một tỉ lệ đột biến cao đã được xác định trong gen X ở mô khối u ở các BN HBsAg(-) mà HBV DNA(+). Tỉ lệ cao của các thay đổi aa này ngược với tỉ lệ thấp hơn các đột biến X trong vùng không khối u từ cùng BN. Tỉ lệ này cũng trái với tỉ lệ thấp hơn của các đột biến chuỗi mã tiền-C/C. Các phát hiện có hai dính líu quan trọng: các đột biến X có lẽ liên can trong sao chép bộ gen HBV thấp trong các khối u. Hơn nữa, các đột biến có lẽ thay đổi tính chất sinh học của X trong khối u và khả năng này hiện nay đang được thử nghiệm.

Phân tích thấm tách Northern không đủ nhạy để phát hiện HBV RNA trong các khối u. Ngược lại, dùng PCR tổng hợp cDNA với các đoạn mồi trên gen S (RT-PCR) phát hiện các chuỗi mã HBV RNA ở đa số các khối u HBV DNA(+) ở các BN HBsAg(-). Tuy nhiên, do bộ gen HBV có cấu trúc đặc, không thể xác định chính xác các phiên mã virut được tổng hợp. Trong một nghiên cứu gần đây, HBV RNA với các đoạn mồi định vị trên các chuỗi mã mã hóa S, C và X. Các phiên mã X, nhưng không phải C và S được nhận dạng trong các mô và khối u ở 7 trong 9 BN HBsAg(-), HBV DNA(+). Buendia và cs cũng đã xác định các quan sát qua việc phát hiện protein X trong các tế bào khối u gan. Điều này có thể cung cấp bằng chứng về bệnh sinh của các khối u theo quan điểm chuyển dạng các đặc điểm của protein X trong UTTBG HBsAg(+). Theo đó, kết quả của các tương tác X và P53 là quan trọng. Quả thực, thử dự đoán 2 kiểu UTTBG có thể xuất hiện từ các nghiên cứu tập trung trên cả p53 và X. Một vài khối u (khoảng 20%) có các đột biến p53 và như thế sẽ không

cần biểu hiện X cho sự bất hoạt p53, trong các trường hợp còn lại, X có thể bất hoạt về mặt chức năng p53 kiểu nguyên sinh. Bằng chứng ban đầu củng cố giả thuyết này, nhưng cần xác định thêm.

Nhìn chung, các kết quả cho thấy một tỉ lệ nhiễm HBV tồn tại cao ở BN UTTBG HBsAg(-), nhiều người trong số họ không phát hiện được các kháng thể virut. Các kết quả cũng chứng minh sự mở rộng clôn của các tế bào khối u chứa DNA virut hòa nhập và sự phiên mã ưu tiên trong các tế bào của các chuỗi mã HBV DNA mã hóa protein X virut. Vai trò trực tiếp của HBV trong UTTBG được gợi ý thêm qua sự phát hiện HBV DNA trong UTTBG ở các BN HBsAg(-), phát triển bệnh gan không xơ, gần như bình thường về mô học. Thế nên, xơ gan không đơn thuần sinh ung thư trong những trường hợp này. Tuy các phát hiện trên khá thuyết phục cho vai trò HBV trong phát triển các khối u, một nghịch lý còn cần được giải thích: tại sao số lượng bản sao của HBV DNA cho mỗi tế bào khá thấp khi mở rộng clôn của các tế bào nhiễm virut. Người ta có thể giải thích là, sau khi khởi đầu dòng thác chuyển dạng tế bào gan, sự tồn tại HBV DNA không cần lâu hơn. Hơn nữa, sao chép HBV thấp hoặc không sao chép trong các tế bào khối u và vì thế không có thế hệ di cư mới từ các bộ gen virut tự do. Cuối cùng, sự tái cấu trúc nhiễm sắc thể có thể loại các chuỗi mã DNA virut hoà nhập khỏi các clôn khối u. Giải thích này có thể biện minh cho các khối u liên quan đến vài retrovirut và papillomavirut của người và bò. Gần đây, mô hình VG vịt cũng có bằng chứng củng cố giả thuyết này.

6. THAY ĐỔI DI TRUYỀN TRONG UTTBG LIÊN QUAN ĐẾN HBV

Các thay đổi di truyền khác nhau không thể gắn kết rõ ràng với tác dụng trực tiếp của nhiễm virut, đã được mô tả ở UTTBG người. Các thay đổi sinh dưỡng gồm có sự mất alen trên nhiều vùng nhiễm sắc thể, đột biến và hoạt hóa các gen tế bào cho thấy tiềm năng sinh ung thư, và sự mất đoạn hoặc đột biến của các gen ức chế u. Tìm kiếm các gen ung thư bị hoạt hóa bằng cách dùng các tế bào NIH3T3 trong các xét nghiệm chuyển dạng không thể kết luận cho đa số DNA trong UTTBG được phân tích. Sự hoạt hóa gen sinh ung thư của N-*ras* được báo cáo ở 3/10 mô UTTBG nguyên phát và trong một dòng tế bào UTTBG đã xác lập. Tuy nhiên, phân tích DNA phát hiện một tỉ lệ thấp (<10%) các đột biến điểm trong H-, K-, và N-*ras*, trong khi các nhà nghiên cứu khác không phát hiện bất cứ đột biến *ras* nào trong UTTBG được phân tích.

Sự mất tính dị hợp tử trên nhiễm sắc thể 1p, 4q, 6q, 8p, 11p, 13q, 16q và 17q thường gặp ở u gan người cho thấy các phân tử này của bộ gen người chứa vài gen mà sự mất chức năng của chúng có lẽ dính líu đến bệnh sinh UTTBG. Vì các thay đổi nhiễm sắc thể quy mô lớn xuất hiện trong các tế bào ung thư ít xảy ra trong các tế bào bình thường, có lẽ các cơ chế kiểm soát bảo vệ sự toàn vẹn nhiễm sắc thể bị

phế bỏ khi phát triển ác tính, các thay đổi như thế có thể đưa ra các sự kiện thứ phát liên quan đến tiến triển khối u và phản ánh một đặc điểm chung của các tế bào chuyển dạng. Phải chăng sự hòa nhập HBV DNA được biết để làm tăng sự không ổn định di truyền, góp phần vào các sự kiện này chưa được sáng tỏ.

Sự mất alen của nhánh ngắn của nhiễm sắc thể 17, gồm cả gen p53, đã được quan sát trong 30%-60% của UTTBG người và trong các dòng tế bào có nguồn gốc từ khối u gan. Gen p53 kiểu nguyên sinh điều hòa sự tăng trưởng tế bào một cách âm tính và vì thế, được gọi là gen ức chế u hoặc *antioncogen*. Các thể đột biến của p53 thường đạt được chức năng kích thích tăng trưởng và các sự thay đổi di truyền của gen, một đặc trưng thường gặp ở ung thư người, thường bao gồm sự mất đoạn của một alen p53 và sự đột biến của alen thứ hai. Các nghiên cứu về gen p53 ở các mức độ DNA, RNA, protein đã phát hiện cấu trúc và biểu hiện bất thường trong hầu hết các dòng tế bào UTTBG được thiết lập. Một đột biến điểm nóng ảnh hưởng lên p53 tại codon 249 đã được mô tả trong UTTBG ở các vùng có tần suất nhiễm HBV cao và mức độ cao của aflatoxin trong thực phẩm. Đột biến này, chủ yếu một dị hoán G thành T, có vẻ đặc hiệu của tác động sinh đột biến của aflatoxin B1. Điều này không được quan sát ở UTTBG liên quan đến HBV ở các BN không có phơi nhiễm cao đối với các chất gây ung thư. Trong một nghiên cứu gần đây, đột biến codon 249 được phát hiện ở một lá gan có vẻ bình thường, tần số của chúng song song với mức độ phơi nhiễm với aflatoxin B1, cho thấy rằng nó xảy ra sớm trong quá trình phát triển UTTBG. Thú vị là đột biến p53Ser246 ở chuột, tương ứng với đột biến 249 ở người có thể giúp tăng trưởng cho tế bào gan chuột, tuy không đủ cho một kiểu hình ác tính đầy đủ. Việc xác định đặc điểm chức năng của gen đột biến p53 có lẽ cung cấp một bằng chứng cho việc hiểu biết gen ung thư châm ngòi bởi aflatoxin B1. Các sai lệch cấu trúc của gen p53 (các đột biến tại các codon khác nhau và mất một alen) hay gặp trong UTTBG đã tiến triển, ít biệt hóa thường kết hợp với các bất thường của gen ức chế khối u khác (RB). Tần số các đột biến p53 đã được đánh giá trong các khối u từ các nguồn địa lý và chủng tộc khác nhau và thấy thấp hơn báo cáo trước đây. Tuy các xen đoạn virut ở nhiễm sắc thể 17p đã được mô tả trong vài khối u gan, hình như các thay đổi di truyền quan sát trong phần lớn các UTTBG người không do một tác động trực tiếp của virut. Các mất đoạn vùng băng qua ổ gen RB trên nhiễm sắc thể 13q cũng được báo cáo, nhưng một tỉ lệ đột biến thấp được tìm thấy trong alen còn lại. Các gen ức chế u ứng viên trong các vùng nhiễm sắc thể mất đoạn thường thấy bao gồm trong gen thụ thể mannose 6 phosphate/IGF-II (M6P/IGF2R) trên nhiễm sắc thể 6q, ức chế u giống PDGF-thụ thể β (PRLTS) trên nhiễm sắc thể 8p và gen E-cadherin trên nhiễm sắc thể 16q.

Các mất đoạn tái phát kéo dài qua nhiều nhiễm sắc thể người có lẽ bất động một số yếu tố ức chế khối u và vì thế giữ một vai trò chìa khóa trong bệnh sinh

UTTBG. Tuy nhiên, một số mất đoạn có lẽ phản ánh các sự kiện khác, không thích hợp phản ánh tính không ổn định bộ gen gây ra từ cấu trúc và chức năng bị hư hỏng của tế bào khối u. Sự xác định các gen ức chế khối u từ các vùng mất đoạn là bước thiết yếu trong sự hiểu biết cơ chế sinh UTTBG.

7. CÁC YẾU TỐ KHÁC LIÊN QUAN TRONG BỆNH SINH UTTBG

Hàng trăm yếu tố được đề cập đến trong nguyên nhân gây UTTBG và một phần trong chúng đã phần nào được chứng minh. Hình như các yếu tố này có vai trò hợp đồng trong bệnh sinh UTTBG. Để làm rõ cơ chế phân tử liên quan đến tác động của các chất sinh ung thư thường gặp, các chất này có thể tác động như một đồng yếu tố trong việc sinh ung thư tế bào gan qua trung gian HBV, Banerjee và cs thực hiện một nghiên cứu *in vitro* như bảng 16-6. Các tác giả dùng tế bào HepG2 nguyên bào gan người xử lý với aflatoxin B1 (AFB), benzo (a) pyrene (BP) và 4-aminobiphenyl (4-ABP) để xem sự cảm ứng của của các yếu tố phiên mã khác nhau trong các tế bào HepG2 như yếu tố phiên mã nhân (NF-κB), yếu tố phiên mã protein hoạt hóa (AP-1), các protein sốc nhiệt và sự tổng hợp HBsAg, kết quả như sau (bảng 16-6).

Bảng 16-6. Thử nghiệm in vitro tìm yếu tố ảnh hưởng đến các yếu tố phiên mã sinh ung thư.

	Hoạt hóa các yếu tố phiên mã				
	NF-κB (số lần)	AP-1 (số lần)	Protein sốc (số lần)	DNA adducts	Tổng hợp HBsAg
HepG2 + AFB	8	6	4	+	Tăng
HepG2 + BP	5	10	10	+	Tăng
HepG2 + 4-ABP	4	4		-	Không xác định

Kết quả trên cho thấy một vài yếu tố phiên mã sinh ung thư có thể ảnh hưởng đến tính sinh ung thư của virut và khởi đầu UTTBG.

8. TÓM TẮT

Nhiều bằng chứng liên kết nhiễm HBV mạn và UTTBG nguyên phát như sau:

- *Sự kết hợp dịch tễ mạnh giữa phân bố HBV và UTTBG đã được chứng minh.*
- *Một số bằng chứng gián tiếp bao gồm sự phát hiện các Hepadnavirut loài vật gây UTTBG, tính sinh ung thư yếu của chất chuyển hoạt phiên mã X, tác dụng sinh ung thư lâu dài của glycoprotein bề mặt, tác dụng sinh đột biến do sự hòa nhập HBV vào bộ gen tế bào, có thể làm mất điều hòa sự kiểm soát tăng trưởng tế bào bình thường.*
- *Liên quan giữa tỉ lệ UTTBG và tuổi cho thấy có nhiều bước tổn thương di truyền độc lập.*

- *Nhiễm HBV sao chép có thể tác động các yếu tố sinh ung thư như aflatoxin và rượu.*

- *Sự kích hoạt các gen họ myc ở bệnh sinh UTTBG loài gậm nhấm đã được nêu lên. Tuy nhiên, vai trò HBV trong hoạt hóa gen ung thư c-myc chưa được xác lập in vivo;*

- *Các gen ức chế u như p53 ở UTTBG người bị đột biến liên quan đến HBV.*

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. **Buendia MA, Tiollais P, Paterlini P, Bréchot C.** Hepatocellular carcinoma: Molecular aspects. In Zuckerman AJ, Thomas HC, editors. Viral Hepatitis. 2nd ed. London. Churchill Livingstone; 1998: 179-200.
2. **Đinh Duy Khang, Chu Hoàng Hà, Phạm Thúy Hồng, Nguyễn Thanh Thủy, Nông Văn Hải, Đái Duy Ban.** Phân lập tách dòng và xác định trình tự gen kháng nguyên bề mặt của virus viêm gan B từ khối u của BN ung thư gan. Y học Việt Nam, số 8 (219), 1997, tr 12-18.
3. **Kunio Okuda, Hiroaki Okuda.** Primary liver cell carcinoma. In Oxford Textbook of Clinical Hepatology. Oxford University Press, 2th edition. 1999, 1491-1530.
4. **Nguyễn Anh Tuấn.** Nghiên cứu điều tra tình hình nhiễm virus viêm gan B bằng kỹ thuật miễn dịch phóng xạ. Y học Việt Nam, chuyên đề y học hạt nhân, số 8,9 (tập 238-239), 1999, tr 7-10.
5. **Banerjee R; Caruccio L; Zhang YJ; McKercher S; Santella RM.** Effects of carcinoger.-induced transcription factors on the activation of hepatitis B virus expression in human hepatoblastoma HepG2 cells and its implication on hepatocellular carcinomas. Hepatology 2000: 32:367-374.

Chương 17

QUÁ TRÌNH TIẾN TRIỂN CỦA VIÊM GAN B MẠN, CHẨN ĐOÁN VÀ XỬ TRÍ UNG THƯ TẾ BÀO GAN NGUYÊN PHÁT

Trang

1. QUÁ TRÌNH TIẾN TRIỂN CỦA NHIỄM HBV MẠN CHU SINH 467
1.1. Quan niệm trước đây 468
1.2. Quan niệm hiện nay 469
1.2.1. Giai đoạn dung nạp miễn dịch 469
1.2.2. Giai đoạn thải trừ miễn dịch 469
1.2.3. Giai đoạn sao chép thấp 470
2. CÁC THỂ HUYẾT THANH NHIỄM HBV MẠN 471
2.1. Nhiễm HBV mạn HBe Ag(+) 471
2.1.1. Mức độ trầm trọng của bệnh 472
2.1.2. Tỷ lệ sống sót 472
2.2. Nhiễm HBv mạn Anti-HBe (-) 473
2.2.1. Mức độ trầm trọng của bệnh 474
2.2.2. Tỷ lệ sống sót 474
3. TỶ LỆ MỚI MẮC VÀ CÁC YẾU TỐ GÓP PHẦN VÀO XƠ GAN TRONG NHIỄM HBV MẠN 475
3.1. Tỷ lệ mới mắc 475
3.2. Các yếu tố nguy cơ 475
4. BỘI NHIỄM VIRUT Ở BN HBsAg(+) MẠN 475
5. THẢI TRỪ HUYẾT THANH HBsAg TỰ NHIÊN Ở BN HBV MẠN 476
6. SỰ PHÁT TRIỂN CỦA UTTBG 477
6.1. Chẩn đoán UTTBC 478
6.1.1. Mục tiêu giám sát trước tiên là các BN VG virut mạn 478
6.1.2. Xơ gan 478
6.1.3. Tuổi và giới 478
6.1.4. Alpha foetoprotein (AFP) 478
6.1.5. Siêu âm 479
6.1.6. Thời khoảng giám sát 479
6.1.7. X-quang 479
6.1.8. Chẩn đáon mô học 480
6.2. Điều trị 480
6.2.1. Điều trị phẫu thuật 480
6.2.1.1. Ghép gan 480

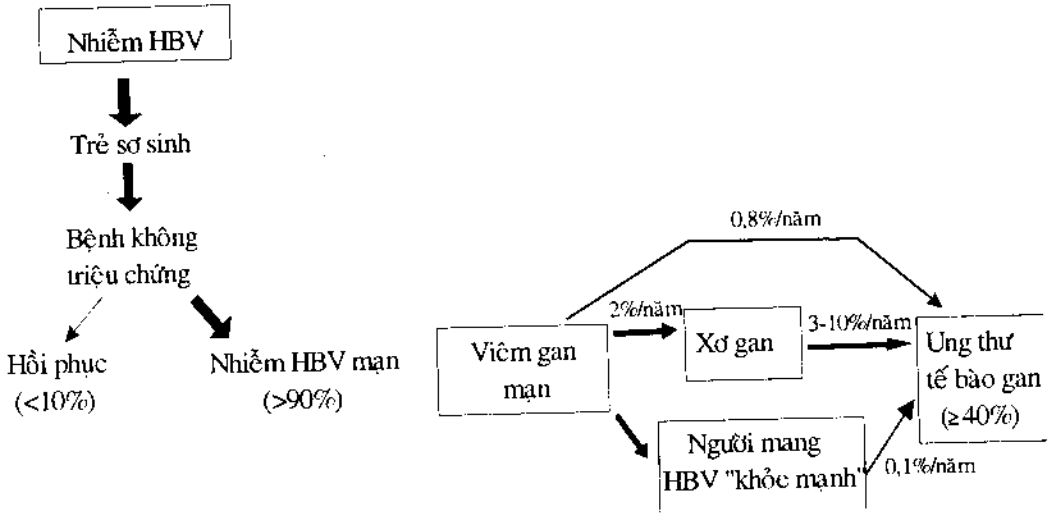
6.2.1.2. Cát bỏ gan *483*
6.2.3.Liệu pháp tiêm ethanol vào khối u *489*
6.2.4. Liệu pháp hoá học *491*
6.2.5. Liệu pháp phóng xạ *494*
6.2.6. Liệu pháp miễn dịch tế bào *495*
7. SỰ CHỌN LỰA LIỆU PHÁP VÀ ĐIỀUN TRỊ ĐA PHƯƠNG PHÁP **496**
7.1. Chọn lọc điều trị theo kích thước và khối lượng khối u *496*
7.2. Sự chọn lọc cũng dựa vào khả năng phẫu thuật *496*
8. TÓM TẮT **497**
TÀI LIỆU THAM KHẢO ***497***

1. QUÁ TRÌNH TIẾN TRIỂN CỦA NHIỄM HBV MẠN CHU SINH

Các nghiên cứu về nguồn nhiễm virut tự nhiên xác định có người lành mang HBV cùng với các trường hợp diễn tiến tối cấp dẫn đến tử vong, tiến triển nhanh hay chậm đến xơ gan và sự tồn tại về mối liên quan giữa HBV và UTTBG. Các nghiên cứu trên người cũng phát hiện các chủng HBV khác nhau ở các BN có thể ảnh hưởng đến tiến triển tự nhiên của bệnh.

Sự hiểu biết về tiến triển tự nhiên của VG B sẽ khó khăn nếu không có các mô hình loài vật. Các nghiên cứu nhiễm truyền ở hắc tinh tinh cho thấy tính gây nhiễm của HBV DNA. Nhờ đó, hiện tượng viêm trong gan thấy ở chuột trưởng thành được tiêm HBV DNA trực tiếp vào gan giống với các thay đổi trong virut VG B. Các nghiên cứu trên chuột chuyển gen đưa đến giả thuyết cho là HBV có thể trực tiếp gây độc tế bào gan với sự hiện diện dư thừa vỏ ngoài HBV. Nhiều hình thái của tiến triển tự nhiên HBV hấp dẫn đang chờ khám phá. Một trạng thái HBV "thể ẩn" có thể được phát hiện qua các nghiên cứu bằng phương pháp chuỗi polymerase (PCR). Có tình trạng sao chép HBV thấp trong nhiều bệnh cảnh lâm sàng, bao gồm những người thiếu tất cả các dấu ấn huyết thanh của nhiễm HBV. Tuy nhiên, đây là nhiễm HBV "thể ẩn" gây tổn thương tiến triển ở gan hay chỉ là lữ khách vô tội thì còn chưa rõ.

Nhiễm HBV và các di chứng của bệnh là vấn đề toàn cầu, nhất là vùng đông nam châu Á, nơi có 5-10% cộng đồng có HBsAg và khoảng 30-80% BN VG mạn là do nhiễm HBV. Theo một nghiên cứu tại Đài Loan, có thể cũng giống như các nơi khác ở châu Á, đa số nhiễm HBV xảy ra ở thời kỳ chu sinh và những năm đầu của thời thơ ấu. Nhiễm HBV mạn xảy ra độ 90% ở trẻ nhiễm virut chu sinh và 20-30% trẻ nhiễm HBV từ 1 đến 5 tuổi, Truyền nhiễm chu sinh chiếm độ 40% cộng đồng nhiễm HBV mạn ở những vùng dịch lưu hành cao (hình 17-1).



***Hình 17-1.** Diễn tiến tự nhiên của nhiễm HBV ở trẻ em.*

Quá trình tự nhiên của nhiễm HBV mạn chu sinh có 3 giai đoạn: dung nạp miễn dịch, thải trừ và sao chép thấp. Sự phân chia này dựa vào mối liên quan hỗ tương giữa mức độ sao chép virut, tổn thương mô học và tuổi của BN hiện nay đang được chấp nhận.

1.1. QUAN NIỆM TRƯỚC ĐÂY

Các nghiên cứu trước đây cho là quá trình tiến triển tự nhiên của nhiễm HBV mạn có hai giai đoạn: giai đoạn HBeAg(+) có tình trạng sao chép HBV hoạt động kết hợp với các tổn thương viêm ở gan, giai đoạn chuyển huyết thanh HBeAg thành anti-HBe thường đi cùng với việc giảm sao chép virut và thuyên giảm bệnh. Tuy nhiên, sự kết hợp giữa HBeAg huyết thanh và tổn thương mô học của BN ở châu Á thấp hơn ở các nước phương Tây (bảng 17-1).

Bảng 17-1. Sự kết hợp HBeAg(+) huyết thanh và mô học của BN châu Á và bắc Âu.

Nguồn BN HBeAg(+)	Bệnh gan hoạt động %	Mô học gan bình thường
Bắc Âu	≥ 90	≤ 10
Đài Loan, Nhật	60-70	30-40

Trong khi đại đa số BN HBeAg(+) ở bắc Âu có bệnh gan hoạt động, một tỷ lệ đáng kể các BN này ở Đài Loan và có lẽ cũng như các nơi khác ở châu Á có tình trạng gan bình thường hoặc chỉ có tổn thương mô học tối thiểu. Có lẽ quá trình tự nhiên nhiễm HBV mạn ở châu Á khác biệt với các nước phương tây và liên quan khá chặt chẽ đến tuổi nhiễm bệnh. Các nghiên cứu về mối quan hệ qua lại giữa mức sao chép virut, tổn thương mô học và tuổi nhiễm virut góp phần khá ý nghĩa vào sự hiểu biết quá trình tự nhiên nhiễm HBV mạn chu sinh.

Nồng độ HBV DNA huyết thanh và tổn thương mô học ở BN VG B mạn HBeAg(+) tỷ lệ nghịch. Đa số BN có HBV huyết thanh cao (>500 pg/ml) có gan bình thường hoặc tổn thương mô học tối thiểu. Ngược lại, ở BN có bệnh gan mạn hoạt động thường có nồng độ HBV DNA tương đối thấp (≤ 500 pg/ml) . Giữa nồng độ HBV DNA huyết thanh và tuổi BN cũng tỷ lệ nghịch. Đa số BN < 20 tuổi có nồng độ HBV DNA cao (> 500 pg/ml), nồng độ giảm theo tuổi và đa số BN > 40 tuổi có nồng độ HBV DNA thấp. Vì thế, BN HBeAg(+) trẻ hơn có mức độ sao chép virut cao nhưng tổn thương mô học thấp hơn người có tuổi.

1.2. QUAN NIỆM HIỆN NAY

Quá trình tự nhiên của nhiễm HBV chu sinh có thể được chia làm 3 giai đoạn, khác với nhiễm HBV mắc phải vào tuổi trưởng thành, thường không có giai đoạn dung nạp ban đầu.

Bảng 17-2. Quá trình tự nhiên của nhiễm HBV mạn chu sinh.

	Dung nạp miễn dịch	Thải trừ miễn dịch	Sao chép thấp
Tuổi tính theo năm	< 15	15-35	> 35
HbsAg	+	+	+
HBeAg	+	+	-
Anti-HBe	-	-	+
HBV DNA	+ (cao)	+ (trung bình)	-
HBV DNA/PCR	+	+	+
ALT huyết thanh	bình thường	cao	bình thường
VG	Tối thiểu	Có	Tối thiểu
HBcAg trong gan	+ (nhân)	+ (tế bào chất)	-

1.2.1. Giai đoạn dung nạp miễn dịch

BN có HBeAg(+) và có nồng độ HBV DNA huyết thanh cao, nhưng không có triệu chứng, ALT bình thường và tổn thương mô học tối thiểu. Các cơ chế dung nạp miễn dịch trong nhiễm HBV mạn hiện chưa được biết nhiều. Các nghiên cứu thực nghiệm ở chuột cho thấy truyền HBeAg mẹ qua nhau có thể gây tổn thương đáp ứng tế bào T đối với HBeAg và HBcAg.

1.2.2. Giai đoạn thải trừ miễn dịch

Thường xảy ra khoảng 15-35 tuổi. Trong giai đoạn này, mức sao chép HBV giảm, cùng với ALT tăng lên và tăng tổn thương viêm gan, cho thấy các cố gắng của

hệ miễn dịch nhằm thải loại tế bào gan nhiễm HBV. Sau nhiều năm hoặc nhiều thập kỷ nhiễm HBV tồn tại, chuyển huyết thanh tự nhiên HBeAg thành anti-HBe cùng với ngưng sao chép HBV và bệnh thuyên giảm đã được quan sát. Tỷ lệ trung bình chuyển huyết thanh tự nhiên khoảng 10% BN mỗi năm. Tuy nhiên, xác suất chuyển huyết thanh HBeAg thành anti-HBe tương quan chặt chẽ với tổn thương mô học và các thay đổi sinh hóa. Thí dụ, tỷ lệ chuyển huyết thanh HBeAg hàng năm là 5-10% ở các BN VG mạn, nhưng chỉ dưới 5-10% ở các BN có tổn thương mô học tối thiểu.

Chuyển huyết thanh HBeAg tự nhiên trong vòng 18 tháng xảy ra trong hơn 60% BN có ALT cao hơn 5 lần GHTBT, nhưng ít hơn 15% ở những người có ALT dưới 5 lần GHTBT. Khoảng 70% BN trải qua chuyển huyết thanh anti-HBe có tình trạng bệnh xấu đi tạm thời ngay trước khi mất HBeAg. Bùng phát ALT tiêu biểu cho sự thải trừ qua trung gian miễn dịch của các tế bào gan nhiễm virut. Điều quan trọng cần biết là đặc trưng này, đối với tình trạng xấu đi đột ngột của ALT huyết thanh, có thể là một dấu hiệu tiên lượng tốt hơn là xấu ở người VG B mạn. Tuy nhiên, các đợt bùng phát kết hợp với giảm sao chép virut có thể nặng nề và đe dọa mạng sống. Hơn nữa, chỉ độ 25% các đợt bùng phát cấp có kèm theo chuyển huyết thanh sau đó.

Sác xuất chuyển huyết thanh HBeAg tương quan với mức độ tổn thương gan trong quá trình bùng phát. Khoảng 70% các đợt bùng phát cấp kết hợp với hoại tử gan bắc cầu hoặc tăng nồng độ alpha-fetoprotein huyết thanh trên 100 ng/ml cùng với chuyển huyết thanh HBeAg sau đó trong vòng 3 tháng, so với chỉ 20% ở những người không có. Tuy nhiên, một số ít BN trải qua các đợt bùng phát cấp nặng với nhiều đợt thuyên giảm và tái phát là thể bệnh đặc biệt nặng của nhiễm HBV mạn, thường dẫn đến xơ gan và suy gan.

1.2.3. Giai đoạn sao chép thấp

HBsAg huyết thanh tồn tại, nhưng HBeAg không còn phát hiện nữa và tuy HBV DNA không còn được phát hiện bằng phương pháp lai, vẫn được phát hiện bằng PCR. Nồng độ HBV DNA thấp có lẽ phản ánh mức độ sao chép HBV thấp, nhưng trong đa số BN không có vẻ có VG mạn. Mức độ sao chép tiếp tục thấp có lẽ giải thích tình trạng tồn tại của HBsAg trong huyết thanh sau khi mất HBeAg. Trong giai đoạn này, BN thường không có triệu chứng và không có bệnh gan hoạt động. Tuy nhiên, trong vài BN có thể tiến triển đến xơ gan và UTTBG.

Trước đây, HBeAg đã được dùng như một dấu ấn của tính gây nhiễm và tình trạng sao chép virut hoạt động ở người nhiễm VG B mạn. Hơn nữa, chuyển huyết thanh HBeAg thành anti-HBe được xem là dấu ấn tiên lượng hoặc một chỉ thị của điều trị kháng virut thành công trong VG B mạn và đã được gọi là "khoá miễn dịch". Các cải tiến về phương pháp chẩn đoán phân tử cho thấy không có tương quan chặt chẽ giữa tình trạng HBeAg và sao chép virut. Trong công trình của Chun và cs có một số BN anti-HBe(+) có nồng độ HBV DNA khá cao.

2. CÁC THỂ HUYẾT THANH NHIỄM HBV MẠN

2.1. NHIỄM HBV MẠN HBe Ag(+)

Tiến triển tự nhiên HBV chịu ảnh hưởng nhiều vào tuổi nhiễm bệnh, sự toàn vẹn của miễn dịch vật chủ và việc phơi nhiễm với các yếu tố môi trường. Nhiễm HBV mạn thường gặp ở đàn ông hơn đàn bà, trong trẻ sơ sinh hơn người lớn (90% so với 5%), và ở BN tổn thương miễn dịch hơn những người có thẩm quyền miễn dịch. Nguy cơ mạn tính là 60% vào năm thứ nhì của đời sống giảm xuống 10% vào lúc 6 tuổi.

Chuyển huyết thanh thành anti-HBe song song với bùng phát VG như là hậu quả của hoại tử tế bào gan qua trung gian miễn dịch và sự thải trừ tiến triển của các tế bào gan nhiễm virut và HBV DNA huyết thanh (người mang khỏe mạnh). Sau khi chuyển huyết thanh anti-HBe, người mang khỏe mạnh biểu hiện nhiễm HBV không sao chép kéo dài do hòa nhập của DNA virut vào bộ gen tế bào gan. Người mang khỏe mạnh về mặt lâm sàng là tình trạng lành tính lâu dài. Một nghiên cứu thuần tập trên 92 người mang khỏe mạnh ở Ý cho thấy tiên lượng ở các BN này là tốt, với một nguy cơ phát triển xơ gan hoặc UTTBG thấp trong 10 năm. Các kết quả tương tự có được trong một nghiên cứu thuần tập 317 người mang HBsAg không triệu chứng ở Montréal được khảo sát sau 16 năm theo dõi. Ba người mang đã chết vì xơ gan liên quan đến HBV, một người chết vì xơ gan do rượu và 9 người chết với nguyên nhân không liên quan đến bệnh gan. Không có người mang nào chết vì UTTBG.

Ngược lại, các BN HBeAg(+) có HBV sao chép có nhiều mức độ tổn thương gan, từ thể lành tính của VG mạn tiểu thùy đến các thể nặng hơn của xơ gan hoạt động và cả UTTBG. VG mạn hoạt động là hậu quả của HBV sao chép tồn tại gợi ra miễn dịch ký chủ tấn công vào tế bào gan nhiễm virut và trong đa số trường hợp bệnh thuyên giảm khi sao chép virut chấm dứt và chuyển huyết thanh thành anti-HBe xảy ra. Ở 70 BN người Ý, tỷ lệ hàng năm của chuyển huyết thanh HBeAg/anti-HBe và bệnh thuyên giảm là 16%. Thải trừ HBeAg huyết thanh ở trẻ con Trung Quốc thấp hơn, trong 11 trẻ không có trường hợp nào phát triển anti-HBe trong thời khoảng 2 năm. Dù thế, với thời khoảng 5 năm, 76 trẻ người Ý có 70% chuyển huyết thanh anti-HBe, thải trừ HBV-DNA và ALT tồn tại bình thường, không có trường hợp nào tái hoạt (reactivation) với HBV sau khi chuyển huyết thanh anti-HBe tự nhiên, cho thấy các trẻ này đã trở thành người mang khoẻ mạnh. Chấm dứt sao chép HBV và thải trừ HBeAg, HBV-DNA gặp trong 51% (45/88) BN người lớn Ý được theo dõi trung bình 5 năm. Tuy sự kiện này cho thấy thuyên giảm bệnh về mặt lâm sàng, sinh hoá và mô học, trong suốt 5 năm theo dõi, 10 BN (22%) có tái hoạt HBV tự nhiên tạm thời và bệnh tăng lên. Bởi thế, khác với nhiễm HBV ở trẻ em, chuyển huyết thanh HBeAg thành anti-HBe trong tuổi thiếu niên không luôn ổn định. Ở hai BN người lớn, tái hoạt HBV làm bệnh gan sẵn có xấu đi từ VG mạn hoạt động đến xơ

gan hoạt động. Các nghiên cứu và kết quả tương tự được thực hiện ở các BN Trung Quốc do Tong và cs. và Lok và cs. Sự tái hoạt của nhiễm HBV thường gặp ở BN tổn thương miễn dịch do HIV, người đồng tính luyến ái và BN điều trị bằng thuốc ức chế miễn dịch. Ở các BN miễn dịch mạnh, HBsAg biến mất cùng với sự lành bệnh lâu dài của gan dưới 10% các trường hợp.

2.1.1. Mức độ trầm trọng của bệnh

Sao chép HBV tồn tại kéo dài trong diễn tiến của bệnh dẫn đến xơ gan và UTTBG. Tiên lượng của BN tùy theo giai đoạn mô học của gan. Ở 105 BN người Ý được theo dõi trung bình 5 năm, 34% BN có HBV-DNA huyết thanh có thể phát hiện được, phát triển đến xơ gan, nhưng chỉ 15% trong số này không có HBV-DNA phát hiện bằng phương pháp thấm điểm. Trong các BN, hoại tử gan bắc cầu là hình ảnh mô học tiên lượng của xơ gan. Một nghiên cứu gồm 509 BN Trung Quốc VG B mạn, xơ gan phát triển ở 35 BN trong khoảng từ 6 đến 64 tháng sau khi tiếp nhận, với tỷ lệ hàng năm được tính là 2,4%. Tỷ lệ mắc xơ gan tăng theo tuổi lúc tiếp nhận, ở các BN có các đợt gan mất bù và trong các BN VG cấp tái phát không chuyển huyết thanh anti-HBe. Trong một nghiên cứu tương lai trong 8 năm ở Dusseldorf với 53 BN nhiễm virut mạn, 13 người phát triển các biến chứng lâm sàng trầm trọng mà không thải loại HBeAg. Báng bụng phát triển ở 2 BN, vàng da và biến chứng não ở 1 BN; vàng da, biến chứng não và phình tĩnh mạch thực quản ở 1 BN khác. Bốn BN chỉ có phình tĩnh mạch thực quản và 3 trong số họ có xuất huyết trong thời gian theo dõi. Bốn BN chết và 1 BN phải ghép gan.

2.1.2. Tỷ lệ sống sót

Trong 379 BN VG B mạn ở Mỹ, tỷ lệ sống trong 5 năm là 97% ở BN VG thể nhẹ, 86% VG mạn hoạt động và chỉ 66% ở BN xơ gan. Một nghiên cứu ở Đức, 53 BN nhiễm HBeAg mạn, 4 BN chết và 1 BN cần ghép gan trong thời khoảng theo dõi 38 tháng. Sống lâu mà không có biến chứng lâm sàng thấy ở BN thải trừ HBeAg tự nhiên. Tỷ lệ sống trong 43 BN Đức xơ gan mất bù là 72% trong 5 năm. Các biến số liên quan có ý nghĩa với khoảng thời gian sống là tuổi, transaminase huyết thanh, sự hiện diện của phình tĩnh mạch thực quản và bảng điểm Child-Pugh. Phân tích đa biến số phát hiện chỉ có tuổi, bilirubin và báng bụng là các yếu tố nguy cơ độc lập với thời gian sống. Tỷ lệ sống sót sau 5 năm ở BN xơ gan mất bù, được xác định qua sự hiện diện của báng bụng, vàng da, bệnh não và xuất huyết thực quản ngắn hơn BN xơ gan còn bù (14% đối với 84%). Ở BN HBeAg(+) còn bù hay mất bù sống sót ít hơn BN xơ gan HBeAg(-). Trong một nghiên cứu đa trung tâm, tỷ lệ sống sót 10 năm được tính ở 126 BN châu Âu là 68%. Sự thải trừ HBeAg huyết thanh trong thời gian theo dõi xảy ra ở 64 BN và thường gặp trong 92 BN sống sót hơn ở 24 người chết (65% đối với 17%, $p < 0.001$). Bởi thế, ngừng sao chép virut trong thời gian theo dõi tương quan với tỷ lệ sống tốt hơn.

Bảng 17-3. Tiến triển tự nhiên của nhiễm HBeAg.

Biện pháp	Tỷ lệ %	Tham khảo
Tỷ lệ nhiễm chu sinh (Việt Nam)		
Trẻ nhiễm từ mẹ HBsAg+, không tính đến HBeAg	40	Trần thị Lợi
Trẻ nhiễm từ mẹ HBsAg+, HBcAg-	60,8	Đinh Thị Bình và cs
Tỷ lệ mạn tính		
Trẻ sơ sinh (Việt Nam)	100	Trần thị Lợi
Trẻ sơ sinh (người Yupik Eskimos)	60	McMahon và cs
Người lớn	5	Taylor và cs
Chuyển huyết thanh anti-HBe/năm		
Trẻ em (Trung Quốc)	0	Lok và cs
Trẻ em (Ý)	16-19	Bortolotti và cs
Người lớn	10	Liaw và cs
Tái hoạt sau chuyển huyết thanh anti-HBe/năm		
Trẻ em	0	Bortolotti và cs
Người lớn	4,4	Fattovich và cs
Tỷ lệ xơ gan/năm		
Ý	5-9	Fattovich và cs
Đài Loan	2-4	Liaw và cs
Sự sống sót 5 năm của BN xơ gan		
Mỹ	66	Weissberg và cs
Hà Lan	72	De Jongh và cs
Đức	78	Niederau và cs

Mặc dù dự phòng miễn dịch đặc hiệu, VG B tái phát được ghi nhận khá rõ của bệnh gan HBV sau truyền máu. Thời gian giữa ghép và tái phát VG là 41 đến 307 ngày và tỷ lệ tử vong ngắn hạn của người nhận gan ghép do suy gan là 27%.

2.2. NHIỄM HBV MẠN ANTI-HBe (-)

Tính không đồng nhất virut là một yếu tố quan trọng khác trong tiến triển tự nhiên nhiễm HBV. Các biến dị kiểu gen của HBV được xác định ở một nhóm BN anti-HBe(+) có HBV-DNA huyết thanh đo được bằng phương pháp lai thấm điểm (dot-blot hybridization). Khiếm khuyết gen hay gặp là một đột biến điểm trong vùng tiền lõi của bộ gen sinh ra một đơn vị mã kết thúc trong khung đọc (in-frame) tại nucleotit 1896, ngăn ngừa bài tiết HBeAg của gen nuleocapsit. Tuy nhiên, có nhiều điểm đột biến khác của một codon kết thúc trong khung. Các biến dị tiền lõi không có mặt như thành phần chính trong giai đoạn HBeAg của VG nhưng xuất hiện gần như sau chuyển huyết thanh anti-HBe. Ngay sau khi chuyển huyết thanh, có một hỗn hợp các chủng, nhưng với thời gian kiểu nguyên sinh mất đi. Quá trình chọn lọc này xảy ra ở BN bệnh gan cấp và mạn tính.

VG B mạn anti-HBe(+) khác biệt với VG B mạn HBeAg(+) về mặt tiến triển tự nhiên. Các đặc trưng đặc hiệu là tần số giảm bệnh tự nhiên thường cao sau bùng

phát VG. Các biến dị tiền lõi hiện diện trong gan của các BN trong giai đoạn bệnh gan mạn hồi phục. Các ổ chứa bất hoạt này của các chủng HBV đột biến có thể báo trước các đợt tái hoạt virut và gây bệnh trầm trọng thêm. Tuy nhiên, các biến dị tiền lõi là nguyên nhân của chính bệnh gan nặng, hay do đáp ứng chống lại HBeAg, vẫn còn bàn cãi.

2.2.1. Mức độ trầm trọng của bệnh

Một khía cạnh thú vị là các mức trầm trọng khác nhau của bệnh gan được quan sát ở các BN có vẻ phụ thuộc theo địa dư. Ở bắc Âu và Mỹ, các chủng đột biến hiếm xảy ra ở VG B, nhưng thường được phát hiện ở các BN VG kịch phát. Ở châu Á, các biến dị tiền lõi không bao giờ được phát hiện ở các BN VG tự giới hạn. Các đột biến tiền lõi được tìm thấy trong 18 người mang, không liên quan đến độ trầm trọng của bệnh nền, cả ở những người mang mạnh khỏe. Trong 39 BN VG B mạn người Bulgaria, bệnh gan nặng thường ở BN nhiễm các đột biến tiền lõi và mức độ virut huyết cao. Giám sát trong 8 năm, 23 BN người Ý cũng thấy như thế. 20 BN với chẩn đoán ban đầu VG mạn, 7 được thấy có xơ gan vào cuối kỳ theo dõi.

Trong một nghiên cứu tương lai gồm 175 BN Trung Quốc, tỷ lệ mới mắc hàng năm của xơ gan cũng tương tự với tỷ lệ (2,4%) tìm thấy ở 509 BN với nhiễm HBeAg. Cũng như xơ gan HBeAg, tỷ lệ mới mắc của xơ gan ở BN VG B mạn anti-HBe, tương quan chặt chẽ với tuổi BN và tần số các đợt cấp có tái hoạt HBeAg.

Trong một nghiên cứu đa trung tâm ở châu Âu, xác suất 10 năm của BN xơ gan anti-HBe(+) còn bù là 63%, cho thấy mất bù gan thường xảy ra muộn. Theo dõi trung bình 6 năm, UTTBG phát triển ở 9% trong 349 BN với xơ gan còn bù. Qua phân tích đa biến số, tuổi, số lượng tiểu cầu trong huyết thanh và độ chắc của gan trên khám lâm sàng là những yếu tố tiên lượng UTTBG độc lập. Nghiên cứu của Colombo và cs, UTTBG phát triển ở 6/57 BN với xơ gan anti-HBe(+) được giám sát trong 10 năm (thời gian theo dõi trung bình 81 tháng). Tỷ lệ mắc hàng năm của ung thư là 1% với thời khoảng theo dõi 10 năm, 8 BN (13%) phát triển các biến chứng khác: 4 vàng da, 2 báng bụng và 2 chảy máu do vỡ giãn tĩnh mạch thực quản.

2.2.2. Tỷ lệ sống sót

44 BN với xơ gan còn bù, tỷ lệ sống 5 năm là 97%, so với 72% ở 54 BN HBeAg(+). Trong một nghiên cứu đa trung tâm, tỷ lệ sống sau 10 năm của 240 BN châu Âu có xơ gan anti-HBe(+) là 68%. Tại Milan, tỷ lệ sống 10 năm của một nhóm 57 BN xơ gan anti-HBe(+) và không có dấu hiệu của UTTBG, là 82%. Các khác biệt trong các tỷ lệ sống sót ở các nghiên cứu này có thể biện minh là do các tiêu chuẩn khác nhau của việc tuyển chọn và theo dõi BN.

Bảng 17-4. Tiến triển tự nhiên của BN xơ gan liên quan đến nhiễm anti-HBe.

	Tỷ lệ %	Tham khảo
Tỉ lệ xơ gan/năm	2,4	Liaw và cs.
Tỉ lệ mất bù ở các BN có xơ gan/năm	3,7	Fattovich và cs.
Tỉ lệ UTTBG/năm ở BN có xơ gan	1,5	Fattovich và cs.
Xơ gan còn bù: sống sót sau 5 năm	97	De Jough và cs.
Xơ gan còn bù: sống sót sau 10 năm	68	Realdi và cs.

3. TỶ LỆ MỚI MẮC VÀ CÁC YẾU TỐ GÓP PHẦN VÀO XƠ GAN TRONG NHIỄM HBV MẠN

Hậu quả của nhiễm HBV mạn tùy thuộc vào thời khoảng thải trừ miễn dịch cũng như vào mức độ trầm trọng của tổn thương gan. Chỉ 15-20% BN nhiễm HBV ở tuổi lớn cuối cùng phát triển xơ gan. Nhiễm HBV ở trẻ em có một tỷ lệ cao tiến triển đến xơ gan và UTTBG.

3.1. TỶ LỆ MỚI MẮC

Trong một nghiên cứu thuần tập ở Đài Loan, trên 684 người được xác định VG B mạn về mặt lâm sàng và bệnh học với một thời gian theo dõi trung bình 35,3 tháng (6-64 tháng), xơ gan xảy ra ở 42 trường hợp (6,1%) với tỷ lệ mắc hàng năm được tính là 2,1%. Sác xuất cộng dồn của xơ gan tăng lên tuyến tính theo thời gian và gần 15% vào cuối thời khoảng 66 tháng.

3.2. CÁC YẾU TỐ NGUY CƠ

Có lẽ BN được theo dõi càng lâu, các nguy cơ phát triển xơ gan càng lớn. Phân tích các yếu tố nguy cơ phát hiện BN có các đợt bùng phát cấp nặng biến chứng do suy gan cấp hoặc các BN có các đợt bùng phát cấp tái diễn với hoại tử gan bắc cầu có nhiều khả năng phát triển xơ gan. Hơn nữa, tỷ lệ mắc xơ gan tăng một cách ý nghĩa với tuổi vào viện tăng lên. BN trên 40 tuổi có nhiều khả năng phát triển xơ gan. Yếu tố tuổi và hoại tử gan bắt cầu trong phát triển xơ gan hình như liên quan với nhau. BN có hoại tử gan bắt cầu càng trẻ thường có thể hồi phục mà không có di chứng nặng nề, trong khi quá trình bệnh ở người lớn tuổi thường có biến chứng suy gan bán cấp, kết hợp với tỷ lệ tử vong cao hoặc gây xơ gan sau đó nếu BN không tử vong.

4. BỘI NHIỄM VIRUT Ở BN HBsAg(+) MẠN

Nhiều BN HBsAg(+) lần đầu được nhận biết trong các đợt VG virut cấp: Thí dụ, khoảng 50-69 BN người lớn có VG virut cấp ở Đài Loan dương với HBsAg, nhưng âm với IgM anti-HBc, cho thấy trước đây tình trạng HBsAg(+) không được nhận biết nay có tái hoạt HBV hoặc bội nhiễm với virut không-B khác. Các dấu ấn huyết thanh bội nhiễm virut hướng gan không-B được chứng minh trong 30-40% ở các trường hợp này, thường gặp nhất là HCV, sau đó là HDV, HEV và HAV.

Mức độ trầm trọng tăng lên cùng với tỷ lệ trường hợp tử vong (case fatality rate) của VG virut cấp ở BN HBsAg(+) mạn. Trong đợt dịch VG A ở Thượng Hải năm 1982, tỷ lệ trường hợp tử vong của VG A cấp ở BN nhiễm HBV mạn gấp 5-6 lần hơn các BN không bội nhiễm. Phân tích các trường hợp VG A cấp ở Mỹ từ năm 1983-88 cũng cho các số liệu tương tự như ở Thượng Hải: tỷ lệ tử vong của VG A cấp ở BN HBsAg mạn là 11,7%, khoảng 58 lần cao hơn ở BN không bội nhiễm. Các kết quả từ một nghiên cứu gần đây ở Đài Loan cũng phát hiện VG C cấp bội nhiễm trên người HBV mạn có nguy cơ suy gan kịch phát cao gấp 10 lần. Do đó, dự phòng bội nhiễm virut, bao gồm dự phòng bằng vacxin rất được khuyến cáo.

5. THẢI TRỪ HUYẾT THANH HBsAg TỰ NHIÊN Ở BN HBV MẠN

Thải trừ muộn HBsAg huyết thanh là một sự kiện bất thường trong quá trình tiến triển tự nhiên của nhiễm HBV mạn. Tỷ lệ thải trừ tự nhiên khoảng 0,4-2% mỗi năm ở các nước phương tây, trong khi nhiễm HBV thường xảy ra ở người lớn. Tại Đài Loan, tỷ lệ thải trừ hàng năm khá thấp từ 0,1 đến 0,8%. Tại Việt Nam, chỉ có một công trình liên quan về tỷ lệ thải trừ ở BN VG B mạn sau một năm cho thấy chỉ có 1/58 BN, tỷ lệ 1,7%. Tuy số liệu còn ít, nhưng cũng cho thấy khi đã xác định là VG B mạn thì cơ may thải trừ HbsAg chỉ có một tỷ lệ rất nhỏ.

Thải trừ tự nhiên HBsAg thường xảy ra ở BN trên 40 tuổi, người có HBeAg(-), hoặc người có biểu hiện xơ gan. Người ta đã chứng minh các BN HBsAg(+) có bội nhiễm HCV đã giảm mức độ biểu hiện HBsAg trong tế bào gan và bội nhiễm HCV có thể tăng thải trừ HBsAg. Tuy nhiên, HCV có thể thay thế HBV gây VG virut mạn.

Trong đa số trường hợp, thải trừ HBsAg kết hợp với mất tất cả các dấu ấn sao chép HBV, gồm cả HBV DNA được xét nghiệm bằng phương pháp PCR. Phát triển kháng thể chống HBsAg được quan sát trong khoảng 40% trường hợp. Đa số BN có thải trừ tự nhiên HBsAg có hậu quả khá thuận lợi. Tuy nhiên, một vài báo cáo cho thấy xơ gan hoặc UTTBG có thể vẫn phát triển dù HBsAg đã thải trừ. Bởi thế, điều được đề nghị là tất cả BN HBsAg(+) đã thải trừ HBsAg nên được giám sát chặt chẽ đối với các biến chứng, như những người có HBsAg tồn tại.

Tuy nhiên, gần đây với các xét nghiệm nhạy hơn, nhiều tác giả đã báo cáo còn tồn tại phiên mã và sao chép virut ở các BN mới vừa thải trừ HBsAg khỏi huyết thanh và HBV DNA cũng như các vùng lặp lại trực tiếp toàn vẹn của HBV DNA cũng được phát hiện nhiều năm sau khi khỏi bệnh. Bởi thế, phiên mã HBV ở gan có thể kết hợp với các thể trung gian sao chép HBV DNA tồn tại ở BN đã thải trừ HBsAg, cho thấy trong một số trường hợp, HBV không phải ở trong tình trạng tiềm ẩn mà là tình trạng sao chép thấp.

6. SỰ PHÁT TRIỂN CỦA UTTBG

UTTBG là ung thư đứng hàng thứ 4 trên thế giới. Ở các vùng có tần suất cao như Trung Quốc, tỷ lệ chuyển hóa theo tuổi có thể lên đến 80/100.000/năm. Trong những vùng có tần suất nhiễm HBV thấp như Bắc Mỹ, tỷ lệ mắc ở đàn ông độ 3/100.000/năm. Hiện nay, đây là một loại ung thư duy nhất có thể dự phòng được bằng cách tiêm phòng. Vấn đề còn lại là việc sàng lọc và điều trị những BN UTTBG.

Đa số thông tin về các kiểu tăng trưởng, thời gian tăng thể tích gấp đôi của UTTBG và tỷ lệ sống sót của BN đã có từ các nghiên cứu BN ung thư với nhiều nguyên nhân hoặc với bệnh liên quan chủ yếu với HCV. Trừ một số ngoại lệ, UTTBG là một bệnh phát triển chậm. Một ngoại lệ như thế là UTTBG ở người da đen châu Phi đa số liên quan đến nhiễm HBV mạn và phơi nhiễm với aflatoxin, ung thư này thực ra hoàn toàn khác biệt về mặt lâm sàng và mô bệnh học với các khối u phát triển chậm được thấy ở Nhật và lưu vực Địa Trung Hải, thường kết hợp với nhiễm HCV. Sự khác biệt ấn tượng nhất giữa khối u liên quan đến HBV và các khối u liên quan đến HCV ở cả Đông và Tây bán cầu là các BN có ung thư liên quan với HBV xuất hiện sớm hơn 10 năm đối với BN ung thư liên quan đến HCV. Các khác biệt trong dịch tễ học và tuổi nhiễm của 2 virut này có thể giải thích cho các khác biệt được quan sát giữa các khối u liên quan với HBV và HCV. UTTBG phát triển sau nhiễm HCV được báo cáo xảy ra ở các BN với các đặc trưng mô học của bệnh gan nặng hơn các khối u phát triển sau nhiễm HBV. Trong một nghiên cứu tương lai 10 năm với 57 BN xơ gan do HBV còn bù tại trung tâm của Colombo và cs, 6 người phát triển UTTBG trong đó 3 người có một ổ và 3 người có nhiều ổ ung thư. Trong một nghiên cứu hồi cứu bệnh học lâm sàng ở 113 BN người Nhật không uống rượu có UTTBG, các BN HBsAg(-), những người có thể bị nhiễm với HCV, thường có các ung thư kiểu lan rộng hơn ở các BN HBsAg(+), là những người thường có UTTBG kiểu thâm nhiễm. Trong một nghiên cứu ở Nhật, tỷ lệ sống sót sau 3 năm ở các BN ung thư liên quan đến HCV cao hơn các BN có ung thư liên quan đến HBV (6,8% đối với 47%), cho thấy quá trình bệnh liên quan đến HBV nhanh hơn khi so với bệnh liên quan đến HCV.

Trong các khối u ác tính đặc, UTTBG là khó điều trị nhất vì nhiều lý do. UTTBG thường ẩn trong sâu và khó phát hiện sớm, tuy các kỹ thuật hình ảnh hiện nay đã cải thiện chẩn đoán rất nhiều. Gan nền thường là xơ gan và một phẫu thuật lớn không thể thực hiện trên một lá gan có xơ gan tiến triển. Tự bản thân xơ gan là một tình trạng tiền ung thư và ngay cả khi tổn thương ban đầu được mổ thành công, một vài nốt xơ có thể sớm trở thành ác tính và tỷ lệ tái phát sau mổ (có thể là xuất hiện UTTBG mới) là cực kỳ cao. Các tế bào gan nhạy cảm với phóng xạ và một gan xơ bệnh không thể dung nạp các liều chiếu xạ bên ngoài hiệu quả. Rõ ràng, sự chữa lành chỉ có thể đạt được bằng cách thay một gan xơ với một gan mới (ghép gan)

trước khi di căn ngoài gan. Tuy nhiên, trong những nước mà UTTBG là dịch lưu hành, người cho gan vẫn rất hiếm. Các kỹ thuật giải phẫu đã được cải thiện và hiện nay chọn lựa điều trị đầu tiên là cắt gan, tuy tiên lượng chính xác khó thực hiện ở từng BN riêng lẽ. Điều trị không phẫu thuật cũng đã được cải thiện trong 20 năm qua, nhưng không phải tuyệt đối chữa lành. Phòng ngừa sinh UTTBG là quan trọng nhất và nhiều nỗ lực đã được thực hiện cho mục tiêu này.

6.1. CHẨN ĐOÁN UTTBC

6.1.1. Mục tiêu giám sát trước tiên là các BN VG virut mạn

Nhiễm HBV mạn hoặc HCV đều làm tăng nguy cơ UTTBG. Beaslay và cs chứng minh rằng tỷ suất nguy cơ tương đối của UTTBG ở người nhiễm HBV mạn là 101. Tỷ lệ mắc UTTBG hàng năm ở người mang HBV là 0,5%, tăng lên 1% vào tuổi 70. Sakuma và cs thấy nguy cơ tương đối của UTTBG ở nhân viên nam ngành đường sắt Nhật là 50, tương đương với tỷ lệ mắc UTTBG là 0,4%/năm. Ở Bắc Mỹ Villeneuve và cs khảo sát một nhóm trẻ em được nuôi dưỡng không hợp pháp sinh ra vào thập niên 1950 gọi là "những đứa con của Duplessis" được mang tới các viện cứu tế và mang VG B. Trong những năm 1980 và đầu thập niên 1990, khi nhóm trẻ này được nghiên cứu, không có ai bị UTTBG. Đây là một tập hợp tương đối trẻ, có tuổi trung bình 46 và ít khác biệt về tuổi tác. Trong các tập hợp gồm những người VG B tuổi cao hơn, như các tập hợp của Sherman và McMahon, tỷ lệ mắc UTTBG lần lượt là 0,46% và 0,27%.

HBsAg được tìm thấy ở 70,2% BN UTTBG, nam (76,1%) cao hơn nữ (37.5%).

6.1.2. Xơ gan

Xơ gan mọi căn nguyên là yếu tố nguy cơ UTTBG. 80% BN phát triển UTTBG có xơ gan nền. Nguy cơ hàng năm phát triển UTTBG ở BN xơ gan từ 1-6%. Tỷ lệ UTTBG cao cũng được báo cáo ở các BN xơ gan do bệnh huyết sắc tố di truyền. Ngược lại, tỷ lệ mắc thấp được gặp ở BN xơ gan do mật.

Thế nên xơ gan có thể được dùng như một chẩn đoán để giám sát sàng lọc UTTBG. Tại Việt Nam, tỷ lệ mang HBsAg ở BN xơ gan khá cao 57,4%.

6.1.3. Tuổi và giới

Tuổi càng cao và giới nam cũng là yếu tố nguy cơ UTTBG khi có sự hiện diện của xơ gan. Ở người mang HBV, tỷ lệ mắc UTTBG tăng lên theo tuổi. Chưa có nghiên cứu đưa ra giới hạn tuổi để theo dõi UTTBG như trong trường hợp ung thư đại trực tràng. Đa số chuyên viên cho rằng nên khởi đầu sàng lọc vào tuổi 30 đến 40.

6.1.4. Alpha foetoprotein (AFP)

Độ nhạy của AFP để phát hiện UTTBG rất thay đổi ở các cộng đồng HBV(+) và nhất là các cộng đồng HBV(-). Nếu AFP tăng lên, từ 20ng/l đến 100ng/l, độ nhạy

của xét nghiệm AFP giảm từ 39% xuống còn 13%, tuy nhiên, độ đặc hiệu tăng lên. Bởi thế, AFP không đặc hiệu cho UTTBG. Nồng độ cũng tăng khi bùng phát VG cấp và có thể tăng kéo dài ở các BN xơ gan.

AFP được xem là xét nghiệm sàng lọc được báo cáo trong nhiều nghiên cứu, nhưng AFP được dùng để giám sát, không phải để chẩn đoán. Các nghiên cứu dùng AFP để sàng lọc có độ nhạy từ 39% đến 64%, độ đặc hiệu từ 76% đến 91% và giá trị tiên đoán dương tính từ 9% đến 32%. Nồng độ của AFP trong UTTBG nguyên phát được xác định trong nghiên cứu của Hoàng Trọng Thắng và cs là 1033,39±816,41 ng/ml.

Khi AFP tăng mà siêu âm bình thường cần phải xét nghiệm thêm để loại trừ UTTBG.

6.1.5. Siêu âm

Siêu âm là một xét nghiệm sàng lọc UTTBG được xác định ở người mang HBsAg khỏe mạnh. Độ nhạy từ 71-78%, độ đặc hiệu 93%. Giá trị tiên đoán dương tính từ 14-73%.

6.1.6. Thời khoảng giám sát

Thời khoảng giám sát được báo cáo thay đổi từ 3 đến 12 tháng. Tuy nhiên, các lý do chọn lựa các thời khoảng này thường không được rõ ràng. Thời khoảng giám sát 6 tháng có thể là một chọn lựa hợp lý, dựa trên các số liệu ở Trung Quốc, là thời gian khối u lớn gấp đôi trong UTTBG không triệu chứng dưới 5 cm được nghiên cứu. Sheu và cs thấy thời gian khối u tăng gấp đôi trung vị là 117 ngày. Khối u phân chia nhanh cần 5 tháng để tăng kích cỡ từ 1-3cm. Bởi thế, thời khoảng theo dõi mỗi 6 tháng là thời khoảng hợp lý để phát hiện các khối u tăng lên từ kích cỡ không phát hiện được đến phát hiện được.

6.1.7. X-quang

Nhiều loại khảo sát X-quang đã được dùng để xác định các hình ảnh siêu âm và để xác định chẩn đoán ở các BN xơ gan và VG mạn có tăng AFP. Các xét nghiệm này bao gồm CT, CT xoắn ốc, cộng hưởng từ (MRI), CT lipidol và chụp động mạch gan. Đối với các tổn thương lớn hơn 3cm, độ nhạy và độ đặc hiệu chung của CT tăng cường cản quang lần lượt là 68% và 81%. Các khối u nhỏ hơn được phát hiện tốt hơn bằng MRI với độ nhạy 81% đối với khối u nhỏ hơn 2cm. Quét bằng CT xoắn ốc nhạy hơn với 87% các khối u nhỏ hơn 1cm được phát hiện so với 64% bởi MRI. Độ nhạy có thể cải thiện bằng cách dùng các kỹ thuật X-quang xâm lấn như quét bằng CT lipiodol với độ nhạy từ 93-97%. Hơn nữa, độ nhạy giảm xuống 68% đối với các khối u nhỏ hơn 1cm. So sánh độ nhạy của các xét nghiệm này trong phát hiện UTTBG ở một gan không xơ được so với gan xơ cũng chưa được rõ.

6.1.8. Chẩn đoán mô học

Vai trò của sinh thiết các tổn thương gan nhằm xác định UTTBG còn bàn cãi. Phân biệt các khối u xơ hóa lớn với UTTBG đã biệt hóa hoặc các khối u loạn sản mức độ thấp với UTTBG có thể khó khăn khi sinh thiết. Sinh thiết gan cũng có nguy cơ lan truyền khối u nhỏ theo đường kim. Hút bằng kim nhỏ cũng cần trong chẩn đoán, nhưng không được khuyến cáo trong phân biệt các khối u xơ hóa với các tổn thương ung thư nhỏ.

6.2. ĐIỀU TRỊ

6.2.1. Điều trị phẫu thuật

Điều trị phẫu thuật được chia ra 2 loại: ghép gan và cắt gan. Trước đây, chẩn đoán UTTBG khá nghèo nàn về việc xác định vị trí và số lượng các khối u và đánh giá mức độ của bệnh gan nền thiếu chính xác. Khối u tìm thấy thường không thể cắt bỏ khi mở bụng và BN chỉ được thắt động mạch. Chẩn đoán khối u trước phẫu thuật và đánh giá chức năng gan ngày nay đã được cải thiện nhiều và thắt động mạch rất ít khi thực hiện. Ghép gan đúng vị trí (GGĐVT) có vẻ tốt hơn cắt gan vì bệnh gan trên nền xơ được thay thế bởi gan khỏe mạnh, và có thể loại bỏ nguồn tái nhiễm nếu thực hiện trước khi di căn ngoài gan. Ghép gan cũng có vài bất lợi:

- Dùng ức chế miễn dịch sau ghép có thể giúp tăng trưởng các tế bào khối u ngoài gan.
- Kết quả GGĐVT trong UTTBG vẫn kém khi so với các bệnh gan có thực hiện GGĐVT
- Chỉ định GGĐVT trong UTTBG bị hạn chế do thiếu gan người cho.
- Dễ tái phát sau phẫu thuật, do tế bào ung thư còn sót hoặc có thể phát triển UTTBG mới.
- Gan thường không thể chịu đựng được phẫu thuật lớn

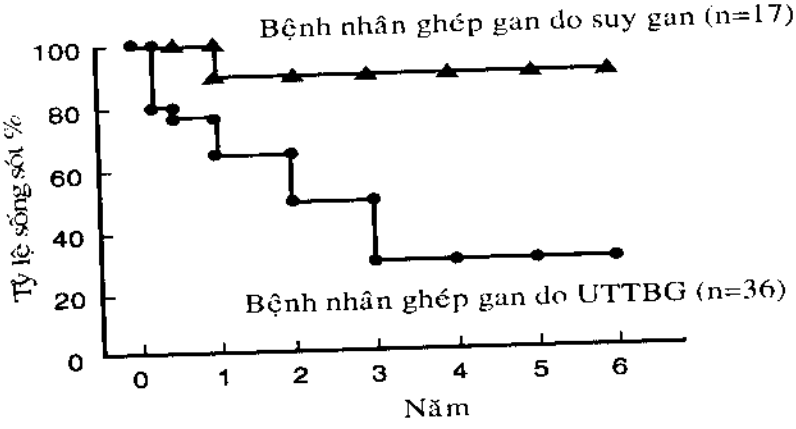
Hiện nay, phẫu thuật chỉ được dùng dưới 40% BN UTTBG ở Nhật. Tiêu chuẩn hiện nay là 40% sống 5 năm sau phẫu thuật, với GGĐVT hoặc cắt bỏ.

6.2.1.1. Ghép gan

Ghép gan đã trở nên phổ biến khắp thế giới sau Hội nghị do Viện Sức khỏe Quốc gia Mỹ (NIH) về ghép gan tổ chức (1994) và việc tăng số lượng GGĐVT thực hiện với UTTBG và các u gan ác tính khác. Tuy nhiên, các kết quả thường kém và tỷ lệ UTTBG trong các bệnh gan khác nhau được thực hiện GGĐVT ở châu Âu giảm dần từ 38% năm 1985 xuống 11% năm 1994. Tuy nhiên, xu hướng hiện nay lại thiên về GGĐVT.

Các nhà phẫu thuật ghép gan thường xếp loại UTTBG vào 3 nhóm để phân tích:

- UTTBG thường hoặc UTTBG đã tiến triển.
- UTTBG tình cờ hoặc UTTBG nhỏ gặp trong gan được lấy ra có bệnh đã tiến triển
- UTTBG xơ phiến mỏng (FL=fibrolamellar), phát triển trong một gan không xơ hóa và có các đặc trưng sinh học khác nhau (tiên lượng thường tốt hơn UTTBG thường).



***Hình 17-2.** Tỷ số sống sót đối với BN nhận mẫu ghép do suy gan và BN nhận mẫu ghép do xơ gan tiến triển chứa các u ác tính nhỏ (Theo Iwatsuki và cs).*

UTTBG tình cờ tương tự với UTTBG nhỏ (dưới 50 cm) thấy trong một gan xơ hóa tiến triển. GGĐVT là chỉ định tốt nhất đối với các BN này vì ít tái phát và có tỷ lệ sống lâu dài (hình 17-2). Nếu thời kỳ chờ đợi GGĐVT quá dài, làm nghẽn động mạch bằng hóa chất có thể được thực hiện nhằm trì hoãn sự tăng trưởng khối u để chờ ghép. Bảng 17-5 nêu ra một vài kết quả GGĐVT đã được thực hiện cho UTTBG. Kết quả của các nghiên cứu thực hiện trước khi có cylosporine khá nghèo nàn, nhưng sau 1980, khi đã có cylosporine và gần đây có FK506, tỷ lệ sống đã được cải thiện. Hai nghiên cứu trong bảng này giải quyết các UTTBG nhỏ trong một gan xơ hóa. Kết quả đáng chú ý với tỷ lệ sống 80% sau 3 năm và 78% sau 4 năm so với cắt bỏ gan có tỷ lệ sống sót từ 6 đến 40% sau 3 năm vì tỷ lệ u gan tái phát khá cao.

Đối với một UTTBG nhỏ thấy trong một gan không xơ hoặc một xơ gan còn bù có thể chịu được phẫu thuật lớn, có 2 sự chọn lựa, GGĐVT và cắt gan. Tuy nhiên, vì thiếu người cho, cắt gan thường được lựa chọn trừ khi vị trí khối u gây khó khăn kỹ thuật. Theo Ywatsuki và cs, so sánh các kết quả của 76 cắt gan và 105 GGĐVT đối với UTTBG, về thực tiễn không có khác biệt trong tỷ lệ sống (hình 17-3). Theo Bismuth và cs, cắt gan và GGĐVT có các kết quả tương tự trong UTTBG tiến triển, nhưng đối với UTTBG nhỏ, sống sót không tái phát tốt hơn với GGĐVT. Sau khi cắt gan, tái phát hoặc xuất hiện UTTBG mới thường gặp vì gan đã ở trong tình trạng

tiền ung thư và thương tổn tái phát cần được điều trị. Thế nên, tái phát sau ghép là do tế bào UTTBG định vị ngoài gan lúc GGĐVT, trong khi tái phát sau cắt gan là do các tế bào ung thư còn dư hoặc tiến triển UTTBG mới. Thuật ngữ tái phát trong trường hợp sau là không thích hợp. Ngược lại, các BN đã nhận GGĐVT sẽ có chức năng gan bình thường, loại trừ khả năng có một UTTBG mới. Trong một nghiên cứu gần đây ở Milan, GGĐVT được thực hiện trong 48 BN xơ gan với một UTTBG nhỏ hơn 5cm hoặc không nhiều hơn 3 UTTBG với mỗi cái nhỏ hơn 3 cm, tỷ lệ sống sót sau 3 năm gần 90%. Các kết quả đáng chú ý như thế có thể do UTTBG được phát hiện sớm, qua một chương trình sàng lọc phát hiện ung thư.

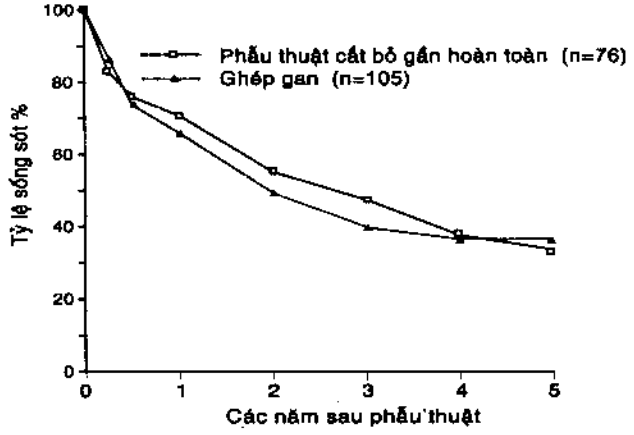
Bảng 17-5. Ghép gan đối với ung thư tế bào gan.

Tham khảo	Số BN	Thời kỳ	Khu vực	Tỷ lệ tái phát (%)	Sống sót 3 năm theo bảo hiểm (%)
Penn	365 (FL = 0)	1968-91	Thế	39	20
O'Grady và cs	50 (FL = 7)	1968-87	giới	65	38 (sống sót 2 năm)
	19 (xơ gan)	1968-87	Anh	69	37
Ringe và cs	52 (xơ gan)	1982-89	Anh	36	20
GGĐVThoff và cs	16 (FL = 1)	1984-89	Đức	56	22 (sống sót 2 năm)
Iwatsuki và cs	95 (FL = 0)	1980-89	Mỹ	43	38
	71 (xơ gan)	1980-89	Mỹ	37	47
Bismuth và cs	60 (xơ gan)	1980-91	Mỹ	23	49
Tan và cs	15 [a] (xơ gan)	1988-91	Pháp	14	63
Romani và cs	19 [b] (xơ gan)	1985-91	Anh	11	80
Mazzaferro và cs	48 (xơ gan)	1991-94	Ý	8	75 (sống sót 4 năm)
	< 5 cm		Ý		

Viết tắt: FL, fibrolamellar carcinoma, xơ phiến mỏng

[a] 6/15 các khối u nhỏ hơn 4 cm

[b] Tất cả UTTBG nhỏ



Hình 17-3. *Tỷ lệ sống sót toàn bộ giữa cắt bỏ gan gần hoàn toàn và ghép gan ở các BN ung thư tế bào gan. (Theo Iwatsuki và cs).*

Cũng có nhiều vấn đề với GGĐVT. Đa số UTTBG trong gan xơ ở các nước đã phát triển thường kết hợp với nhiễm virut VG, nhất là VG C (HCV) nhiều hơn virut VG B (HBV). Gan mới ghép cũng bị nhiễm và tiên lượng ở các BN có HBsAg(+) thường xấu. Vì lý do này, các lá gan của khỉ đầu chó được ghép vào 2 BN HBsAg(+) ở Pittsburgh, nhưng cả 2 đều chết. Một gan mới ở một BN anti-HCV(+) cũng bị nhiễm bởi HCV, nhưng bệnh gan mắc phải ít tàn phá so với nhiễm HBV. Tuy nhiên, tiến triển cơ hội và hậu quả lâu dài của nhiễm HCV trong gan ghép chưa được xác định đầy đủ.

Trong quá khứ, các kết quả của GGĐVT đối với UTTBG tiến triển khá nghèo nàn. Các dự báo tái phát bao gồm: khối u lớn, nhiều khối u, tổn thương cả 2 thùy, xâm lấn các mạch máu lớn (tĩnh mạch cửa hoặc tĩnh mạch gan), không có bao giả, tổn thương hạch bạch huyết và giai đoạn ung thư (TNM) tiến triển. Các cố gắng đang thực hiện nhằm giảm tỷ lệ tái phát bằng liệu pháp hóa học mới được cho trước và sau ghép, nhưng tác dụng lâu dài cần được đánh giá thêm.

Tóm lại, GGĐVT được chỉ định tốt ở các BN có UTTBG nhỏ phát triển trên một gan xơ trước khi di căn ngoài gan. Đối với UTTBG đã tiến triển, các kết quả GGĐVT được so với các kết quả cắt bỏ và do khan hiếm gan người cho, GGĐVT không được khuyến cáo mạnh.

6.2.1.2. Cắt bỏ gan

Một gan bình thường có thể được lấy đi trên 3/4 nhu mô và sẽ trở về kích thước tương đối bình thường nhiều tháng sau. Tuy nhiên, đa số các lá gan UTTBG bị xơ hóa và không thể cắt bỏ rộng hoặc phẫu thuật lớn. Kỹ thuật cắt bỏ đã được cải tiến nhiều trong những năm gần đây. Có một lúc khi phương pháp làm vỡ gan bằng ngón tay của Lin (Lin's finger fracture method) rất được chú ý như một kỹ thuật tốt nhất với thời gian phẫu thuật và mất máu tối thiểu. Sự phát triển các dụng cụ khác nhau đã giảm thiểu sự chảy máu và kỹ thuật siêu âm trong lúc phẫu thuật đã giảm thiểu đáng kể tử vong do phẫu thuật và các tái phát hậu phẫu sớm. Phát triển trong chẩn đoán tiền phẫu với các phương pháp hình ảnh mới và sự đánh giá chính xác dự trữ chức năng gan cũng góp phần cải thiện tỷ lệ sống sót. Bảng 17-6 cho thấy tỷ lệ chết phẫu thuật (chết sau phẫu thuật trong một tháng), ở các BN UTTBG Nhật trong 2 thập kỷ vừa qua. Trước năm 1979, chết do phẫu thuật xảy ra hơn 10% BN. Tử vong giảm dần và tỷ lệ hiện nay độ 2%. Khi Lin dùng phương pháp ngón tay làm vỡ gan UTTBG ở Đài Loan, tỷ lệ sống sót một năm là 35%, hiện nay là 80% và tỷ lệ sống sót 5 năm 46,3% (hình 17-4). Trước 1980, sự cắt bỏ rộng thường được thực hiện do khối u được phát hiện muộn, nhưng kinh nghiệm về suy gan của các phẫu thuật viên trong phẫu thuật cắt bỏ gan rộng đã thay đổi. Hiện nay, họ thích cắt lọc nhỏ nếu

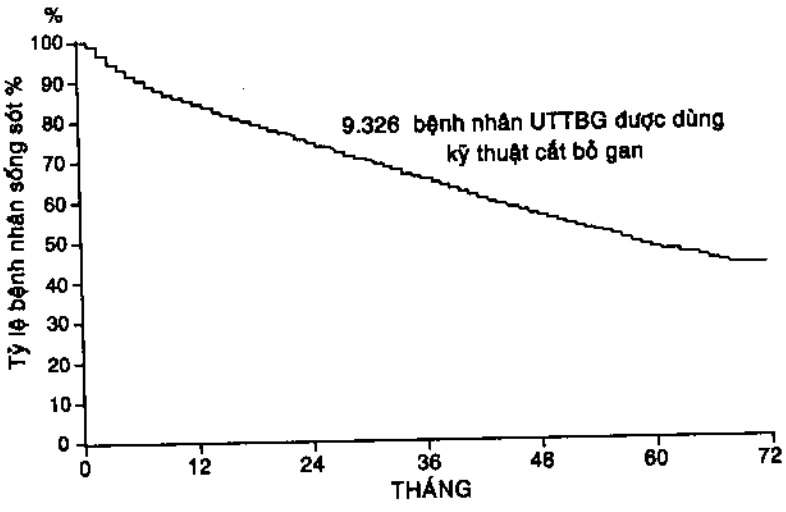
chẩn đoán sớm. Từ năm 1968 đến 1977, 1041 thủ thuật mổ đã thực hiện, 518 (50%) chỉ được thám sát (khối u tìm thấy không thể cắt bỏ), 58 (5,6%) được cắt thùy rộng, 155 (14,9%) được cắt bỏ thùy, 106 (10,4%) được cắt bỏ tiểu thùy và 42 (4,0%) được cắt bỏ một phần tiểu thùy. Từ năm 1990 đến 1991, phẫu thuật 3.636 trường hợp, 124 (3,4%) được cắt bỏ thùy rộng, 542 (14,9%) cắt bỏ thùy, 743 (20,4%) cắt bỏ tiểu thùy, 755 (20,8%) cắt bỏ dưới tiểu thùy và 1.179 (32,4%) cắt bỏ tiểu thùy nhỏ hơn; các thủ thuật mở bụng thám sát chỉ có 6,6%.

Bảng 17-6. Tỷ lệ tử vong phẫu thuật trong cắt bỏ gan theo ở Nhật Bản, 1978-1991[a]

Thời kỳ	Số trường hợp UTTBG	Số cắt đoạn	Tử vong ≤ 1 tháng sau mổ
1968-77	2.411	288	11,9%
1978-79	1.047	279	13,9%
1980-81	2.039	619	4,2%
1982-83	2.054	888	3,9%
1984-85	2.300	1.296	3,4%
1986-87	2.982	1.839	2,3%
1988-89	10.082	2.639	1,9%
1990-91	11.379	3.803	2,7%

[a] Tỷ lệ % tương đối của cắt đoạn không phản ánh tỷ lệ trung bình cả nước vì các đội phẫu thuật nhiều hơn các đội đường tiêu hóa tổng quát tham gia vào nghiên cứu.

Tính khả thi của phương pháp cắt bỏ ở người xơ gan phụ thuộc vào dự trữ của chức năng gan cũng như các yếu tố cơ thể học. Nếu chức năng gan quá kém thì nên chọn phương pháp ghép gan. Đánh giá chức năng gan hiện vẫn còn nhiều khó khăn. Mỗi đội phẫu thuật có phương pháp riêng xác định khả năng phẫu thuật dựa trên cơ sở các xét nghiệm chức năng gan. Sự phân loại của Child là thực tiễn và hữu ích cùng với các xét nghiệm tỷ mỉ như tỷ suất thể ceton động mạch, biến dưỡng lidocain, khả năng thải loại galactose, thải trừ phẩm lục indocyanin, v.v... Các BN nhóm C của phân loại Child không thể chịu đựng ngay cả cắt bỏ hạn chế và cần phải cân nhắc việc GGĐVT hoặc các phương thức điều trị khác. Khi không có xơ gan, có thể cắt bỏ rộng và việc cắt bỏ phải là chọn lựa đầu tiên. Ở các BN có một khối nhỏ gần bề mặt gan và không thể chịu đựng được cắt bỏ, sự cắt bỏ khối u *in situ* trực tiếp cần được thực hiện qua phẫu thuật lạnh, hoặc nhiệt đông với một điện cực làm đông vi sóng. Nhiệt đông trong phẫu thuật có thể kếp hợp với cắt bỏ không hoàn toàn hoặc liệu pháp làm nghẽn hóa học trong động mạch.



Hình 17-4. *Biểu đồ sống sót cho 9.326 BN bị UTTBG trải qua cắt đoạn tại các bệnh viện thành viên của Nhóm Nghiên Cứu UTTBG Nhật bản, 1988-1993.*

Tỷ lệ sống sót toàn bộ sau cắt bỏ UTTBG tương tự với tỷ lệ sống sót sau ghép. Tử vong sau mổ đa số là do ung thư tái phát. Không có cách nào khác để ngăn ngừa tái phát tuy dự phòng hóa học gần đây được đề nghị bởi Muto và cs nhưng chưa được ủng hộ do tử vong cao. Tại Bệnh viện Trung tâm Ung thư Quốc gia Tokyo, tỷ lệ tái phát trong 216 BN được dùng thủ thuật cắt bỏ một phần gan là 68,4% sau 3 năm và 73,8% sau 5 năm, và 80,3% sau 7 năm. Vì siêu âm trong lúc phẫu thuật luôn được thực hiện, khó bỏ sót một thương tổn UTTBG trong lúc mổ. Có thể tái phát sớm ở bờ cắt hoặc ở một nơi khác xa hơn và vì thế liệu pháp bổ sung dự phòng được khuyến cáo. Trước đây không có khám siêu âm, hơn 50% các trường hợp cắt đoạn bị tái phát trong vòng một năm. Tái phát muộn đa số là do xuất hiện UTTBG mới hơn là do phát triển từ các tế bào ung thư bị bỏ quên. Cả hai đều được gọi là tái phát. Nếu tổn thương tái phát bao gồm các tế bào đã biệt hóa đầy đủ qua sinh thiết, những nhà gan học Nhật Bản hiện nay xem đây như là một tổn thương phát triển mới, trong khi các tổn thương tái phát biệt hóa kém được cho là có nguồn gốc từ các tế bào ung thư bị bỏ sót.

Các tổn thương tái phát thường nhiều và phải được điều trị bằng cắt đoạn hoặc làm nghẽn động mạch hóa học. Theo Arii và cs, các yếu tố tiên lượng về tái phát trong gan là kích cỡ khối u, thâm nhiễm tế bào ung thư trong bao xơ, xâm lấn khoảng cửa và các giai đoạn của khối u. Các nỗ lực được thực hiện trước đây tại Nhật Bản nhằm giảm tái phát bằng việc làm nghẽn động mạch tiền phẫu dựa trên giả định điều đó có thể ngăn ngừa tế bào ung thư lan rộng trong lúc phẫu thuật, nhưng kỹ thuật đó không triển vọng. Theo Adachi và cs, hoại tử u từng phần gây ra

do làm nghẽn mạch tạo điều kiện dễ dàng cho tái phát hậu phẫu, vì các tế bào khối u còn lại ít gắn chặt và dễ dàng đi vào dòng máu trong lúc cắt đoạn.

6.2.2. Phương pháp làm nghẽn mạch, nghẽn mạch hóa học và liệu pháp hóa học mục tiêu

Vì mô UTTBG, ngoại trừ bao, phụ thuộc vào nguồn cung cấp máu động mạch, các tế bào ung thư chết khi dòng máu động mạch bị ngưng. Phương pháp làm nghẽn động mạch qua thông (TAE =transcatheter arterial embolization), phát triển nhằm xử trí chảy máu động mạch, được áp dụng lần đầu trong điều trị ung thư thận ở Mỹ.

Yamada và cs nổi tiếng vì áp dụng kỹ thuật này trong điều trị UTTBG. Họ thông động mạch gan và tiêm 1 đến 2 mm các hạt Gelfoam vào trong động mạch nuôi khối u. Sau khi làm nghẽn mạch, UTTBG bị nghẽn hoại tử với bằng chứng echo khối u thay đổi đột ngột và khi quét bằng CT thấy có hình thành hơi bên trong khối u. Kỹ thuật này sớm được thừa nhận ở các trung tâm Nhật Bản và sau đó ở các nước khác. Phương pháp làm nghẽn động mạch chống chỉ định ở các BN có huyết khối trong khối u trong tĩnh mạch cửa chính, vì cắt đứt lưu lượng máu động mạch làm mất toàn bộ nguồn cung cấp máu và do đó làm cho nhu mô gan hoại tử thiếu máu.

Cũng nguyên tắc như thế, Ohnishi và cs dùng các hạt mitomycin C kết nang nhỏ (0,2 mm), thay vì Gelfoam, để làm nghẽn mạch. Sau đó, các tác giả khác kết hợp liệu pháp hóa học trong động mạch với phương pháp nghẽn mạch bằng hạt Gelfoam, lúc đầu dùng liệu pháp hóa học, sau đó làm nghẽn. Phương pháp này thường được gọi là phương pháp nghẽn mạch hóa học nội động mạch (TACE).

Konno và cs, phát triển độc lập một kỹ thuật dùng môi trường phản quang dầu. Lipiodol, hỗn hợp với một chất liên hợp bị thu hút bởi chất mỡ gọi là SMANCS (neocarginostatin styrene maleic acid) được tiêm vào động mạch gan. Ý tưởng dựa vào các quan sát thấy lipiodol, nếu được tiêm vào động mạch gan, sẽ bị bắt giữ bởi UTTBG và tồn tại ở đó một khoảng thời gian dài, trong khi nhu mô gan thải Lipiodol nhanh chóng. Vì SMANCS không có trên thị trường, các cố gắng nhằm sản xuất một nhũ tương lipiodol mịn và một chất gây độc tế bào trong một dung dịch lỏng. Kanematsu và cs dùng cho mục đích này một chất chụp X quang động mạch có trọng lượng riêng tương tự như Lipiodol, họ gọi đây là phương thức Lipiodol hóa.

Bản thân thông động mạch đã được cải tiến, từ khi Seldinger lần đầu phát triển kỹ thuật và các động mạch từng phần hiện nay có thể được đưa vào siêu chọn lọc với việc dùng một ống thông 3F nhỏ hơn. Gây tắc một động mạch lớn sau đó chẳng bao lâu có sự hình thành các động mạch bàng hệ và tổn thương UTTBG đích lấy lại nguồn cung cấp máu. Hơn nữa, các hạt làm nghẽn lan sang mô không ung thư gây thiếu máu và do đó làm tổn thương chức năng gan. Bởi thế, người ta muốn thông một động mạch càng nhỏ càng tốt. Lipiodol là một chế phẩm dầu anh túc tác động

như một tác nhân làm nghẽn vi thể, cắt đứt dòng máu mao mạch bên trong mô ung thư. Tuy nhiên, Takayasu và cs không thể chứng minh bất cứ một tác dụng điều trị nào khi Lipiodol được tiêm kèm theo một tác nhân chống ung thư. Bởi thế, thực hành hiện nay tại đa số các trung tâm gan là dùng Lipiodol hỗn hợp với một tác nhân chống ung thư được tiêm vào động mạch, sau đó tiêm các hạt keo.

Một số hạt làm nghẽn mạch khác được dùng, nhưng Gelfoam vẫn còn là chất thông dụng nhất tại Nhật Bản. Kiểu làm nghẽn mạch hóa học này thường được gọi là phương pháp nghẽn mạch hóa học bằng dầu qua ống thông (TOCE) hoặc Lipiodol TAE (LTAE). Ở các BN xơ gan tiến triển trong đó việc làm nghẽn mạch bằng hạt có thể làm xấu thêm chức năng gan đang bị bệnh. Làm nghẽn mạch hóa học bằng Lipiodol mà không có các hạt có thể được dùng với vài tác dụng. Vì khẩu kính của ống thông đã được giảm xuống, kích cỡ của các hạt làm nghẽn cũng được giảm xuống còn khoảng 0,5mm. Bột keo, được dùng trong những ngày đầu và gây nhiều biến chứng, nên không được dùng. Nacamura và cs thấy một số lượng thừa của Lipiodol được tiêm vào các động mạch phân thùy hoặc dưới phân thùy lan qua khối u và vào các nhánh của tĩnh mạch cửa, tác động như một sự nghẽn mạch kép (động mạch và tĩnh mạch cửa). Sự làm nghẽn mạch kép cũng có thể thực hiện được bằng thông có chọn lọc nhánh tĩnh mạch cửa và làm nghẽn nó sau khi dùng TAE.

Thuyên tắc hóa dầu đã được thực hiện tại BV Chợ Rẫy trên 34 BN UTTBG nguyên phát, được tiêm với hỗn hợp lipiodol 10-20 ml, doxorubicin 20-60 mg và mitomycine 5-15 mg vào động mạch nuôi u sau đó thuyên tắc bằng spongel. Kết quả: không còn tổn thương tăng sinh mạch máu gan là 53%, di căn xa sau 1 năm là 44%, tỷ lệ sống sau 1 năm là 53%, 4 BN có khối u nhỏ hơn 5 cm có tỷ lệ sống trên 1 năm là 100%. Hai trường hợp suy gan cấp không hồi phục.

Làm nghẽn hóa học động mạch là thủ thuật hay thực hiện nhất ở các BN có UTTBG không cắt bỏ được. Nghẽn mạch hóa học khi thành công, gây thuyên giảm hơn 50% kích cỡ khối u và mức độ α-fetoprotein. Các kết quả của nghẽn mạch hóa học khá thay đổi, có lẽ do các khác biệt trong chọn lọc BN (bảng 17-7). Các nghiên cứu trên BN có bệnh tiến triển và xơ gan nặng cho thấy tỷ lệ sống sót thấp hơn ở các BN có bệnh ít tiến triển và xơ gan nhẹ. Trong đa số nghiên cứu, tỷ lệ sống một năm lớn hơn 50%. Trong nghiên cứu của Okuda và cs, năm 1985, tỷ lệ sống sót một năm trong 693 BN được điều trị không phẫu thuật là 17,8%. Một nghiên cứu gồm 462 BN (180 có UTTBG tái phát) được điều trị bằng TAE và nghẽn mạch hóa học tại Bệnh viện trung tâm ung thư quốc gia Tokyo, tỷ lệ sống một năm là 68%; 3 năm là 28%; 5 năm là 12% và 10 năm 2% (hình 17-5). Tại Pháp, Bronowicki so sánh GGĐVT, cắt bỏ và TOCE ở các BN ung thư giai đoạn 1 theo Okuda, và thấy không có khác biệt trong tỷ lệ sống sót; tỷ lệ tái phát thấp hơn so với phương pháp TOCE.

Trong khi liệu pháp chích etanol không có chỉ định trong UTTBG lớn hoặc nhiều UTTBG, làm nghẽn mạch hóa học động mạch có thể được dùng cho bất cứ kiểu UTTBG nào không phụ thuộc kích cỡ, vị trí, và số lượng khối u.

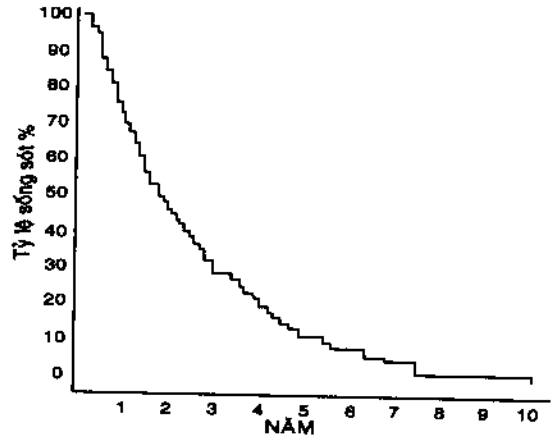
Bảng 17-7. Tỷ lệ sống sót theo thống kê bảo hiểm sau làm nghẽn mạch hóa học theo phương pháp và giai đoạn, độ xơ gan.

Tham khảo	Năm	Phương pháp	N	Giai đoạn Okuda			Bảng điểm Child			% sống sót theo bảo hiểm	
				I	II	III	A	B	C	1 năm	2 năm	3 năm
Kanematsu và cs	1989	Lip	149	41	55	4				56	29	17
Yamashita và cs	1991	Lip	135	61	22	17	55	29	16	38	18	
Stefanni và cs	1995	Lip	31	27	60	13	33	50	17	42	0	0
Ichihara và cs	1989	MS	62	40	29	31				54	25	19
Audiscio và cs	1990	Lip	30	47	53	0	60	40	0	36	36	
Peiletier và cs	1990	TACE	21	29	52	19				24		
Yamashita và cs	1991	TACE	58	74	26	0	60	33	7	71	55	15
Gunji và cs	1992	TOCE	22				78	14	8	100	100	
Shijo và cs	1992	TOCE	110	34	66	0				80	50	39
Bismuth và cs	1992	TOCE	291	52	41	7	60	33	7	61	37	
Kawai và cs	1994	TOCE	403	68	32	0	74	24	2	72	50	
Bronowickivà cs	1994	TOCE	127	39	48	13	57	29	14	64	38	27
Mondazzi và cs	1994	TOCE	84	86	14	0	54	46	0	61	31	
Stefanini và cs	1995	TOCE	69	45	49	6	46	45	9	73	44	10
Trinchet và cs	1995	TOCE	50	94	6	0	100	0	0	62	38	

Viết tắt: Lip=lipiodol hóa; MS, microsphere=vi cầu; TACE, transcatheter chemoembolization= Nghẽn mạch hóa học qua thông; TOCE, transcatheter oily chemoembolization= Nghẽn mạch hóa học bằng dầu qua thông.

Người ta có thể dùng mục tiêu kép ở các BN có một UTTBG nhỏ. Lipiodol không chỉ nhằm chẩn đoán mà cũng điều trị bệnh. Đối với các tổn thương tái phát sau phẫu thuật, không có chỉ định cắt bỏ, làm nghẽn mạch hóa học động mạch có thể là biện pháp duy nhất. TAE cũng có nhiều trở ngại, không dùng trong tổn thương UTTBG sớm chưa có tân sinh động mạch. Vài UTTBG có xâm nhập ngoài bao và các tế bào ung thư ngoài bao nhận máu khoảng cửa, TAE không giết các tế bào này. Nhiều BN có các tác dụng phụ sau thủ thuật gồm: sốt, lạnh run, buồn nôn, ói mửa và đau bụng, gọi chung là hội chứng sau nghẽn mạch; huyết áp có thể giảm đột ngột;

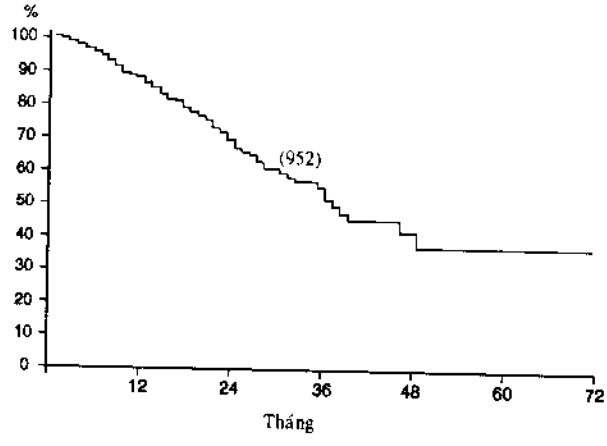
các hạt nhỏ được tiêm có thể vào động mạch túi mật nếu ống thông không được siêu chọn lọc, gây viêm túi mật cấp hoặc viêm túi mật hoại tử.



Hình 17-5. *Đồ thị sống sót ở 462 BN bị UTTBG không thể cắt đoạn được điều trị bằng phương pháp nghẽn động mạch (gồm cả TOCE) (1983-1977) tại Bệnh viện Trung tâm Ung thư Tokyo. Tỷ lệ sống sót 1 năm là 68%, 3 năm là 28% và 5 năm là 12%.*

Phương pháp nghẽn mạch ngày càng phổ biến, thông báo về các biến chứng cũng tăng lên. Các cơ quan không là mục tiêu bị nghẽn mạch gồm lách, ruột non (do một động mạch gan lạc chỗ), tuyến tụy và tuyến thượng thận với UTTBG ở gần bề mặt gan, TAE có thể gây hoại tử và sau đó làm vỡ. Hoại tử ống dẫn mật, nghẽn động mạch phổi cũng được báo cáo.

Một vài phẫu thuật viên thực hiện TAE trước khi cắt bỏ với mong muốn là khối u sẽ giảm kích cỡ và cắt bỏ sẽ dễ dàng hơn. Các kết quả cho thấy không có tác dụng lợi ích nào.



Hình 17-6. *Sơ đồ thể hiện sự sống sót ở 952 BN UTTBG được điều trị với PEI tại một bệnh viện thành viên của Nhóm Nghiên cứu UTTBG Nhật Bản, 1988-1993.*

6.2.3. Liệu pháp tiêm ethanol vào khối u

Siêu âm bụng ngày càng tiến bộ và việc phát hiện các UTTBG nhỏ trở thành một thực tế. Sau khi ra đời chiến lược phát hiện UTTBG sớm với siêu âm bụng và đo AFP đều đặn ở các BN có bệnh gan virut tiến triển (xơ gan và VG mạn nặng), đã làm tăng phát hiện các UTTBG nhỏ. Dùng một máy biến năng siêu âm thời gian thực thiết kế cho chọc dò, hiện nay máy có thể đưa kim vào một khối u trong gan chính xác. Okuda và cs lần đầu tiên phát triển kỹ thuật tiêm etanol tuyệt đối vào một UTTBG nhỏ năm 1983 và kỹ thuật này đã sớm được chấp nhận. Trong phương pháp này, một cây kim Chiba (cỡ 22, 20 cm) được đưa vào khối u hoặc vùng rìa khối u qua một đầu dò chọc dò; etanol tuyệt đối được tiêm thật chậm trong lúc cây kim được rút ra thật chậm để gây hoại tử lan tỏa bên trong và quanh khối u. Thủ thuật này được lặp lại 2 lần một tuần cho đến khi kiểu echo ban đầu hoàn toàn được thay thế bởi một kiểu echo khác, tồn tại một ít lâu trong khối u cũng như trong vùng xung quanh. Lượng etanol tiêm mỗi lần là nhiều ml. Theo Okuda và cs, việc tiêm etanol qua da (PEI) bị hạn chế ở các khối u nhỏ hơn 3cm với số lượng dưới 3 cái. Tuy vài nhà nghiên cứu mở rộng chỉ định đối với các khối u lớn hơn, đa số nghiên cứu đã cho thấy kích cỡ khối u xác định tính hiệu quả. Đầu kim được biến đổi theo một kiểu mà etanol được tiêm sẽ lan tỏa theo nhiều hướng khá hiệu quả.

Trong phân tích ban đầu của Okuda, sự so sánh được thực hiện giữa 22 BN có một UTTBG cùng cỡ mà vì nhiều lý do khác nhau không được điều trị và cùng số lượng BN được điều trị với PEI: phân tích cho thấy hiệu quả không ngang nhau. Nhóm nghiên cứu ở Ý so sánh việc cắt bỏ (n=120), PEI (n=155), không điều trị (n=116) và kết luận rằng PEI cải thiện khá ý nghĩa tỷ lệ sống sót của các BN có UTTBG đơn thuần kết hợp với xơ gan được phân loại Child A hoặc Child B so với các BN không điều trị. Phương thức điều trị này chỉ định tốt nhất ở các BN xơ gan tiến triển có một UTTBG nhỏ hoặc rất ít UTTBG nhỏ và không thể chịu đựng được phẫu thuật cắt bỏ. Các kết quả toàn bộ được biên dịch bởi Nhóm Nghiên cứu UTTBG của Nhật Bản và được so sánh với các kết quả với phẫu thuật cắt gan theo hình 17-6. Ở bệnh viện viện đại học Chiba, tỷ lệ sống sót một năm trong 147 BN là 96,3%; trong 3 năm là 62,5%; trong 5 năm là 40,7%. Tỷ lệ sống sót sau một năm của phẫu thuật cắt bỏ dưới tỷ lệ của PEI do một số chết sau phẫu thuật sớm nhưng trong các kết quả muộn sau 5 năm, phẫu thuật cắt bỏ có vẻ tốt hơn. Tiên lượng của các BN được điều trị PEI tương quan với độ hoặc giai đoạn Child của bệnh. Trong một nghiên cứu đa trung tâm ở Ý trên 207 trường hợp, tỷ lệ sống sót sau 3 năm là 76% trong các trường hợp Child A, trong khi không có trường hợp nào của các BN Child C sống quá 2 năm. Trong nghiên cứu Chiba, tỷ lệ sống sót 3 năm là 75,8% ở các BN giai đoạn 1 và 15,8% ở các BN giai đoạn 3. Tỷ lệ tái phát cao sau PEI và ở Chiba tỷ lệ là 60% sau 2 năm và 90% sau 5 năm. Để xử trí các tổn thương tái phát, PEI hoặc

nghẽn hóa học có thể được thực hiện. Nếu điều trị phẫu thuật được chỉ định, phẫu thuật phải được chọn lựa vì một nghiên cứu thuần tập đối chứng đầy đủ ở Tây Ban Nha chứng minh ghép gan và phẫu thuật cắt bỏ hơn hẳn PEI; trong một hệ thực nghiệm ở chuột, PEI làm tăng các di căn ở phổi.

Livraghi và cs dùng PEI điều trị 4 BN bị huyết tắc tĩnh mạch cửa và thu được các kết quả đáng khích lệ nhưng nghiên cứu này phải chờ các tác giả khác xác định. Các tác giả này gợi ý dùng PEI xử trí cho cả các hạt tăng sinh u tuyến, thường được xem là tiền ung thư. Tác dụng của PEI có thể được đánh giá qua CT và hình ảnh cộng hưởng từ (MRI). Các thương tổn hoại tử hoàn toàn không còn được tăng cường sau một gia tăng tương phản cả khối và cho thấy cường độ thấp trên các hình ảnh echo quay chất nặng T2 (T2-weighted spin echo images).

Khuynh hướng hiện nay ở Nhật là kếp hợp PEI với TAE (TAE sau đó là PEI) như một điều trị đa phương pháp, nhưng chưa phải là một nghiên cứu tương lai có đối chứng đầy đủ.

Các biến chứng thường không nghiêm trọng. Đau tại chỗ thay đổi từ nhẹ đến nặng xảy ra trong đa số BN; sốt khoảng 38^0 C trong khoảng phân nửa BN và kéo dài đến 3 ngày; nếu một lượng thừa etanol được tiêm vào, etanol sẽ tràn vào tĩnh mạch cửa, tạo huyết khối. ALT tăng nhẹ có thể thấy trong khoảng 15%. Sau khi xác định PEI là một phương thức điều trị chủ yếu, một số việc tiêm qua da dưới hướng dẫn của siêu âm tương tự hoặc các liệu pháp thêm vào đã được phát triển trên cơ sở phá hủy khối u tại chỗ như tiêm axit axêtic, nhiệt đông, làm tăng nhiệt độ tại chỗ bằng laser... Hiệu quả của mỗi liệu pháp mới cần được đánh giá đầy đủ.

6.2.4. Liệu pháp hóa học

Liệu pháp hóa học đối với UTTBG có giá trị hạn chế vì chỉ một phần nhỏ BN được thuyên giảm và liệu pháp hóa học thường có độc tính vượt quá lợi ích của nó. Các tác nhân chống ung thư được tiêm vào trong động mạch hoặc theo đường toàn thân. Với lý do cơ bản là muốn một nồng độ của tác nhân tiếp cận mô ung thư cao hơn, liệu pháp hóa học trong động mạch, hoặc do truyền tĩnh mạch hoặc dùng liều duy nhất được ủng hộ bởi nhiều nhà nghiên cứu, nhưng không cho thấy tăng tỷ lệ sống sót rõ ràng so với liệu pháp hóa học toàn thân. Vài nhà ung thư học bắt đầu dùng liên tục hoặc gián đoạn các tác nhân gây độc tế bào trong động mạch qua một bơm hoặc truyền cấy dưới da. Hiệu quả chưa được đánh giá đầy đủ.

Bảng 17-8 cho thấy các kết quả của các nghiên cứu đầu tiên và bảng 17-9 gồm các kết quả nghiên cứu giai đoạn II có đối chứng gần đây về liệu pháp hóa học toàn thân của UTTBG. Trong các thử nghiệm gần đây, chỉ các BN UTTBG trong đó điều trị chuẩn (hiện nay là phẫu thuật, tiêm etanol và TAE) bị chống chỉ định, được cân nhắc như là các ứng viên cho liệu pháp hóa học. Các hiệu quả thường được đánh giá

chủ yếu với CT và siêu âm theơ hướng dẫn của Tổ chức Y tế Thế giới. Xác định hàng loạt các mức độ AFP huyết thanh là một chỉ thị tốt đối với tác dụng chống ung thư, nhưng các thay đổi AFP sau liệu pháp hóa học không luôn cho thấy thuyên giảm khối u, đặc biệt ở các BN không có AFP cao. Tất cả các nghiên cứu này đã chứng tỏ không có thuốc nào hiệu nghiệm đối với UTTBG, tuy tỷ lệ đáp ứng với mitoxantrone và α-interferon tương đối cao (lần lượt là 23%, 4/17 và 31%, 11/35). Một báo cáo ban đầu của Olweny và cs về một tỷ lệ đáp ứng 44% với doxorubicin ở BN Uganda không kiểm chứng được bởi các thử nghiệm khác. Các cố gắng tăng hoạt tính trị liệu của fluorouracil qua điều biến sinh hóa học với leucovovin hoặc interferon không đạt tỷ lệ đáp ứng cao và có nhiều độc tính.

Không có báo cáo nào cho thấy ích lợi lâm sàng rõ ràng trong việc dùng phối hợp nhiều thuốc điều trị UTTBG.

Bảng 17-8. Liệu pháp hóa học toàn thân và các tỷ lệ đáp ứng được báo cáo trước 1987.

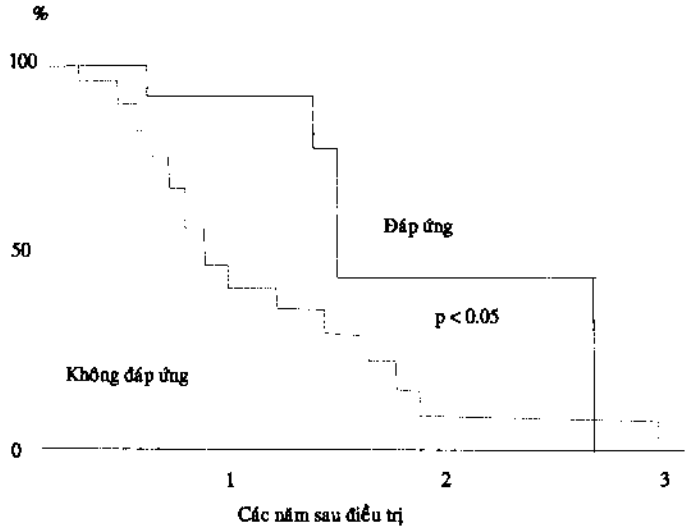
Tác nhân	Tham khảo	Năm	Tỷ lệ đáp ứng
Doxorubicin (ADM)	Olweny và cs	1980	44
	Falkson và cs	1984	12
	Chlebowski và cs	1984	12
Epirubicin	Hochster và cs	1985	17
Mitozantrone	Dunk và cs	1985	27
	Falkson và Coetzer	1987	9
Cisplatin	Melia và cs	1981	8
Neocarzinostatin	Falkson và cs	1984	6
VP-16	Cavalli và cs	1981	8
ADM+5-fluorouracil (5-FU)	Baker và cs	1977	13
ADM + streptozotocin	Morstyn và cs	1982	9
ADM+dichloromethotrexate	Olweny và cs	1980	11
ADM + 5-FU + MeCCNU	Falkson và Coetzer	1987	19

Theo nguyên tắc chung trong liệu pháp hóa học, một liệu pháp hóa học kếp hợp nhiều thuốc phải bao gồm một tác nhân chống ung thư có hiệu quả chắc chắn trong điều trị UTTBG. Lý do vì tính trơ của UTTBG đối với liệu pháp hóa học bao gồm:

- Tính không đồng nhất của khối u.
- Liều lượng tác nhân chống ung thư không đủ.
- Sự quá biểu hiện cảm ứng của gen đề kháng nhiều thuốc.
- Đề kháng bẩm sinh bởi một cơ chế chưa rõ.

Hình 17-7 cho thấy biểu đồ sống sót đối với 8 người đáp ứng và 24 người không đáp ứng với liệu pháp hóa học toàn thân trong một nghiên cứu tại Bệnh viện trung tâm ung thư quốc gia tại Tokyo. Đối với một người đáp ứng, 3 người không đáp ứng phù hợp theo tuổi, giới và nhiều yếu tố tiên lượng khác nhau được chọn lọc, cũng

như có một khác biệt giữa hai nhóm này. Những người đáp ứng được thấy sống sót dài hơn những người không đáp ứng bắt cặp (p <0,05, thời gian sống sót trung vị: 17,5 so với 9,7 tháng). Các kết quả cho thấy tiên lượng của BN UTTBG có thể cải thiện nếu thuốc hoặc chế độ điều trị mới có tỷ lệ đáp ứng cao.



Hình 17-7. *Các biểu đồ sống sót ở những người đáp ứng và không đáp ứng ở các BN UTTBG được điều trị bằng liệu pháp hóa học toàn thân. Có một khác biệt có ý nghĩa giữa 2 nhóm.*

Tiên lượng của BN UTTBG điều trị bằng liệu pháp hóa học toàn thân thường xấu. Trong một nghiên cứu, 82 BN UTTBG chỉ nhận liệu pháp hóa học toàn thân, sự sống sót trung vị chỉ là 2,5 tháng; trong một nghiên cứu gần đây tại Bệnh viện trung tâm ung thư quốc gia Tokyo với 71 BN, sống sót trung vị là 5,6 tháng và tỷ lệ sống sót sau 1 và 2 năm lần lượt là 27% và 8%.

Bảng 17-9. Các thử nghiệm liệu pháp hóa học toàn thân lâm sàng đối với UTTBG được báo cáo trong 4 năm vừa qua.

Chế độ	Tham khảo	Tỷ lệ đáp ứng (%)
Fluorouracil/leucovorin	Van Eden và cs	10 (3/29)
Fluorouracil/α-interferon	Patt và cs	18 (5/28)
Doxorubicin/α-interferon	Kardinal và cs	3 (1/31)
4'-Epidoxorubicin//α-interferon	Bokemeyer và cs	3 (1/31)
Mitoxantrone	Colleoni và cs	23 (4/17)
Mitoxantrone/β-interferon	Colleoni và cs	24 (9/38)
Ifosfamide	Lin và cs	0 (0/15)
Vindesine	Falkson, Burger	0 (0/14)
Etoposide	Wierzbicki và cs	0 (0/15)
Cisplatin	Okada và cs	15 (4/26)
Interferon-α	Lai và cs	31 (11/35)

Đã có nhiều cố gắng xác định các yếu tố tiên lượng và phát triển một bảng kê tiên lượng (index). Trong phân tích đa biến số của Okuda và cs dùng phép tính may rủi tỷ lệ Cox thấy tình trạng thực hiện (performance) từ 0 đến 1 ($p < 0,001$), không có huyết khối khối u trong thân tĩnh mạch cửa ($p < 0,00031$) và tuổi ít hơn 60 ($p < 0,036$) là các yếu tố thuận lợi độc lập. Một bảng kê tiên lượng được tính từ 3 yếu tố này dùng phương trình sau đây:= 1.8109 X (0 = tình trạng thực hiện của 0-1 và 1= tình trạng thực hiện của 2-3) + 0, 9322 x (0 = không có huyết khối khối u và 1= hiện diện) + 0,6996 x (0 = tuổi < 60 và 1= tuổi > 60).

BN có bảng kê nhỏ hơn 0,8 có một đáp ứng tốt 17%, những người có bảng kê lớn hơn 2 có đáp ứng 0% và 4% có bảng kê trung bình. Thế nên, một bảng kê tiên lượng có thể hữu ích trong dự đoán chính xác thời kỳ sống sót và trong thiết kế thử nghiệm điều trị tương lai ở các BN UTTBG tiến triển. Trong phân tích của Okuda và cs, 62 BN trong giai đoạn III không được điều trị đặc hiệu và 43 BN cùng giai đoạn dùng liệu pháp hóa học cho thấy khác biệt có ý nghĩa trong biểu đồ sống sót. Tại Nam Mỹ, các thầy thuốc không điều trị các BN da đen có UTTBG tiến triển vì tin rằng điều trị làm xấu đi chất lượng sống. Có lẽ đối với liệu pháp hóa học, cần phải chọn lọc những người có một bảng kê tiên lượng tốt hơn.

Độc tính của liệu pháp hóa học, thay đổi theo kiểu tác nhân chống ung thư được dùng, bao gồm ức chế tủy xương, độc tính trên đường tiêu hóa, thận và da. Nếu có một độc tính không thể chấp nhận, liệu pháp cần phải ngưng hoặc hủy bỏ. Ở BN xơ gan, liệu pháp hóa học cần thực hiện với sự thận trọng, vì BN có khuynh hướng nhiễm độc nặng nề hơn các BN không xơ gan với thời biểu của liệu pháp hóa học tương tự. Các thử nghiệm ngẫu nhiên tương lai với số lượng lớn BN so sánh liệu pháp hóa học toàn thân với các liệu pháp giảm nhẹ khác hoặc chăm sóc nâng đỡ tốt nhất đối với UTTBG là cần thiết.

6.2.5. Liệu pháp phóng xạ

Hiện nay, liệu pháp phóng xạ đối với UTTBG đã gần như bị hủy bỏ vì các nghiên cứu về liệu pháp phóng xạ quy ước trước đây đối với UTTBG cho các kết quả đáng thất vọng. Người ta cho là để giết tế bào UTTBG phải dùng liều cao hơn 50 Gy. Gần đây, Aoki và cs nghiên cứu các gan tử thiết có UTTBG được điều trị phóng xạ và kết luận liều 50-70 Gy không gây hoại tử toàn bộ mô khối u. Các tỷ lệ đáp ứng lâm sàng thay đổi từ 12,5% đến 55%. Các kết quả riêng của Okuda và cs trong 39 trường hợp cho thấy hơn 25% thoái hóa khối u trong 90% các UTTBG nhỏ. Tuy nhiên, 8 (80%) trong 10 trường hợp tử vong ở BN có UTTBG nhỏ hơn 5 cm là do suy gan, có lẽ do phóng xạ gây ra. Phóng xạ hơn 50 Gy gây ứ máu gan đáng kể, teo tế bào gan trung tâm tiểu thùy, tăng sinh nội mạc, xơ hóa và làm hẹp tĩnh mạch trung tâm và tĩnh mạch dưới tiểu thùy. Các thay đổi ban đầu được gọi là VG do phóng xạ và sau đó teo gan, rối loạn tổ chức tiểu thùy và xơ hóa khoảng cửa. Tuy

Ingold và cs cho là gan có thể chịu đựng liều phóng xạ 30-50 Gy, điều này chỉ đúng với gan bình thường hoặc tổn thương tối thiểu.Trong khi khối u thoái hóa chậm, gan cũng bị teo ở vùng nhiễm xạ. Các tế bào Kupffer mất khả năng thực bào và cuối cùng BN phát triển suy gan. Chỉ có các BN Child A có thể chịu đựng các liều phóng xạ cần thiết. Nếu phần bụng trên bị chiếu xạ, loét dạ dày phát triển nhanh, khó lành.

Một số cố gắng đã được thực hiện để dùng phóng xạ cho việc bức xạ bên trong nhưng không thành công. Houle và cs dùng các vi cầu thủy tinh Yttrium-90 (Yttrium-90 glass microspheres) trong động mạch ở các BN UTTBG, nhưng sự rẽ dòng ngoài gan là giới hạn chủ yếu cho liệu pháp này. Các kháng thể iot đồng vị phóng xạ (^{131}I) đối với AFP và ferritin đã được dùng, nhưng nếu trị liệu ban đầu không làm thoái hóa khối u hoàn toàn, điều trị cần được lập lại. BN phát triển các kháng thể đối với γ-globulin loài vật được dùng và sự sản xuất kháng thể sau đó cần một loài vật khác. Raoul và nhóm nghiên cứu Pháp dùng Lipiodol đánh dấu với ^{131}I và dùng nó trong nghẽn mạch hóa học với một tỷ lệ đáp ứng 40%.

Với tiến bộ vật lý nguyên tử, bức xạ hạt nặng có thể dùng được trên lâm sàng. Chùm proton có một phân bố chùm độc đáo gọi là đỉnh Bragg, một lượng bức xạ lớn có thể tập trung vào vết thương và không ảnh hưởng gì đến các mô xa mục tiêu. Phơi nhiễm da cũng tối thiểu. Phân bố chùm tia cho phép bức xạ proton vào một gan bị xơ. Matsuzaki và cs chiếu bức xạ 32 tổn thương UTTBG không thể cắt bỏ được với chùm tia proton tại trung tâm nghiên cứu proton thuộc đại học Tsukuba. Một tổng liều lên đến 87 Gy, mỗi lần điều trị có thể từ 3 đến 4 Gy. Sau một năm, khối u giảm kích cỡ trong 92% và khi bức xạ kết hợp với hóa trị liệu có mục tiêu là Lipiodol, 100% khối u cho thấy giảm kích thước; 8/9 khối u nhỏ biến mất trong một năm. Bắn phá tổn thương gan với các hạt ion hóa lớn như các nguyên tử cacbon và neon hiện nay là có khả năng, nhưng các bức xạ hạt nặng có bất tiện là giá thành cao không thể xây dựng máy gia tốc đồng bộ. Viện Y học Phóng xạ Nhật ở Chiba là khoa duy nhất có thể thực hiện được phóng xạ hạt nặng. Cacbon có đỉnh Bragg tốt nhất và đang được dùng. Kiểu liệu pháp phóng xạ này không phải là một liệu pháp dễ sử dụng trong tương lai.

6.2.6. Liệu pháp miễn dịch tế bào

Việc sử dụng interferon trong điều trị có thể được xem như một liệu pháp miễn dịch. Với sự phát triển **interleukin-2 tái tổ hợp (rIL-2)**, sự dùng toàn thân các **tế bào giết hoạt hóa lymphokine (LAK)** tự thân đã trở nên có khả năng. Các tế bào LAK có thể phân giải các tế bào UTTBG người. Okuno và cs lần đầu thực hiện liệu pháp miễn dịch tế bào dùng các tế bào LAK sinh từ lách tự thân ở một BN có UTTBG tiến triển. Các mức AFP huyết thanh giảm đáng kể sau khi dùng 2,4 x 10^9 các tế bào LAK trong động mạch, nhưng tác dụng chỉ tạm thời. Ishikawa và cs điều trị 3 BN với các tế bào LAK và rIL-2, và 2 BN với rIL-2 đơn thuần dùng toàn thân.

Một BN có UTTBG kiểu lan tỏa và xâm lấn khối u khoảng cửa đáp ứng một cách đáng kể. rIL-2 đơn thuần dùng toàn thân không thấy có hiệu quả. Ohnishi và cs điều trị 10 BN UTTBG với các tế bào LAK. Sử dụng rIL-2 trước khi điều trị bằng bạch cầu đã tinh chế làm gia tăng đáng kể hoạt tính LAK trong 7/9 BN, trong đó hoạt tính LAK đã cảm ứng kém ngay cả với nồng độ rIL-2 cao. Sự thoái hóa khối u lần lượt là 34 và 63%, trong 2 BN có một khối u đơn độc và không tăng kích thước khối u trong 7 BN có khối u lớn hoặc nhiều khối u. Một nghiên cứu khác ở Nhật Bản cũng cho các kết quả tương tự. Trong một nghiên cứu ở Ý, các tế bào LAK được tiêm trực tiếp vào một UTTBG tương đối nhỏ ở 5 BN hình như làm ngừng phát triển khối u. Các kết quả này cho thấy liệu pháp miễn dịch nhận nuôi không mấy phấn khởi.

7. SỰ CHỌN LỰA LIỆU PHÁP VÀ ĐIỀU TRỊ ĐA PHƯƠNG PHÁP

Các liệu pháp đối với UTTBG chính hiện nay ở Nhật Bản là phương pháp nghẽn hóa học động mạch hoặc hóa trị liệu và PEI. Làm thế nào chọn lựa phương thức điều trị tốt nhất là vấn đề mà các chuyên gia về gan luôn luôn quan tâm. Sau đây là chính sách của Okuda và cs ở Bệnh viện Đại học Chiba và Bệnh viện Trung tâm Ung thư Quốc gia Tokyo, sự chọn lọc dựa trên kích thước và khối lượng khối u.

7.1. CHỌN LỌC ĐIỀU TRỊ THEO KÍCH THƯỚC VÀ KHỐI LƯỢNG KHỐI U

- *Nếu khối u nhỏ hơn 3 cm và số lượng ít hơn 3:* phẫu thuật được chọn lựa tốt nhất nếu dự trữ chức năng gan còn tốt. Nếu dự trữ gan kém, PEI được chọn.

- *Nếu khối u lớn hơn 4 cm và số lượng nhiều hơn 4:* việc cắt bỏ (ghép gan) được thực hiện. Nếu không, hóa trị liệu động mạch qua ống thông hoặc làm nghẽn động mạch hóa học được chọn lựa.

7.2. SỰ CHỌN LỌC CŨNG DỰA VÀO KHẢ NĂNG PHẪU THUẬT

- *Nếu khối u có thể phẫu thuật:* Phẫu thuật phải là chọn lựa hàng đầu

- *Nếu không thể phẫu thuật:* Khi dự trữ chức năng còn tốt, chọn PEI (khối u dưới 3 cm) hoặc làm nghẽn mạch hóa học (khối u lớn hơn 4 cm). Khi dự trữ chức năng nghèo nàn, PEI được chỉ định cho một khối u dưới 3 cm và hóa trị liệu hoặc làm nghẽn mạch hóa học đối với các khối u lớn hơn 4 cm.

- *Nếu khả năng có thể phẫu thuật được là trung bình:* dự trữ chức năng còn tốt, phẫu thuật, PEI, hoặc làm nghẽn mạch hóa học được chỉ định. Dự trữ chức năng xấu, PEI hoặc làm nghẽn mạch hóa học cần được chọn lựa.

Tình trạng bệnh khá thay đổi theo từng BN và có nhiều tình huống trong đó có thể việc chọn lựa phương thức điều trị không rõ ràng và dứt khoát. Nếu điều trị hình như không đủ hiệu quả, có thể thêm điều trị khác, một kết hợp điều trị như thế cần được cân nhắc.

8. TÓM TẮT

Quá trình tiến triển của VG B mạn tùy thuộc vào tuổi mà BN bị nhiễm, sự toàn vẹn của miễn dịch vật chủ, tương tác của các yếu tố môi trường và sự xuất hiện của các biến dị HBV. VG mạn do các chủng bài tiết HBeAg thường gặp ở nam hơn là nữ và ở trẻ sơ sinh nhiều hơn người lớn. Chuyển huyết thanh anti-HBe xảy ra ít ở nam giới và trẻ sơ sinh hơn ở nữ giới và người lớn. VG tái hoạt VG sau chuyển huyết thanh anti-HBe không bao giờ xảy ra ở trẻ con; trong khi tỷ lệ hàng năm ở người lớn là 4,4%. Tỷ lệ mới mắc hàng năm của xơ gan từ 2,4% đến 7%, và tỷ lệ sống sót sau 5 năm của BN xơ gan là 66-78%. Trong nhiễm anti-HBe, tỷ lệ xơ gan hàng năm tương tự với tỷ lệ ở các BN HBeAg(+) và tỷ lệ mất bù lâm sàng là 3,7%. Độ 1,5% BN xơ gan phát triển UTTBG mỗi năm. Tỷ lệ sống sót sau 5 năm ở BN xơ gan anti-HBe cao hơn các BN xơ gan HBeAg (97% so với 66%).

Đối với các BN xơ gan mất bù, điều trị tốt nhất là ghép gan với dự phòng tái nhiễm HBV bằng Ig anti-HBs và các thuốc còn đang được đánh giá như IFN, lamivudine. Đối với UTTBG, điều trị dựa vào kích thước và số lượng khối u hoặc dựa vào khả năng phẫu thuật. Nhiều biện pháp điều trị đã cải thiện nhiều tỷ lệ sống sót của BN UTTBG.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. **Colombo M, Lampertico P.** Natural history of chronic hepatitis B and hepatocellular carcinoma. In Zuckerman AJ, Thomas HC, editors. Viral Hepatitis. 2nd ed. London. Churchill Livingstone; 1998: 173-77.
2. **Chu CM.** Natural history of chronic hepatitis B virus infection in adults with emphasis on the occurrence of cirrhosis and hepatocellular carcinoma. J Gastroenterol and Hepatol, 2000 (15) Suppl. E25-E30.
3. **Trần Thị Lợi.** Lây truyền virút viêm gan B từ mẹ sang con. Khả năng dự phòng. Luận Án PTS khoa học y dược. Trường DHY Dược. TP. HCM. 1995.
4. **Đinh Thị Bình, Vũ Băng Đình, Nguyễn Anh Tuấn, Nguyễn Kim Nữ Hiếu.** Nhiễm virut viêm gan B (HBV) ở các bà mẹ có thai và vai trò của các dấu ấn HBV trong đường lây này. Y học thực hành, số 9/1996, tr 24-26.
5. **Châu Hữu Hầu, Hà Văn Tâm, Phạm Ngọc Đính, Đoàn Huy Hậu.** Tình trạng nhiễm virut viêm gan lây truyền ngoài đường tiêu hóa (HBV, HDV, HCV) ở cộng đồng dân cư huyện Tân Châu, tỉnh An Giang. Kỷ yếu các công trình nghiên cứu khoa học. Trường Đại học Y khoa Hà Nội. 7/1996; tr 179-187.
6. **Chun YK; Kim JY; Woo HJ; Oh SM; Kang I; Ha J; Kim SS.** No significant correlation exists between core promoter mutations, viral repliacation, and liver damage in chronic hepatitis B infection. Hepatology 2000; 32:1154-1162.

7. **Mason AL; Xu L; Guol L; Kuhns M; Perrillo RP.** Molecular basis for persisitent hepatitis B virus infection in the liver after clearance of serum hepatitis B surface antigen. Hepatology 2000, vol 27, No 6: 1736-1742.

8. **Okuda K; Takayasu K; Okada S**. Management of hepatocellular carcinoma. In Zuckerman AJ, Thomas HC, editors. Viral Hepatitis. 2nd ed. London. Churchill Livingstone; 1998: 569-83.

9. **Sherman M.** Screening for hepatocellular carcinoma. http://www.hepnet.com/update17.html

10. **Võ Hội Trung Trực; Hồ Tấn Phát, Trần Thị Diễm Trang, Trương Tâm Như, Đặng Vạn Phước.** Đánh giá sơ bộ kết quả 1 năm điều trị và theo dõi của phương pháp thuyên tắc hóa dầu qua động mạch trên BN ung thư tế bào gan nguyên phát. Kỷ yếu các công trình nghiên cứu khoa học. Hội nghị khoa học tiêu hóa toàn quốc lần 7 tại Cần Thơ 14-15/6/2001, tr 63-69.

11. **Hoàng Trọng Thảng, Nguyễn Thị Hồng Hạnh**. Giá trị của những foetoproteinc trong chẩn đoán ung thư gan nguyên phát (UTGNP). Kỷ yếu các công trình nghiên cứu khoa học. Hội nghị khoa học tiêu hóa toàn quốc lần 7 tại Cần Thơ 14-15/6/2001, tr 78.

12. **Nguyễn Ngọc Kha**. Tình hình mang HBsAg ở BN ung thư gan nguyên phát điều trị tại bệnh viện 175. Hội nghị khoa học tiêu hóa toàn quốc lần 7 tại Cần Thơ 14-15/6/2001, tr 82.

13. **Lê Thị Kim Dung**. Khảo sát tỷ lệ HBsAg trên BN xơ gan. Hội nghị khoa học tiêu hóa toàn quốc lần 7 tại Cần Thơ 14-15/6/2001, tr 70-75.

Chương 18
VIÊM GAN DO TRUYỀN MÁU

Trang

1. VG SAU TRUYỀN MÁU TRƯỚC KHI BIẾT CÁC TÁC NHÂN VG 500
2. CÁC NGHIÊN CỨU ĐẦU TIÊN TẦN SUẤT VG SAU TRUYỀN MÁU 501
3. VG SAU TRUYỀN MÁU SAU KHI NHẬN DẠNG ĐƯỢC VG B 502
3.1 Các nghiên cứu tương lai ở Mỹ 502
3.2. Các nghiên cứu tương lai ở Châu Âu 504
4. XÁC ĐỊNH CÁC YẾU TỐ NGUY CƠ VG SAU TRUYỀN MÁU 505
4.1. Các sản phẩm máu có nguy cơ 505
4.2. Các sản phẩm máu an toàn 505
4.3. Vấn đề ngườicho máu 505
4.4. Các dấu ấn virut VG B như là một yếu tố nguy cơ 506
4.4.1. Kháng nguyên bề mặt VG B 506
4.4.2. Kháng thể kháng lõi (anti-HBc) 506
4.4.3. Kháng thể bề mặt VG B (anti-HBs) 507
5. TẦN XUẤT VG SAU TRUYỀN MÁU TRONG NHỮNG NĂM 1980 507
6. CÁC BƯỚC ĐẦU TRONG VIỆC PHÁT HIỆN VIRUT KAKB 1975-1985 508
7. ALT VÀ ANTI-HBC TRONG PHÁT HIỆN NGƯỜI MANG VG KAKB 509
7.1. Loại trừ máu người cho có ALT cao 509
7.2. Loại trừ máu người cho có Anti-HBe 509
8. SỰ PHÁT HIỆN ĐẶC HIỆU NHIỄM VIRUT VG C 511
9. SỰ PHÁT HIỆN CÁC TÁC NHÂN VG KHÁC 511
10. CÁC DI CHỨNG MẠN CỦA VG DO TRUYỀN MÁU 512
10.1. VG B mạn 512
10.2. Ung thư tế bào gan do truyền máu 512
11. DỰ PHÒNG KHÁC NGOÀI SÀNG LỌC HUYẾT THANH 513
11.1. Can thiệp hành vi nguy cơ 513
11.1.1. Người cho máu tình nguyện 513
11.1.2. Các câu hỏi liên quan đến hanh vi nguy cơ 513
11.2. Các chương trình truyền máu tự thân 513
11.3. Sự bất hoạt virut 513
11.3.1. Bất hoạt bằng nhiệt 514
11.3.2. Các dung môi lipit hoạt động màng 514
11.3.3. Bất hoạt bằng β-propiolactone (BPL) và tia cực tím 514
11.4. Hiệu quả của NHIG và HBIG trong dự phòng VG sau truyền máu kiểu B 515
11.4.1. Hiệu quả của NHIG và HBIG trong dự phòng VG sau truyền máu, kiểu B 515
11.4.2. Hiệu quả NHIG và HBIG trong dự phòng VG B do tai nạn kim tiêm 515
11.4.3. Hiệu quả của NHIG trong dự phòng VG KAKB sau truyền máu 515
12. TÓM TẮT 517
TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. VG SAU TRUYỀN MÁU TRƯỚC KHI BIẾT CÁC TÁC NHÂN VG

VG do truyền máu là một trong những hậu quả nghiêm trọng hay gặp nhất của điều trị truyền máu. Khi xét nghiệm sàng lọc HIV-1 ra đời vào năm 1985, nguy cơ AIDS sau truyền máu ở những quốc gia phát triển đã giảm xuống chỉ còn khoảng 1 trường hợp cho 100.000 người nhận máu (0, 001%), trong khi tỷ lệ VG sau truyền máu là 4 đến 8 trường hợp cho 100 người nhận máu (4% đến 8%). Chính vì nỗi sợ nhiễm HIV đã làm thay đổi thành phần người cho máu khiến không chỉ giảm nguy cơ AIDS mà cũng có tác động khá tốt trên VG sau truyền máu ở các cộng đồng nguy cơ cao có khả năng truyền cả 2 bệnh. Từ năm 1985, nhiều biện pháp đã được thực hiện làm giảm đáng kể tỷ lệ VG sau truyền máu.

Sau đây là ghi chép biên niên của VG sau truyền máu với thành quả là tần suất VG sau truyền máu giảm từ hơn 30% vào những năm 1960 đến dưới 1% vào những năm 1990 ở các nước phát triển. Các điểm mốc trong bảng sắp xếp này xác định:

- Nguy cơ cao từ người bán máu vì tiền vào những năm 1960
- Phát hiện VG B (HBV) và việc sàng lọc HBsAg vào năm 1971
- Phát triển xét nghiệm miễn dịch phóng xạ đối với HBsAg được sử dụng vào năm 1975
- Hiểu biết một tác nhân khác gây VG ở người, đó là virut không A không B (KAKB)
- Hiểu biết các dấu ấn thay thế (ALT, anti-HBc) có thể phát hiện người cho máu có nguy cơ truyền VG KAKB.
- Phát hiện virut VG C (HCV) với xét nghiệm đặc hiệu anti-HCV.

Gần đây, một tác nhân khác đã được phát hiện là GBV-C hoặc VG virut G (HGV). Truyền máu là cơ hội tốt xác định chính xác ngày và nguồn phơi nhiễm và do đó rất lý tưởng cho nghiên cứu dịch tễ học, huyết thanh học và các sự kiện sau phơi nhiễm với virut VG.

VG virut được cho là có cùng tuổi với lịch sử nhân loại. Các tác phẩm cổ cho thấy bệnh được biết trong kinh thánh và Hippocrates dường như đã biết bệnh này. Vào thời trung cổ, người ta hay nhắc đến bệnh " vàng da dịch tễ" xảy ra, đặc biệt trong các thời kỳ chiến tranh. Dịch được cho là do điều kiện sống thiếu vệ sinh và đông đúc của thời chiến thanh, cho thấy đây có thể là nhiễm HAV qua đường tiêu hóa hoặc có thể là virut VG E. Nguồn gốc và sự tiến triển của HBV và HCV truyền theo đường máu thì chưa rõ, nhưng các tác nhân này có thể đã tồn tại nhiều thế kỷ, có lẽ lan truyền qua các lễ hiến tế hoặc qua trung gian côn trùng. Tần số nhiễm HBV và HCV, nhất là HCV có thể đã tăng cao trong thế kỉ 20 do tiến bộ của các kỹ thuật y khoa, đặc biệt với sự ra đời của kim tiêm dưới da và trị liệu truyền máu.

Tài liệu được chấp nhận đầu tiên là VG qua đường máu trong một đợt dịch vàng da năm 1885, gây bệnh khoảng 15% trong 1.289 nhân viên xưởng đóng tàu ở Bremen. Lusman cho là do các công nhân được tiêm ngừa thủy đậu chứa huyết tương người glycerin hóa. VG truyền theo đường qua da lại được nhận diện vào đầu thế kỉ 20 ở BN tiểu đường, bệnh hoa liễu và bệnh khớp, khi dùng kim tiêm dùng lại nhiều lần và tiệt trùng dụng cụ không đầy đủ. Lúc đó, các thuật ngữ như vàng da huyết thanh đồng dạng, vàng da sau chủng ngừa và vàng da ống tiêm, đã là một thừa nhận rõ ràng về thực thể này.

Một trận dịch VG vàng da qua đường máu chưa từng có xảy ra vào năm 1942 ở 50.000 lính Mỹ là bằng chứng rõ ràng của VG truyền qua đường máu. Trận dịch xảy ra ngay sau chủng ngừa phòng sốt vàng. Sau đó, các cuộc điều tra người cho máu phát hiện một vài người đã mắc một đợt bệnh vàng da xuất tiết. Đợt dịch được chứng minh là do HBV qua phân tích huyết thanh được thực hiện 40 năm sau ở những người được chủng ngừa trước kia. Nghiên cứu này cũng xác định khoảng 300.000 liều vacxin khác đã gây VG B không có triệu chứng lâm sàng.

Một năm sau trận dịch này, Beeson, Morgan và Williamson báo cáo lần đầu về sự phát triển VG sau khi truyền máu toàn phần. VG sau truyền máu bấy giờ đã là một yếu tố được xác định và được lưu tâm nhiều vì Thế chiến thứ II đang diễn ra, máu toàn phần và huyết tương đang có nhu cầu gia tăng. Vì không thể nuôi cấy virut VG hoặc tìm được loại động vật dễ nhiễm, các thí nghiệm gây nhiễm ở người đã được xem là hợp pháp và các nghiên cứu đã được bắt đầu ở cả 2 nước Anh và Mỹ. Các thí nghiệm này xác định quan điểm lúc đó là chỉ có hai virut gây VG. Một thể nhẹ và tạm thời truyền qua đường miệng lẫn đường máu, gây bệnh sau một thời kỳ ủ bệnh từ 2 đến 4 tuần. Thể bệnh thứ hai chỉ truyền bằng con đường xuyên qua da với thời kỳ ủ bệnh dài từ 1 đến 6 tháng. Thể này có vẻ nặng và tồn tại lâu hơn tác nhân đầu. Hai bệnh này trước đây có nhiều tên, lúc bấy giờ được gọi là VG nhiễm khuẩn và VG huyết thanh, và vào năm 1977, các tên này được chính thức đổi thành VG A và VG B.

2. CÁC NGHIÊN CỨU ĐẦU TIÊN TẦN SUẤT VG SAU TRUYỀN MÁU

Các nghiên cứu nhằm xác định tần số VG sau truyền máu được bắt đầu ngay sau chấm dứt Chiến tranh Thế giới lần II, nhất là vào cuối thập niên 50 và đầu thập niên 60. Tuy nhiên, các nghiên cứu thời đó gặp trở ngại do chẩn đoán phụ thuộc vào các dấu hiệu lâm sàng không đặc hiệu. Hơn nữa, VG không triệu chứng, không vàng da nhiều hơn VG có triệu chứng khoảng từ 2 đến 7 lần. Qua 5 nghiên cứu tiêu biểu trong khoảng từ năm 1946 đến 1962, tỷ lệ tấn công của VG được báo cáo trong khoảng 0,1-0,6% các trường hợp VG cho 100 đơn vị máu truyền.

Bảng 18-1. VG do truyền máu được chẩn đoán bằng việc đo lường men trong huyết thanh.

Tham khảo	Số BN	Tỷ lệ tấn công/100 BN được truyền máu (%)
Shimizu và cs	175	64,8
Hampers và cs	56	17,8
Creutzfeldt và cs	309	14,0
Walsh và cs	110	38,1 [a]
Nghiên cứu VG do truyền máu quốc gia [c]	5142	2,9 [b] 10,9 (xác định bằng ALT)

[a] 51% trong 82 người nhận máu thương mại; 0% trong 28 người chỉ nhận máu người cho tình nguyện

[b] Chỉ có bảng câu hỏi

[c] Nhóm Nghiên cứu VG do Hội Truyền máu Quốc gia Mỹ

Việc phát hiện các men huyết thanh vào thập niên 1950 (thế kỷ 20), đặc biệt amino- tranferase, như là các dấu ấn hoại tử tế bào gan, tạo nền cho chẩn đoán VG virut sau này. Trong suốt những năm 1960, nhiều nghiên cứu qui mô nhỏ để xác định tần số của VG sau truyền máu qua xét nghiệm men huyết thanh của người nhận. Tỷ lệ tấn công trong 5 nghiên cứu từ 14-65%, cao hơn nhiều các báo cáo trước đây, do khả năng chẩn đoán được cải thiện (bảng 20-1).

3. VG SAU TRUYỀN MÁU SAU KHI NHẬN DẠNG ĐƯỢC VG B

Blumberg và cs vào năm 1963 trong khi tìm các dấu ấn di truyền, đã xác định được một dạng kết tủa lipoprotein bằng cách dùng hệ thống khuếch tán miễn dịch (ID) trên gel agarose. Chất này, được gọi tên là kháng nguyên Australia vì được phát hiện đầu tiên trong huyết thanh của một thổ dân Australia. Trong một thời gian, kháng nguyên này được gán cho một loại virut VG. Sau khi đã biết đây chỉ là vỏ ngoài của virut VG B, tên gọi kháng nguyên Australia được bỏ đi và được thay bằng tên kháng nguyên bề mặt VG B (HBsAg) cho đến ngày nay.

Sau đó, Gocke và cs bắt đầu một loạt các nghiên cứu ở người cho và người nhận máu, chứng minh sự kết hợp rõ ràng giữa sự hiện diện của HBsAg ở người cho máu và sự phát triển VG B với kháng nguyên hoặc kháng thể ở người nhận máu. Các nghiên cứu đưa ra kết luận hơn 20% đến 25% các trường hợp VG sau truyền máu không phải là VG B, một quan điểm được sự đồng tình của nhiều tác giả khác.

3.1. CÁC NGHIÊN CỨU TƯƠNG LAI Ở MỸ

Một loạt các nghiên cứu tương lai giám sát men được thực hiện ở Mỹ, bắt đầu từ cuối những năm 1960 đến hết những năm 1970, với 2 mục tiêu cơ bản:

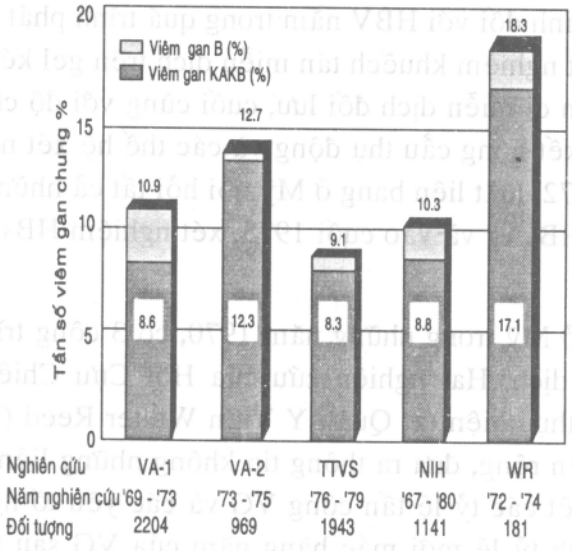
- Xác định tỷ lệ mắc bệnh VG sau truyền máu thực sự và xác định yếu tố nguy cơ.
- Đánh giá hiệu quả của globulin miễn dịch trong dự phòng hoặc chữa bệnh.

Xét nghiệm huyết thanh đối với HBV nằm trong quá trình phát triển các phương tiện xét nghiệm, đi từ xét nghiệm khuếch tán miễn dịch trên gel kém nhạy thuở ban đầu, qua xét nghiệm điện di miễn dịch đối lưu, cuối cùng với độ chính xác cao hơn bằng xét nghiệm ngưng kết hồng cầu thụ động và các thế hệ xét nghiệm miễn dịch phóng xạ (RIA). Năm 1972, luật liên bang ở Mỹ đòi hỏi tất cả những người cho máu đều phải được sàng lọc HBsAg và vào cuối 1975, xét nghiệm HBsAg thế hệ thứ ba đã trở thành bắt buộc.

Trong 5 nghiên cứu ở Mỹ trong những năm 1970, có 3 công trình tập trung vào vấn đề dự phòng miễn dịch. Hai nghiên cứu của Hội Cựu Chiến Binh (VA) và nghiên cứu thứ ba được thực hiện tại Quân Y Viện Walter Reed (WR). Đây là các thử nghiệm lâm sàng diện rộng, đưa ra thông tin không những liên quan đến giá trị dự phòng mà còn cho biết các tỷ lệ tấn công VG và các yếu tố nguy cơ. Hai công trình khác nhằm xác định tỷ lệ mới mắc hàng năm của VG sau truyền máu. Một trong số đó thực hiện tại khoa Y học Truyền máu của Viện Nghiên cứu Sức khoẻ Quốc gia Mỹ (NIH) năm 1963. Một nghiên cứu khác về các virut truyền qua đường máu (TTVS) xác định tỷ lệ VG sau truyền máu và cả tỷ lệ VG nền ở lô chứng.

Cả 5 công trình đánh giá trên 4.000 người nhận máu. Tỷ lệ VG từ thấp 9,1% trong nghiên cứu TTVS đến cao 18,3% trong nghiên cứu của WR (hình 20-1). Sàng lọc HBsAg máu người cho và người nhận được thực hiện bằng phương pháp điện di miễn dịch đối lưu trong nghiên cứu của VA và một phần trong nghiên cứu của NIH và WR. Với các xét nghiệm này, HBV được xác định có trách nhiệm 3%-22% tổng số trường hợp VG. Tỷ lệ nhiễm HBV đối với tần số VG toàn bộ phụ thuộc vào độ nhạy của xét nghiệm sàng lọc. Trong thử nghiệm của VA, với máu người cho HBsAg(+) được loại trừ trên cơ sở sàng lọc điện di miễn dịch đối lưu (CEP), HBV có trách nhiệm trong 22% các trường hợp VG ở người nhận, nhưng khi dùng RIA để sàng lọc máu người cho, thì chỉ còn 3%. Các kết quả tương tự cũng gặp trong nghiên cứu NIH, tần số VG sau truyền máu liên quan đến HBV là 4,8% khi sàng lọc bằng khuếch tán miễn dịch, xuống còn 3,7% khi dùng điện di miễn dịch đối lưu và cuối cùng là 0,6% khi dùng RIA thế hệ thứ ba.

Lúc đầu VG A được dùng để giải thích cho phần lớn các trường hợp BN VG sau truyền máu. Năm 1974, Prince và cs cho rằng HAV rất ít có khả năng gây VG sau truyền máu. Quan điểm này được Feinstone và cs xác định vào cuối năm đó bằng cách phân tích huyết thanh được dự trữ từ các công trình trước đây. Bởi thế, vào năm 1975, thực thể VG KAKB sau truyền máu đã được thừa nhận. Lúc đầu, một số tác giả còn cho rằng bệnh có thể không do virut, nhưng quan niện này bị xua tan nhanh chóng qua các thử nghiệm nhiễm truyền vào hắc tinh tinh.



Hình 18-1. *Biểu đồ các tần suất của VG liên quan với truyền máu trong 5 nghiên cứu tương lai, qua giám sát huyết thanh ở Mỹ, từ năm 1967 đến 1980.*

Các số ở trên cột biểu thị tần số VG chung (%); số ở dưới, phần đậm của cột là tần suất của kiểu VG KAKB (%); phần ở trên thanh là tần số VG B.

Viết tắt: VA-1, VA-2, Nghiên cứu hợp tác Hội Cựu Chiến Binh Mỹ dùng điện di miễn dịch đối lưu và dùng RIA; TTVS, nghiên cứu các virut truyền theo đường máu; NIH, nghiên cứu của Ngân hàng máu thuộc Viện Quốc Gia Sức Khỏe; WR, nghiên cứu của Quân Y Viện Walter Reed.

3.2. CÁC NGHIÊN CỨU TƯƠNG LAI Ở CHÂU ÂU

Các nghiên cứu tại châu Âu trong những năm 1970 được minh họa trong bảng 20-2. Kết quả là tần số từ 0% ở Đức và Thụy Sĩ nơi dùng RIA sàng lọc, đến 15,7% ở Hy Lạp, nơi dùng ngưng kết hồng cầu thụ động. Ở Đức và Hà Lan không có trường hợp nào VG KAKB nhưng ở Anh và Hy Lạp có khoảng 80%. Ở Đức, tỷ lệ VG sau truyền máu là 13,9%. Trước khi sàng lọc, giảm xuống còn 4,1% sau khi dùng CEP sàng lọc và xuống 0% khi dùng RIA.

Bảng 18-2. Các nghiên cứu tương lai ở châu Âu về VG liên quan đến truyền máu 1960-1970

Tham khảo (Nước)	Sàng lọc HBsAg	Tỷ lệ mắc VG	VG KAKB (%)
Creutzfeldt và cs (Đức)	Không	13,9	-
	CEP	4,1	-
Sugg và cs (Đức)	RIA	0	-
Brandt và cs (Hà Lan)	Không	3,1	-
Frey-Wettstein (Thụy Sĩ)	RIA	0	-
Working Party (Anh)	PHA	5,6	80
Hadziyannis (Hy Lạp)	PHA	15,7	80

Viết tắt: CEP, điện di đối lưu; RIA, xét nghiệm miễn dịch phóng xạ; PHA, ngưng kết hồng cầu thụ động

4. XÁC ĐỊNH CÁC YẾU TỐ NGUY CƠ VG SAU TRUYỀN MÁU

4.1. CÁC SẢN PHẨM MÁU CÓ NGUY CƠ

Lây nhiễm VG cao gồm fibrinogen và huyết tương dự trữ (hiện nay cả hai đều không được dùng nữa), cũng như phức hợp yếu tố IX, phức hợp yếu tố VIII (yếu tố chống bệnh ưa chảy máu) và tiểu cầu đậm đặc từ nhiều người cho.

Lây nhiễm trung bình gồm máu toàn phần; huyết tương tươi đông lạnh; tiểu cầu đậm đặc, bạch cầu hạt đậm đặc và kết tủa lạnh của một người cho duy nhất. Hồng cầu được rửa sạch và đông lạnh chưa được chứng minh giảm nguy cơ lây nhiễm VG.

4.2. CÁC SẢN PHẨM MÁU AN TOÀN

Sản phẩm máu an toàn khi được xử lý bằng nhiệt trong 10 giờ ở nhiệt độ 60°C, hoặc pha chế bằng phân đoạn Cohn etanol lạnh như globulin miễn dịch hay siêu miễn dịch. Yếu tố đông máu đậm đặc hiện đã chứng tỏ an toàn qua nhiều biện pháp bất hoạt virut hiệu quả.

4.3. VẤN ĐỀ NGƯỜI CHO MÁU

Trong những năm 1960, các nhà nghiên cứu đã ghi nhận máu người bán có nhiều khả năng liên quan đến VG ở người nhận máu hơn là máu được cho bởi người tình nguyện. Trong các nghiên cứu, tần số VG được tìm thấy khá cao ở người nhận máu của người bán máu hơn là người nhận máu của người cho máu tình nguyện (bảng 20-3). Các nghiên cứu của NIH đã cho thấy việc loại trừ máu người bán và người HBsAg(+) làm giảm tần số VG từ 33% xuống 10%; 3/4 sự giảm tần số là do loại trừ máu người bán hơn là xét nghiệm HBsAg. Các số liệu của VA cũng xác định tần số VG tăng tuyến tính theo số đơn vị máu người bán, từ 6,9% ở những người nhận 1 đơn vị, đến 40,6% ở người nhận trên 11 đơn vị. Các kết quả này cho thấy máu bán có nhiều khả năng nhiễm HBsAg hơn người tình nguyện. Ở Mỹ, một đạo luật đã ban hành vào năm 1978, về việc phải ghi rõ nguồn gốc máu của người bán hay người tình nguyện.

Bảng 18-3. So sánh tần số VG liên quan đến truyền máu giữa người nhận máu của người cho tình nguyện và người bán máu.

Tác giả	Người cho máu tình nguyện		Người bán máu	
	Số người nhận máu	Tỷ lệ % có VG KAKB	Số người nhận máu	Tỷ lệ % có VG KAKB
Walsh và cs	28	0	82	51,0
Prince	83	7,2	13	53,8
Goldfield và cs	364	7,7	288	28,7
Aach và cs	389	6,5	26	34,4
Seelf và cs	439	6,9	267	17,2

Allen và Sayman ngay sau đó đã đưa ra một yếu tố nguy cơ khác là tỷ lệ VG tương quan với số đơn vị truyền. Trong Nghiên cứu VG sau Truyền máu Quốc gia (NTHS), tỷ lệ VG tăng vừa phải khi số đơn vị máu được dùng đến 8 hoặc hơn nữa, nhưng kết quả này chưa được điều chỉnh với huyết thanh học HBV hoặc nguồn người cho. Trong Nghiên cứu VA, tần số VG tỷ lệ thuận với số đơn vị dùng, nhưng sự liên quan chặt chẽ hơn ở người nhận máu thương mại. Ở những người nhận máu người tình nguyện, tần số không thay đổi độ 2,5% cho đến khi số đơn vị được dùng là 11 hoặc nhiều hơn thì tần số ở người nhận máu bán được nhân lên gấp ba lần. Gần đây, Hội Chữ thập đỏ Nhật đã báo cáo một tần suất 4,9% ở những người nhận từ 1 đến 10 đơn vị máu và 16,3% ở những người nhận từ 11 đến 20 đơn vị.

4.4. CÁC DẤU ẤN VIRUT VG B NHƯ LÀ MỘT YẾU TỐ NGUY CƠ

4.4.1. Kháng nguyên bề mặt VG B

Sau khi nhận dạng HBsAg, nhiều nghiên cứu xếp cặp người cho-người nhận máu được thực hiện để chứng minh HBsAg là một dấu ấn khá đặc hiệu của nhiễm HBV. Với việc cải tiến độ đặc hiệu của các xét nghiệm huyết thanh và theo qui định liên bang của Mỹ năm 1975, tất cả máu người cho phải được sàng lọc kháng nguyên HBsAg bằng xét nghiệm thế hệ thứ ba, tần số VG sau truyền máu do HBV đã giảm còn 0,3% hoặc thấp hơn, nhưng chưa bằng không.

VG B sau truyền máu dù đã sàng lọc thường qui HBsAg được giải thích như sau:

- Các sai lầm kỹ thuật có thể gây nhiễu kết quả xét nghiệm thường qui.
- Bệnh không do truyền máu: khó xảy ra; nghiên cứu TTVS cho thấy tỷ lệ VG do HBV 1,7% ở người nhận máu nhưng chỉ có 0,14% ở lô chứng nằm viện không truyền máu.
- Bệnh có nguồn gốc từ người cho nhiễm virut là người ủ bệnh VG B nhưng chưa có HBsAg(+) (giai đoạn cửa sổ). Sự giải thích này được tin là rất ít khả năng vì nhiễm HBV hiếm xảy ra ở người cho máu tình nguyện Mỹ và khi giám sát người cho ít phát hiện VG B.
- Khả năng người cho có thể HBsAg(-) nhưng là người mang HBV nồng độ thấp. Chứng minh cho quan niệm này là các nghiên cứu ở hắc tinh tinh, cho thấy gây nhiễm với huyết thanh HBsAg(+) pha loãng tới khi xét nghiệm RIA âm vẫn còn khả năng truyền bệnh.

4.4.2. Kháng thể kháng lõi (anti-HBc)

Hiện nay, dấu ấn nhiễm HBV tiềm ẩn có thể chấp nhận là anti-HBc, một chỉ thị sao chép HBV khá nhạy. Kháng thể này hiện diện đơn độc trong VG B cấp đang thuyên giảm ở thời kỳ cửa sổ giữa lúc mất HBsAg và lúc bắt đầu xuất hiện anti-

HBs. Nhiều nỗ lực nhằm xác định việc nhận máu người cho với anti-HBc(+) đơn thuần có liên quan hay không với VG ở người nhận máu. Một báo cáo ở nhóm ghép tạng Mayo Clinic với 2 trường hợp VG B đã phát triển ở BN ghép gan dù đơn vị máu mà họ nhận đã được sàng lọc HBsAg và cả anti-HBc, và gan người cho cũng đã được xét nghiệm HBsAg. Xét nghiệm hồi cứu các mẫu máu dự trữ phát hiện anti-HBc có mặt đơn độc ở hai người cho gan mà người nhận đã phát triển VG. Hiện nay, máu người cho ở Mỹ đều được sàng lọc anti-HBc. Hiệu quả của xét nghiệm anti-HBc vừa được chứng minh ở Nhật Bản, nơi tỷ lệ mắc VG sau truyền máu hiện đã giảm xuống gần bằng không.

4.4.3. Kháng thể bề mặt VG B (anti-HBs)

Một giả thuyết khác là anti-HBs có thể xác định máu người cho nhiễm virut tiềm tàng qua việc phát hiện người mang HBV trong đó HBsAg bị che dấu bằng phức hợp kháng nguyên-kháng thể. Tuy nhiên, các nghiên cứu khác không ủng hộ cho giả thuyết này.

5. TẦN SỐ VG SAU TRUYỀN MÁU TRONG NHỮNG NĂM 1980

Bảng 18-4. Tần số VG liên quan đến truyền máu vào những năm 1980.

Tham khảo	Nước	Số BN theo dõi	Tần số VG (%)	Tần số VG B (%)
Takeda và cs	Nhật	676	11,6	7
Katchaki và cs	Hà Lan	380	3,4	0
Cossart và cs	Úc	842	2,0	18
Grillner và cs	Thụy Điển	74	18,9	0
Tremolada và cs	Ý	297	18,5	4
Collins và cs	Anh	248	2,4	0
Tur-Kaspa và cs	Israel	50	8,0	0
Hermandez và cs	Tây Ban Nha	230	16,9	26
Aymard và cs	Pháp	64	6,3	0
Colombo và cs	Ý	676	14,0	3
Widell và cs	Thụy Điển	173 (83)	5,2	0
		739 (84-85)	2,4	0
Feinman và cs	Canada	576	9,2	0
Sirchia và cs	Ý	780	6,7	0
		155 (86)	10,9	0
		228 (87)	6,6	0
		234 (88)	5,6	0
		163 (89)	4,3	0
Barrer và cs	Tây Ban Nha	250	16,0	0
Red Cross và cs	Nhật	1581 (<89)	7,7	0,25
		908 (>89)	2,1	0
Contreras và cs	Anh	387	0,3	0
Wang và cs	Đài Loan	296	12,5	2,7

Số trong ngoặc biểu thị thời gian nghiên cứu

Trong thời gian này, nhiều công trình đã được thực hiện ở nhiều nước xác định VG sau truyền máu có phân bố toàn cầu, dù tần số thay đổi khác nhau từ 0,3% đến gần 19% (bảng 20-4). Tỷ lệ thấp nhất ở Anh, Hà Lan và Australia. Tỷ lệ cao hơn ở Thụy Điển, Ý, Tây Ban Nha, Đài Loan và Nhật. Trong đa số nghiên cứu, không có một trường hợp nào được xác định VG sau truyền máu là hậu quả của nhiễm HBV. Ngay cả ở Đài Loan, nơi HBV là dịch lưu hành, hầu hết các trường hợp là VG không B. Chỉ có 2 nghiên cứu nêu lên sự góp phần VG B vào tần số VG chung: một ở Austalia, 18% các trường hợp là VG B, và một ở Tây ban Nha, 26% là VG B. Các khác biệt có lẽ do dùng các xét nghiệm huyết thanh HBV có độ nhạy khác nhau.

6. CÁC BƯỚC ĐẦU TRONG VIỆC PHÁT HIỆN VIRUT KAKB 1975-85

Tên VG KAKB được đặt một cách giả định vì lúc đó vẫn chưa chắc chắn là bệnh có nguồn gốc virut hay do biến chứng hậu phẫu. Nếu bệnh là do virut, thì vẫn chưa rõ có bao nhiêu tác nhân. Nhiều tác giả đã đưa ra một loạt xét nghiệm KAKB nhưng sau đó lại bác bỏ. Thất bại này chủ yếu liên quan tới phát hiện protein ký chủ. Một vài protein có thể có nguồn gốc virut, nhưng không protein nào đủ để tái sản xuất nhằm chứng minh về sự hiện diện virut.

Một trong những quan điểm nổi bật nhất là tác nhân VG KAKB là một thể HBV ẩn căn cứ trên phản ứng của huyết thanh VG KAKB với kháng thể đơn dòng trực tiếp chống lại HBV và trên sự phát hiện HBV DNA trong tế bào gan nhiễm VG KAKB. Một quan điểm khác là tác nhân KAKB là một retrovirut căn cứ trên phát hiện men sao chép ngược ở huyết thanh của BN VG KAKB. Giả thuyết retrovirut cũng bị bác bỏ khi các phòng xét nghiệm không thể xác định hoạt tính sao chép ngược trong huyết thanh VG KAKB. Giả thuyết HBV sau đó bị bác bỏ vì khi nhân dòng HCV, cho thấy đây là virut hoàn toàn khác biệt với HBV và các hepadnavirut khác.

Trong các nghiên cứu lây truyền hắc tinh tinh trong đó huyết thanh chứa HBV có nồng độ lây nhiễm thường vượt 10^8 liều nhiễm hắc tinh tinh/ml (CID_{50} /ml) trong khi vật nhiễm truyền KAKB thường có nồng độ ít hơn 10^3 CID_{50}/ml. Nồng độ virut gây nhiễm thấp sẽ gây khó khăn trong việc phát hiện kháng nguyên virut trong huyết thanh người trừ khi kháng nguyên được sản xuất dư thừa lúc cần cho việc lắp ráp các virion.

Bởi thế, sự chú ý tập trung vào việc phát hiện kháng thể kháng virut, nhưng làm thế nào nhận dạng một kháng thể khi chưa có kháng nguyên virut nào được biết? Mặt khác, các nghiên cứu lâm sàng VG sau truyền máu đã cho thấy ít nhất 50% BN tiến triển đến VG mạn và nhiễm virut tồn tại có lẽ phản ánh khiếm khuyết đáp ứng kháng thể thích hợp. Vào thời điểm năm 1984, không có phương pháp huyết thanh nào khác có thể thành công, và việc tìm kiếm tác nhân KAKB phải chờ cho đến khi sinh học phân tử ra đời.

Do không có xét nghiệm huyết thanh học, không thể nuôi cấy virut trong môi trường hay quan sát bằng kính hiển vi điện tử, nghiên cứu về VG KAKB phần lớn được thực hiện khi lây nhiễm cho hắc tinh tinh. Sau lây nhiễm VG KAKB vào hắc tinh tinh, huyết thanh được dùng để xác định kích cỡ virut qua lọc, xác định sự hiện hữu của vỏ virut qua sự nhạy cảm với dung môi lipit và đánh giá sự bất hoạt bằng nhiều kỹ thuật vật lý. Các nghiên cứu cho thấy tác nhân KAKB có vỏ lipit và đường kính khoảng 30-40 nm. Các đặc trưng vật lý gợi ý virut thuộc họ toga (hiện nay là Flaviviridae) hoặc thuộc lớp virut mới. Sau đó, dùng phương pháp nhân dòng phát hiện tác nhân VG KAKB chủ yếu thuộc họ Flaviviridae và là một giống mới trong họ này.

Mặc dù nhân dòng và xác định đặc điểm bộ gen tương đối toàn vẹn, HCV chưa được nhìn thấy hoặc nuôi cấy trong môi trường. Tuy nhiên, có các báo cáo sơ bộ về một môi trường gan giúp tăng sinh HCV. Nhưng các hạt được quan sát trong môi trường cấy mô thì đa dạng và tương đối lớn hơn (39-60 nm) virut được xem là HCV trong các nghiên cứu qua lọc trước đây.

7. ALT VÀ ANTI-HBe TRONG PHÁT HIỆN NGƯỜI MANG VG KAKB

Vào giữa những năm 80, khi tần suất VG sau truyền máu là 4-8% và xét nghiệm đặc hiệu về tác nhân KAKB đang bế tắc, việc dùng các xét nghiệm thay thế để phát hiện người mang virut KAKB trở thành một kết quả tất yếu, dù còn nhiều tranh luận.

7.1. LOẠI TRỪ MÁU NGƯỜI CHO CÓ ALT CAO

Quan niệm phát sinh từ một phân tích hồi cứu của 2 công trình nghiên cứu tương lai thực hiện trong những năm 1970. Năm 1981, nhóm Nghiên cứu TTVS lần đầu tiên báo cáo sự kết hợp ý nghĩa giữa ALT huyết thanh tăng cao ở người cho máu và sự phát triển VG ở người nhận. Từ số liệu này, người ta cho rằng việc loại trừ máu người cho có ALT tăng cao có thể ngừa 30% các trường hợp VG KAKB và nguồn người cho máu giảm đi 3%. Một nghiên cứu đồng thời tại NIH cũng cho một kết quả tương tự, dự đoán việc loại trừ máu người cho trên cơ sở ALT cao có thể ngừa 29% VG sau truyền máu và cộng đồng người cho máu giảm xuống 1,5%. Cho đến hiện nay hiệu quả của xét nghiệm ALT đối với dự phòng VG KAKB mặc dù được gợi ý, nhưng chưa được chứng minh.

7.2. LOẠI TRỪ MÁU NGƯỜI CHO CÓ ANTI-HBe

Vào những năm 1980, trong nghiên cứu TTVS, người nhận ít nhất một đơn vị máu chứa anti-HBc(+) có một tần số 19% VG KAKB so với 7% ở người nhận có anti-HBc(-) (P <0,001). Trong nghiên cứu của NIH, người nhận máu anti-HBc(+) có 11,9% tần suất VG sau truyền máu so với 4,2% ở người nhận máu anti-HBc(-) (P <0,001). Trong cả 2 nghiên cứu, người nhận máu có anti-HBc(+) có nguy cơ tăng

gần 3 lần mắc VG sau truyền máu. Một nghiên cứu thứ 3 thực hiện ở Đức đo lường tác động khác của xét nghiệm anti-HBc nhằm sàng lọc cộng đồng người cho máu đã được xét nghiệm ALT. Nghiên cứu cho thấy người nhận máu anti-HBc(+) có một nguy cơ VG sau truyền máu 5 lần lớn hơn người nhận máu anti-HBc(-). Các nhà nghiên cứu ước tính việc xét nghiệm anti-HBc thường qui sẽ làm giảm tần suất VG sau truyền máu khoảng 40% trên kết quả đã đạt được bằng xét nghiệm ALT. Cộng chung, 3 nghiên cứu gồm hơn 2.000 BN, và mỗi nghiên cứu cho thấy tăng ALT và hiện diện anti-HBc ở người cho tương quan mạnh với sự phát triển VG ở người nhận. Các số liệu đủ thuyết phục các cơ quan truyền máu thực hiện thường qui các xét nghiệm này trong sàng lọc máu. Tại Mỹ, xét nghiệm ALT được bắt đầu thực hiện 1986 và anti-HBc 1987.

Người ta cho rằng người phơi nhiễm với HBV cũng có khả năng phơi nhiễm với virut KAKB. Tuy điều này được tin là đúng, các nghiên cứu phát hiện sự phù hợp đáng kinh ngạc của các dấu ấn này trong cộng đồng người cho máu: người cho máu có ALT cao hiếm khi có anti-HBc và ngược lại, người cho máu có anti-HBc lại hay có ALT bình thường. Sự chênh lệch này chưa được giải thích đầy đủ, nhưng có thể giải thích phần nào qua sự kiện cả hai xét nghiệm đã cho kết quả dương giả. Trong trường hợp ALT, là do các nguyên nhân tổn thương tế bào gan không phải virut, trong trường hợp anti-HBc là do chính phương thức xét nghiệm không chính xác. Vì các xét nghiệm thay thế có vẻ có hiệu quả độc lập, không có cách nào để chọn một xét nghiệm thay thế này ưu tiên hơn một xét nghiệm khác, do đó cả hai được chấp nhận. Xét nghiệm anti-HBc có lợi trong việc phát hiện một vài người mang có nồng độ HBsAg thấp dưới mức phát hiện và cũng được dùng như một dấu ấn thay thế đối với người mang HIV-1, vì tần suất anti-HBc khá cao ở nhóm có nguy cơ phát triển AIDS.

Tác động của xét nghiệm ALT chưa bao giờ được đánh giá trực tiếp trong một nghiên cứu tương lai, có đối chứng, ngẫu nhiên. Tác động của anti-HBc đã được đánh giá trong một nghiên cứu thực hiện ở Tây Ban Nha, xét nghiệm anti-HBc ở người cho máu không làm giảm tỷ lệ mắc VG sau truyền máu. Tuy nhiên, tần số của anti-HBc trong cộng đồng người cho máu này khá cao (15%), thuộc một vùng dịch lưu hành HBV mức độ cao. Trong một cộng đồng mà HBV là một dịch lưu hành, sự lan truyền HBV có thể không song song với sự lan truyền của virut KAKB, và do đó, anti-HBc không thể dùng như một dấu ấn thay thế.

Các nghiên cứu của TTVS và NIH dự đoán cách dùng phối hợp xét nghiệm ALT và anti-HBc có thể ngừa được 40% đến 50% VG sau truyền máu. Hiện nay có vài bằng chứng gián tiếp cho tiên đoán này. Trong thử nghiệm lâm sàng về xét nghiệm anti-HCV được cấp bằng sáng chế đầu tiên, ở 350 người cho máu có kết quả anti-HCV dương thật bằng xét nghiệm thấm tách miễn dịch, 43% có một dấu ấn thay thế,

trong khi chỉ có 3,9% trong 3.247 người cho máu có xét nghiệm anti-HCV dương giả có ALT gia tăng hoặc anti-HBc(+). Các số liệu này cho thấy các xét nghiệm thay thế có thể loại trừ 43% người cho nhiễm virut được xác định bằng xét nghiệm anti-HCV đặc hiệu và phù hợp với dự đoán. Hơn nữa, Nelson và cs đánh giá trên gần 1.000 BN trước khi xét nghiệm các dấu ấn thay thế và số lượng tương tự sau khi xét nghiệm dấu ấn thay thế thấy giảm 60% trong tỷ lệ chuyển huyết thanh sau khi các xét nghiệm này được dùng. Hiện nay, tuy các dấu ấn HCV đặc hiệu và nhạy được dùng thường qui, vẫn còn phải tranh luận là cần hay không xét nghiệm dấu ấn thay thế, do việc mất từ 2-4% người cho máu mà các xét nghiệm này sinh ra. Thực vậy, năm 1995, các cơ quan truyền máu ở Mỹ xác nhận việc sàng lọc ALT của máu người cho có thể không cần thiết nữa. Ngược lại, anti-HBc vẫn còn là một xét nghiệm được FDA khuyên dùng cho tất cả sản phẩm máu truyền.

8. SỰ PHÁT HIỆN ĐẶC HIỆU NHIỄM VIRUT VG C

Hiện nay HCV RNA đã được đo lường trong huyết thanh bằng kỹ thuật PCR, song sự hiện diện của HCV thường được đánh giá gián tiếp qua việc phát hiện kháng thể anti-HCV. Ban đầu anti-HCV được phát hiện bằng RIA, nhưng xét nghiệm đã được cấp sáng chế và được áp dụng rộng rãi trên lâm sàng lại là xét nghiệm miễn dịch enzym (EIA). Từ lâu, đã có 3 thế hệ EIA anti-HCV phân biệt qua số lượng của kháng nguyên tái tổ hợp gắn kết vào pha rắn. EIA-1 chứa kháng nguyên C100; EIA-2 thêm C33c, C22 và EIA-3 thêm NS-5 cũng như C33c cải tiến.

9. SỰ PHÁT HIỆN CÁC TÁC NHÂN VG KHÁC

Nhiều quan sát lâm sàng và thực nghiệm cho thấy sự hiện diện của các tác nhân VG có thể lây truyền được qua truyền máu, ngoài HBV và HCV.

Virut VG A và E: virut đường ruột, thời gian virut huyết ngắn, rất ít gây VG sau truyền máu.

VG virut D (HDV) là một virut không toàn vẹn chỉ có thể sao chép khi có sự hiện diện của HBV. Do đó, các biện pháp sàng lọc máu để ngừa HBV cũng là ngừa HDV.

HGV và virut GB kiểu C (GBV-C). Các tác nhân này được chứng minh là thành viên mới của họ Flaviviridae, cấu trúc tương tự với HCV, nhưng có khoảng 25% không tương đồng với HCV và các thành viên khác của họ này. HGV và GBV-C gần như giống nhau (tương đồng 95%), có thể là hai thể phân lập liên quan chặt chẽ của cùng một virut.

TTV và SENV: đây cũng là các virut có thể được truyền theo đường truyền máu, nhưng có thể chỉ là các virut cộng sinh trong cơ thể.

10. CÁC DI CHỨNG MẠN CỦA VG DO TRUYỀN MÁU

10.1. VG B MẠN

VG B cấp có thể dẫn đến VG mạn, đặc biệt ở vùng Đông Nam Á, nơi có tỷ lệ HBV cao truyền nhiễm chu sinh. Trẻ sơ sinh nhiễm HBV trong các nước này trở thành người mang HBV trong hơn 90% các trường hợp. Tại Mỹ và các nước phương Tây khác, nơi HBV thường gặp ở người lớn, VG mạn tiến triển chỉ trong 5% đến 10% các trường hợp cấp. Các dữ liệu về kết quả của VG B mạn sau truyền máu đến nay rất ít.

Một trận dịch VG B rất lớn, liên quan đến tiêm vacxin sốt vàng, gây bệnh cho hơn 300.000 lính Mỹ năm 1942. Đây là dịch lớn nhất chưa từng được ghi nhận, được theo dõi tiếp hơn 40 năm sau để xác định hậu quả của nhiễm HBV. Kết quả đã phát hiện không có sự khác biệt đáng kể nào trong các trường hợp tử vong giữa nhóm lính phát triển VG (có vàng da hay không vàng da) khi so với lô chứng không nhiễm, tuy tử vong hơi cao do ung thư tế bào gan nguyên phát (UTTBG) được tìm thấy ở các trường hợp không vàng da. Tử vong do VG B thấp là do tỷ lệ người mang trong đợt dịch được xác định chỉ có 0,3% hơn là 5-10% như dự đoán. Tỷ lệ người mang quá thấp có thể là do đợt dịch xảy ra do một phơi nhiễm độc nhất và gồm toàn những người đàn ông trẻ, khỏe, có khả năng miễn dịch. Tuy nhiên, hậu quả tương đối lành tính này khó xảy ra ở các BN bị VG B do truyền máu, vì truyền máu thường nhiều và hiển nhiên là được dùng cho những người có tình trạng sức khỏe bị tổn thương.

10. UNG THƯ TẾ BÀO GAN DO TRUYỀN MÁU

Nhiều báo cáo đã ghi nhận tiến triển mô học từ VG mạn do truyền máu đến xơ gan rồi đến UTTBG. Kiyosawa và cs báo cáo diễn tiến từ VG sau truyền máu cấp đến UTTBG ở 21 BN. Okuda và cs nghiên cứu 113 BN UTTBG không liên quan đến rượu: 20% không có dấu ấn VG B và 49% có dấu ấn VG B do nhiễm virut đã hồi phục. Có lẽ ít nhất 20% các trường hợp UTTBG không có dấu ấn HBV có liên quan tới VG KAKB ở Nhật. Sự suy diễn này hiện nay được chứng minh bằng huyết thanh học HCV, cho thấy một tỷ lệ cao bất thường của anti-HCV(+) ở BN UTTBG tại Nhật Bản. Các BN Nhật Bản bị UTTBG khi không có bệnh sử uống rượu hoặc HBsAg với tần suất thô của anti HCV là 70% so với một tần suất nền 1,5%. Tần suất anti-HCV cao tương tự đã được thấy ở BN UTTBG vùng Đông Âu. Tần suất anti-HCV trong các trường hợp UTTBG ở Mỹ và châu Phi không cao (30-50%), cho thấy có các đồng yếu tố di truyền hoặc môi trường ảnh hưởng đến vai trò của HCV trong phát triển UTTBG.

Sự kết hợp thật sự giữa HCV và UTTBG chưa được xác định bằng các nghiên cứu dịch tễ chặt chẽ, nhưng các trình tự HCV RNA đã được phát hiện trong cả mô

ung thư lẫn mô không ung thư trong hầu hết các trường hợp huyết thanh dương tính được khảo sát. Có lẽ HCV là tác nhân quan trọng trong phát triển UTTBG. Điều chưa hiểu rõ đây có phải là kết quả của một tác động sinh ung thư trực tiếp của virut hoặc là hậu quả của biến đổi ác tính của tế bào bị phân bào thái quá trong quá trình tái tạo sau xơ gan.

11. DỰ PHÒNG KHÁC NGOÀI SÀNG LỌC HUYẾT THANH

11.1. CAN THIỆP HÀNH VI NGUY CƠ

11.1.1. Người cho máu tình nguyện

Mặc dầu đã có các tiến bộ trong sàng lọc huyết thanh học virut VG, song biện pháp quan trong trong dự phòng VG vẫn là trực tiếp tuyển chọn người cho máu tự nguyện và có bệnh sử thích hợp. Máu thương phẩm làm tăng nguy cơ VG ít nhất 10 lần cao hơn cộng đồng chung.

11.1.2. Các câu hỏi liên quan đến hành vi nguy cơ.

Ảnh hưởng chính tới sự an toàn truyền máu là việc đưa vào các câu hỏi liên quan đến hành vi nghiện ma túy hoặc tình dục có nguy cơ cao. Những câu hỏi như thế là khá nhạy cảm để hỏi người cho máu, nhưng đại dịch AIDS đã làm thức tỉnh và các câu hỏi này đã trở thành thiết yếu, có thể chấp nhận được và được chứng minh là hiệu quả. Sự tự loại trừ trên cơ sở hướng dẫn người cho máu, trực tiếp hỏi người cho máu về các hành vi nguy cơ và khuyến khích cho máu tự thân và truyền máu hoàn hồi có thể giảm nguy cơ VG sau truyền máu khoảng 40%-60%.

11.2. CÁC CHƯNG TRÌNH TRUYỀN MÁU TỰ THÂN

Nguy cơ AIDS đã lần đầu tiên báo động cho người nhận máu và cả thầy thuốc chú ý hơn tới chương trình giảm bớt việc dùng máu tương đồng. Các thầy thuốc phải cân nhắc hơn trong y lệnh tiêm truyền, và BN sẵn sàng, khi có thể thực hiện được, cho máu của họ trước khi phẫu thuật chọn lọc. Các phương tiện dùng thu thập máu trong chương trình truyền máu tự thân được phổ cập, và ở một vài nơi đến 15% nhu cầu về máu là sản phẩm tự thân. Mặt khác, truyền máu hoàn hồi đã được chấp nhận gần như rộng rãi trong nhiều thủ thuật ngoại khoa và giảm đáng kể nhu cầu máu cùng nhóm và như thế giảm nguy cơ lây nhiễm VG và AIDS. Sự phát triển của chương trình máu tự thân và các kỹ thuật máu hoàn hồi vẫn còn nhiều khả năng phát triển.

11.3. SỰ BẤT HOẠT VIRUT

Các giới hạn kỹ thuật về độ nhạy xét nghiệm virut và độ nhạy cực cao của các động vật thực nghiệm, ở đây là người nhận máu, cho thấy các xét nghiệm huyết thanh không đủ để bảo đảm an toàn tuyệt đối trong truyền máu. Các phương tiện tối

ưu bảo vệ nguồn máu bằng cách áp dụng một tiến trình bất hoạt phổ thông sẽ phá hủy tất cả virut truyền theo đường máu. Tiến trình lý tưởng này, được gọi là "viên đạn huyền diệu" hiện liên quan đến việc bất hoạt vài sản phẩm huyết tương như yếu tố VIII, nhưng vẫn còn nhiều khó khăn vì phương pháp bất hoạt có thể đồng thời phá hủy các protein không phải là virut và các thành phần tế bào máu. Nhiều phương pháp được dùng để bất hoạt hoặc loại virut ra khỏi huyết tương, bao gồm:

11.3.1. Bất hoạt bằng nhiệt

Được chấp nhận từ lâu là phương pháp Pasteur (dung dịch đun nóng đến 60°C trong 10 giờ). Kết quả lâm sàng cho thấy phương pháp Pasteur làm albumin không còn virut VG và tác nhân retrovirut. Tuy nhiên phương pháp này có thể bất hoạt nhiều protein không ổn định và phá hủy sự toàn vẹn của các thành phần tế bào. Vì vậy cần phải bảo vệ protein không bền trong quá trình đun nóng sản phẩm. Việc đun nóng theo phương pháp Pasteur với các yếu tố đông máu đậm đặc tỏ ra an toàn ở các nghiên cứu hắc tinh tinh nhưng đôi khi không an toàn ở người. Tuy nhiên, gần đây nhiều sản phẩm đã được thực hiện ở nhiệt độ cao hơn và khoảng thời gian dài hơn (80°C trong 72 giờ) đã bất hoạt hoàn toàn HCV.

11.3.2. Các dung môi lipit hoạt động màng

Dung môi lipit và các chất tẩy phá hủy vỏ ngoài của virut có vỏ bằng lipit, như HBV, HCV, HIV đã có hiệu quả trong việc bất hoạt các tác nhân này. Kinh nghiệm tốt nhất là dùng tri-(*n*-butyl)-phosphat (TNPB) kết hợp với chất tẩy sodium cholate. Các nghiên cứu ở hắc tinh tinh đã chứng minh phương pháp này bất hoạt cả HBV và HCV trong yếu tố VIII đậm đặc.

11.3.3. Bất hoạt bằng β-propiolactone (BPL) và tia cực tím

Các phương pháp bất hoạt quang hóa học của axit nucleic hơn là gây biến chất protein (bằng nhiệt) hoặc hủy màng (dung môi/chất tẩy) khá hấp dẫn vì chúng không tác động đến sự nguyên vẹn của hồng cầu hoặc tiểu cầu. Hai phương pháp đã được dùng: gồm BPL kết hợp với ánh sáng cực tím và psoralen kết hợp với tia cực tím giải phổ rộng. Cả hai phương pháp bất hoạt một phổ rộng virut gồm RNA mạch đơn và mạch kép và cả DNA virut. BPL và psoralen kết hợp với nguồn ánh sáng thích hợp đã bất hoạt 10^4–10^5 CID_{50} HCV và HBV trong nhiều môi trường bao gồm yếu tố VIII đậm đặc và các chế phẩm prothrombin. BPL hiện được dùng ở châu Âu, nhưng chưa được cấp bằng sáng chế ở Mỹ. Psoralen/UV không được cấp bằng đối với các sản phẩm máu nhưng được chấp thuận cho trị liệu bệnh vảy nến.

Sự an toàn của một số chất đông máu đậm đặc đã giúp cho BN với bệnh ưa chảy máu A, những người trước đây nhiễm HBV, HCV và HIV do hậu quả của điều trị thay thế yếu tố đông máu thoát khỏi tình trạng nhiễm các tác nhân này. Khả năng bất hoạt

các sản phẩm tế bào máu là một loại hàng rào cuối cùng để diệt hoàn toàn các virut khỏi các sản phẩm máu. Viễn cảnh này hiện nay là hiện thực và có thể đạt được.

11.4. HIỆU QUẢ CỦA NHIG VÀ HBIG TRONG DỰ PHÒNG VG SAU TRUYỀN MÁU KIỂU B

Trước năm 1970, 11 thử nghiệm thực địa đã được thực hiện về globulin miễn dịch trong dự phòng VG sau truyền máu. Tuy nhiên, đa số công trình này được thực hiện không theo các nguyên tắc nghiêm ngặt như thử nghiệm có đối chứng, mù đôi, ngẫu nhiên.

11.4.1. Hiệu quả của NHIG và HBIG trong dự phòng VG sau truyền máu, kiểu B.

Hai thử nghiệm so sánh các hiệu quả tương đối của giả dược và globulin miễn dịch người bình thường (NHIG), một so sánh NHIG và globulin miễn dịch VG B (HBIG) và một dùng phương pháp tay 3- giả dược, NHIG và HBIG (bảng 20-5). Không kết quả nào cho thấy tác dụng có lợi của NHIG trong dự phòng VG B sau truyền máu.

Bảng 18-5. Hiệu quả của NHIG và HBIG trong dự phòng VG sau truyền máu, kiểu B.

Tham khảo	Số BN	Sàng lọc HBsAg	Tỷ lệ mắc của VG sau truyền máu		
			Giả dược	NHIG	HBIG
Kuhns và cs	195	Không	7,8	7,5	-
Knodell và cs	279	Không	1,1	1,1	0,0
Seeff và cs	2204	Không	2,6	2,1	-
Seeff và cs	969	Có	-	0,4	0,4

11.4.2. Hiệu quả NHIG và HBIG trong dự phòng VG B do tai nạn kim tiêm

Trong một nghiên cứu, Grady và cộng sự thấy trong 435 người phơi nhiễm với HBV qua kim tiêm, 9,8% trong số họ (được tiêm 2 lần 3ml HBIG nồng độ anti-HBs 1/500.000) bị nhiễm VG B so với 12,3% những người nhận NHIG (nồng độ anti-HBs 1/50), sự khác biệt không ý nghĩa. Ngược lại, nghiên cứu của Cựu Chiến binh Mỹ đã dùng 2 liều 5ml NHIG, VG B phát triển 1,4% ở người nhận HBIG (nồng độ anti-HBs 1/100.000) và trong 5,9% ở người nhận NHIG (không có anti-HBs): khác biệt này có ý nghĩa. Các phân tích tiếp theo cho thấy HBIG đã thay đổi bệnh cảnh lâm sàng, tác động qua chủng ngừa thụ-chủ động để giảm thiểu những thể VG B có vàng da. HBIG được cấp bằng ở Mỹ nhằm dự phòng VG B sau phơi nhiễm.

11.4.3. Hiệu quả của NHIG trong dự phòng VG KAKB sau truyền máu.

NHIG không có hiệu quả bảo vệ trong nghiên cứu của Kuhns và cs. Thuyên giảm có ý nghĩa chỉ ở VG vàng da ghi nhận ở người nhận NHIG trong nghiên cứu Cựu Chiến Binh Mỹ (VA), và sự giảm có ý nghĩa ở VG KAKB cấp lẫn mạn tính được Knodell và cs báo cáo. Trong nghiên cứu VA, yếu tố nguy cơ nổi trội hơn cả là

dùng máu thương phẩm. Sau khi điều chỉnh yếu tố nguy cơ này, tác dụng của NHIG không còn nữa (bảng 20-6).

Bảng 18-6. Hiệu quả của NHIG trong dự phòng VG KAKB sau truyền máu.

Tham khảo	Số BN	Tần suất VG không A không B (%)			
		Không vàng da		Có vàng da	
		Giả dược	NHIG	Giả dược	NHIG
Kuhns và cs	195	8,8	11,8	7.8	6,4
Seeff và cs	2204	7,7	6,9	1,8	0,8
Knodell và cs	279	5,3	4,9	7,4	1,1

Do kết quả không chắc chắn, dự phòng miễn dịch thụ động cho bệnh VG sau truyền máu, liên quan nhiều đến HCV, đã không được quan tâm. Tuy nhiên, một số nhà nghiên cứu nhận thấy việc gây miễn dịch thụ động đã giảm tần số VG KAKB 72,7% và giảm tiến trình bệnh gan mạn tính. Các kết quả tương tự cũng được ghi nhận từ một nghiên cứu ngẫu nhiên ở Scandinavia ở các BN mổ tim với phẫu thuật bắt cầu tim phổi. Tần suất VG ở các lô chứng (không mù đôi) là 10% và ở người nhận kháng huyết thanh ít hơn 2%.

12. TÓM TẮT

Giảm tỷ lệ VG sau truyền máu tùy thuộc vào sự ra đời của các xét nghiệm đặc hiệu và không đặc hiệu để phát hiện người mang virut cùng với việc kiểm soát tiêu chuẩn người cho máu dựa vào các hành vi nguy cơ cao, các biện pháp tâm lý xã hội, có hiệu quả hơn là các biện pháp dự phòng thụ động, đặc biệt là loại trừ người bán máu lấy tiền bắt đầu vào những năm 1970 ở các nước phát triển và những nỗ lực mạnh mẽ loại trừ người cho có nguy cơ lây nhiễm HIV trong những năm 1980. Điều may mắn là có sự trùng lặp giữa nhóm người có nguy cơ nhiễm HBV, HCV cũng như với HIV nên biện pháp loại trừ sẽ có hiệu quả cho cả ba loại bệnh.

Các số liệu tại NIH Mỹ gợi ý là tỷ lệ mắc VG sau truyền máu đã giảm trong khoảng từ 6,5% đến 8% trong những năm trước khi đưa vào sử dụng các biện pháp phòng chống. Tác động của các biện pháp liên quan đến AIDS không được trực tiếp đánh giá ở Mỹ, nhưng ở Canada, tần suất VG sau truyền máu giảm xuống từ 9% trước 1985 xuống còn 2% sau 1985. Sự giảm tỷ lệ mắc VG sau truyền máu rõ ràng không liên quan đến các biện pháp sàng lọc VG mà chủ yếu do tăng cường kiểm soát khi cho máu. Tại Mỹ, việc sử dụng ALT và anti-HBc như là xét nghiệm thay thế cho việc phát hiện người mang VG KAKB, làm giảm tần suất VG sau truyền máu xuống độ 3% trước khi có kỹ thuật sàng lọc anti-HCV. Trong một loạt nghiên cứu tương lai do NIH tiến hành, không có trường hợp VG nào được phát hiện trong hơn 600 người nhận máu từ khi sử dụng xét nghiệm anti-HCV thế hệ hai vào năm 1992.

Nguy cơ VG sau truyền máu hiện nay dưới 0,5% mỗi đợt truyền máu tương phản khá rõ với 3% đến 4% tỷ lệ mắc trước khi xét nghiệm anti-HCV, 8% đến 10% tỷ lệ mắc vào đầu thập niên 1980, 12% đến 15% tỷ lệ mắc vào thập niên 70 và gần 30% vào thập niên 60. Vấn đề cần được quan tâm tiếp theo là các yếu tố nguy cơ liên quan đến VG và AIDS: khả năng tồn tại khi bất hoạt virut trong huyết tương; khả năng phát sinh khi bất hoạt virut trong các sản phẩm tế bào máu; và khả năng áp dụng các kỹ thuật khuếch đại chuỗi gen trong sàng lọc người cho máu. Mục tiêu hạ thấp nguy cơ VG xuống bằng không trong truyền máu hiện nay là khả thi.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. **Alter HJ; Seeff LB**. Transfusion-associated hepatitis. In Zuckerman AJ, Thomas HC, editors. Viral Hepatitis. 2nd ed. London. Churchill Livingstone; 1998: 489-513.

2. **Wu JS**. Virus hepatitis (history). Revised April 10,2000. http://hometown.aol.com/chiaungo/profes/yh-histo.htm.

3. **Specter S.** Hepatitis B Vaccines. In S. Specter editor. Viral hepatitis: Diagnosis, Therapy, and Prevention.Totowa, NJ. Humana Press Inc. 1999:377-91.

Chương 19

VIÊM GAN VIRUT B VÀ D Ở TRẺ EM

Trang

1. VIRUT VG B 519
1.1. Tần suất 519
1.1.1. Trong các vùng dịch lưu hành cao 519
1.1.2. Trong các vùng dịch lưu hành trung bình 520
1.1.3. Trong các vùng dịch lưu hành thấp 520
1.2. Truyền nhiễm 520
1.2.1. Truyền nhiễm theo chiều ngang 520
1.2.2. Truyền nhiễm theo chiều dọc 520
1.3. Các đặc trưng lâm sàng 521
1.3.1. VG cấp ở trẻ em 521
1.3.1.1. Đặc điểm lâm sàng VG B cấp ở trẻ em 521
1.3.1.2. Các thể lâm sàng 521
1.3.1.3. Diễn tiến VG B cấp ở trẻ em 522
1.3.1.4. Biến chứng VG B cấp ở trẻ em 522
1.3.2. VG B mạn ở trẻ em 522
1.4. Biến đổi lâm sàng và virut học trong chuyển huyết thanh HBe Ag tự nhiên 524
1.5. Thanh thải HBsAg 525
1.6. Các yếu tố ảnh hưởng đến quá trình nhiễm HBV 525
1.6.1. Tuổi 525
1.6.2. Tình trạng HBsAg và HBeAg ở mẹ 526
1.6.3. Tình trạng miễn dịch ký chủ 526
1.6.4. Chủng virut 526
1.6.5. Ung thư tế bào gan ở trẻ em 526
1.7. Cơ chế bệnh gan do nhiễm HBV ở trẻ em 527
1.8. Điều trị 527
1.8.1. IFN-α 527
1.8.2. Lamivudine 528
1.9. Dự phòng 528
1.9.1. Globulin miễn dịch VG B và vacxin VG B 528
1.9.2. Vacxin VG B đơn thuần 529
1.9.3. Sàng lọc HBsAg ở bà mẹ mang thai 529
2. VG VIRUT D 530
2.1 Tần suất 530
2.2. Các đặc trưng lâm sàng 530
2.3. Dự phòng và điều trị 531
3. TÓM TẮT 531
TÀI LIỆU THAM KHẢO 531

1. VIRUT VG B

VG virut ở trẻ sơ sinh và trẻ em có thể do nhiều virut gây ra hình thành một nhóm bệnh lớn từ nhiễm virut cấp không triệu chứng đến viêm và hoại tử lan rộng và cuối cùng dẫn đến suy gan (bảng 19-1). Các triệu chứng và diễn tiến lâm sàng của VG chịu ảnh hưởng theo tuổi và tình trạng của hệ miễn dịch của BN. Đa số trường hợp VG virut gây nên do các virut hướng gan. Phần này mô tả các khía cạnh nhi khoa của nhiễm virut hướng gan B, D.

Bảng 19-1. Bệnh học gan trong các trường hợp nhiễm virut ở trẻ em.

Căn nguyên	Bệnh gan cấp	Suy gan tối cấp	Bệnh gan mạn	Xơ gan	Ung thư tế bào gan
Virut VG A	+	+	-	-	-
Virut VG B	+	+	+	+	+
Virut VG C	+	+	+	+	-
Virut VG D (+HBV)	+	+	+	+	-
Virut VG E	+	+	-	-	-
Cytomegalovirut (ở sơ sinh)	+	+	+	+	-
Virut Epstein-Barr	+	+	+	-	-
Virut Herpes simplex (ở sơ sinh)	+	+	-	-	-
Varicella zoster	+	+	-	-	-
Coxsackievirut	+	+	-	-	-
Adenovirut	-	+	-	-	-
Virut Rubella	-	-	-	-	-
Virut Dengue	-	+	-	-	-

Ghi chú: +, có báo cáo; -, không báo cáo

1.1. TẦN SUẤT

1.1.1. Trong các vùng dịch lưu hành cao

Đây là bệnh của thời thơ ấu trong các vùng dịch lưu hành trên thế giới như châu Phi và vùng đông nam Á, nơi mà 15-20% cộng đồng dân cư là người mang HBsAg. Truyền nhiễm theo chiều dọc từ mẹ qua con đóng góp quan trọng vào tần suất nhiễm ở trẻ em trong cộng đồng.

Tại vùng đông nam Á: nhiễm virut trong thời kỳ chu sinh hoặc sau sinh xảy ra trong 40-50% các trẻ < 1 tuổi ở Đài Loan. Nhiễm virut khi thai nhi còn trong tử cung được xác định < 5%. Trong một nghiên cứu của Chang, tỷ lệ HBsAg(+) dương vào ngày đầu tiên chào đời của trẻ có mẹ HBeAg(+) là 2,4%. Tất cả những đứa trẻ này trở thành HBsAg(+) trong thời gian theo dõi.

Tại châu Phi: nhiễm virut VG B chu sinh chỉ chiếm 1-5%. Sự khác biệt địa lý này được giải thích là người mẹ Trung Quốc có tần suất HBeAg cao (40%) hơn người mẹ châu Phi (15%). Tại châu Phi, đa số nhiễm virut mắc phải gặp ở trẻ 6

tháng đến 6 tuổi, mà các thành viên khác trong gia đình được xem như là nguồn nhiễm virut (truyền nhiễm theo chiều ngang).

1.1.2. Trong các vùng có dịch lưu hành trung bình

Vùng dịch lưu hành trung bình gồm các nước như Ý, Nhật Bản, Tây Ban Nha, Hy Lạp, Bồ Đào Nha, nơi có 2-10% cộng đồng là người mang HBsAg, nhiễm virut xảy ra ở cả người lớn và trẻ em. Tại Ý, tỷ lệ HBsAg(+) trong phụ nữ mang thai là 5% và tần suất các dấu ấn VG B ở các trẻ em dưới 11 tuổi là 1,7%.

1.1.3. Trong các vùng dịch lưu hành thấp

Bao gồm các lãnh thổ như tây bắc châu Âu, Bắc Mỹ, Anh, Australia, nhiễm virut ở trẻ dưới 1 tuổi và trẻ em ít xảy ra và dưới 1% cộng đồng có nhiễm HBV mạn. Trong những vùng này, truyền nhiễm theo chiều ngang là chủ yếu, Hai con đường quan trọng nhất của truyền nhiễm theo chiều ngang ở trẻ em vùng này là: các thành viên trong gia đình có tính lây nhiễm cao (anh chị em ruột); các ống tiêm tiệt khuẩn không thích hợp. Các nguồn nhiễm khác bao gồm các trẻ em ở các viện cứu tế, truyền máu nhiều lần hoặc với số lượng lớn.

1.2. TRUYỀN NHIỄM

1.2.1. Truyền nhiễm theo chiều ngang

Nhiễm virut do đường máu hoặc do ô nhiễm các dịch cơ thể. Kiểu truyền nhiễm là do phơi nhiễm với máu (truyền máu) hoặc phơi nhiễm qua da (dùng các dụng cụ không vô khuẩn, xâm mình, châm cứu, xỏ lỗ tai...). Sự lan truyền virut không rõ ràng có thể xảy ra qua tiếp xúc với dịch cơ thể, tổn thương da và việc dùng chung dụng cụ giữa các thành viên trong gia đình.

1.2.2. Truyền nhiễm theo chiều dọc

Truyền nhiễm mẹ con là đường truyền nhiễm quan trọng nhờ đó virut được duy trì trong cộng đồng. HBV được chứng minh hiện diện vào lúc sanh trong 2,4% các trẻ em sinh ra từ bà mẹ nhiễm virut, đây là nhiễm virut *in utero* (bảng 19-2). Một kiểu nhiễm virut quan trọng khác ở trẻ sơ sinh là nhiễm truyền hoặc nuốt phải máu hoặc dịch tiết âm đạo nhiễm virut của mẹ trong thời kỳ sổ nhau. Nguy cơ nhiễm virut từ 26-40% nếu bà mẹ chỉ có HBsAg(+) đơn thuần nhưng lên đến 90% nếu bà mẹ có HBeAg(+). Nếu bà mẹ có anti-HBe trong huyết thanh, nguy cơ truyền nhiễm virut cho trẻ em chỉ là 10-20%. Giải thích lý do này, Chun và cs cho rằng ở những người anti-HBe(+) vẫn có thể còn HBV DNA, nhưng thấp hơn 10^3 lần. Đôi khi những BN này lại có nồng độ HBV DNA rất cao như khi có tình trạng HBV tái hoạt.

Các bà mẹ VG B cấp lúc mang thai có thể truyền nhiễm virut lên đến 70% trong 3 tháng cuối thai kỳ và 90% trong 8 ngày sau sổ nhau. Nguy cơ xảy thai hoặc dị dạng không tăng. Đa số nhiễm HBV từ mẹ sang con xảy ra trong thời kỳ sổ nhau, vì

kháng nguyên huyết HBs ở trẻ sơ sinh ngày đầu tiên của cuộc sống dưới 1% và sự xuất hiện HBsAg thường vào lúc 1-2 tháng tuổi. Nuôi ăn bằng sữa mẹ không là con đường chính yếu nhiễm HBV từ mẹ sang con.

Bảng 19-2. Nguy cơ truyền nhiễm theo chiều dọc

Tình trạng người mẹ	Tỷ lệ con nhiễm HBV
Nhiễm virut bẩm sinh (in utero)	2,4
Mẹ có HBsAg(+) đơn thuần	26-40
Mẹ HBsAg và HBeAg(+)	> 90
Mẹ có anti-HBc huyết thanh	10-20
Mẹ mang thai nhiễm VG B cấp 3 tháng cuối	70
Mẹ nhiễm VG B cấp 8 ngày sau khi sổ nhau	90

1.3. CÁC ĐẶC TRƯNG LÂM SÀNG

Hơn 90% trẻ em sinh ra từ bà mẹ HBeAg và HBsAg(+) trở thành người mang mạn tính. Nhiễm virut thời kỳ chu sinh ít khi gây VG cấp vàng da hoặc VG kịch phát (VGKP).

1.3.1. VG cấp ở trẻ em

1.3.1.1. Đặc điểm lâm sàng VG B cấp ở trẻ em

Thời kỳ ủ bịnh: 60-160 ngày.

Thời kỳ tiền hoàng đản: 4-8 ngày, trẻ sốt nhẹ, mệt mỏi, chán ăn, ỉa chảy hoặc táo bón.

Thời kỳ hoàng đản: trẻ bớt sốt, vẫn chán ăn, nước tiểu vàng sẫm, phân hơi bạc màu, da vàng, củng mạc mắt vàng, gan to, ấn gan trẻ đau tức. Đối với trẻ em nhiễm VG B cấp do truyền nhiễm chu sinh hoặc truyền nhiễm theo chiều ngang, các đặc trưng lâm sàng bao gồm vàng da (97%), nước tiểu màu trà (97%), li bì (69%), biếng ăn (55%), sốt (52%) và ói mửa (45%). Các biểu hiện ngoài gan có thể có trước, gồm viêm khớp (14%) và phát ban da (10%). Viêm khớp xảy ra đối xứng và đa khớp thường ở bàn tay, khớp gối.

Thời kỳ hồi phục: các triệu chứng giảm dần, vàng da giảm dần và hết trong 2-3 tuần lễ kể từ khi xuất hiện. Toàn trạng khá lên, trẻ ăn ngon miệng, đái nhiều. ALT giảm dần từ tuần lễ thứ hai và trở về bình thường sau 2 tháng.

1.3.1.2. Các thể lâm sàng

Ngoài thể vàng da thường gặp như trên ở trẻ em còn có thể có các thể khác như:

- Thể viêm gan cấp không vàng da.

- Thể viêm gan ứ mật kéo dài.
- Thể nặng, ác tính : gan teo nhỏ, suy gan nhanh biểu hiện xuất huyết nặng, nhiễm toan máu, hôn mê, rối loạn hô hấp và tử vong nhanh

1.3.1.3. Diễn tiến VG B cấp ở trẻ em

Đa số (trên 90%) trẻ em nhiễm VG B cấp hồi phục hoàn toàn. Trong một công trình của Chow tại Hong Kong với 28 trẻ em nằm bệnh viện, tuổi từ 3 tháng đến 12 tuổi nhiễm VG B cấp, các xét nghiệm chức năng gan trở về bình thường lúc 6 tháng là 61% và sau một năm 86%; 96% thanh thải HBeAg, và chỉ có một bệnh nhi trở thành người mang mạn tính. Chuyển huyết thanh anti-HBs xảy ra sau 6 tháng trong 77% và 96% sau một năm. Cũng thế, trong 51 trẻ em người Ý (tuổi trung bình 6,3 tuổi) nhiễm VG B cấp có triệu chứng, tiến triển mạn tính chỉ ghi nhận ở 4 BN (8%) sau một năm theo dõi, 2 trong số đó được sinh ra từ một bà mẹ HBsAg(+).

1.3.1.4. Biến chứng VG B cấp ở trẻ em

Biến chứng đáng sợ nhất của nhiễm VG B cấp là VGKP, tỷ lệ dưới 1% nhưng thường gặp nhất là khi đồng nhiễm hoặc bội nhiễm với tác nhân delta (HDV). VGKP sau nhiễm HBV chu sinh xảy ra ở các trẻ từ 2-6 tháng tuổi. Các trẻ sinh ra từ người mẹ có anti-HBe(+) có một nguy cơ đặc biệt. 6/17 (35%) các trẻ em Đài Loan có VGKP được sinh ra từ mẹ HBsAg(+), 5 trong số đó có chuyển huyết thanh anti-HBe. Theo Chang, các trẻ dưới 1 tuổi bị VG B có 70% là VGKP, và VG B cấp, điều này cho thấy nguy cơ kịch phát ở trẻ dưới 1 tuổi là khá lớn. Người mẹ anti-HBe(+) là nguồn nhiễm virut chính. Vì thế, nhiều tác giả cho là các đột biến trong vùng tiền lõi của HBV DNA có thể liên quan trong bệnh sinh VG B kịch phát ở trẻ em. Tuy nhiên, một nghiên cứu gần đây báo cáo các đột biến trong 5/14 trẻ em có VGKP và 3/10 có VG cấp có triệu chứng mà không có biến chứng não. Bởi thế, các đột biến đơn thuần không thể phát triển suy gan cấp. Nếu không được ghép gan, khoảng 67% BN VG B kịch phát sẽ chết vì suy gan. Đa số trẻ bị VGKP hoặc VG cấp sẽ hồi phục hoàn toàn. Tiến triển đến xơ gan là cực kỳ hiếm.

1.3.2. VG B mạn ở trẻ em

Tình trạng mạn tính được xác định khi HBsAg không được thanh thải sau hơn 6 tháng. Xác suất phát triển nhiễm VG B mạn tăng lên nếu nhiễm virut xảy ra sớm trong cuộc sống, nếu nhiễm virut không triệu chứng, và nếu có một khiếm khuyết trong hệ miễn dịch. Hơn 70-90% trẻ em nhiễm virut trong năm đầu tiên trở thành người mang mạn tính so với một tỷ lệ từ 6-10% nếu nhiễm virut xảy ra sau năm thứ 7 trở đi (bảng 19-3). Trẻ em nhiễm HBV mạn thường không có triệu chứng. Các bất thường mô học nhẹ trong gan thuở chào đời có thể tiến triển đến tổn thương gan nặng về sau này.

Sự biến mất HBeAg xảy ra với một tỷ lệ hàng năm từ 10-16%. Trong một nghiên cứu tương lai gồm 420 người mang HBsAg ở Đài Loan, trong đó nhiễm virut được phát hiện từ dưới 1 tháng tuổi đến 17 tuổi và được theo dõi từ 1 đến 12 năm, sự mất HBsAg tự nhiên chỉ xảy ra trong chỉ 10 BN (0,6% mỗi năm). Tỷ lệ thanh thải HBsAg hàng năm ở những người anti-HBe(+) cao hơn những người có HBeAg (1,7% so với 0,4%). Trẻ em mang HBsAg mà mẹ HBsAg(-), có một tỷ lệ thanh thải HBsAg cao (5,6% so với 0,8%). Trong 78 BN được sinh thiết gan, 3/11 (27%) có VG mạn hoạt động so với 1/67 (1,5%) có các thay đổi mô học nhẹ (31 VG mạn tồn tại, 33 VG phản ứng không đặc hiệu, và 3 có mô học bình thường) trở nên HBsAg(-). Tuy nhiên, các BN HBsAg(-) có thể còn HBV DNA huyết thanh phát hiện bởi PCR.

Bảng 19-3. Tuổi nhiễm HBV liên quan với khả năng trở thành người mang HBV mạn tồn tại.

Tuổi (năm)	Tỷ lệ trở thành người mang HBV mạn tồn tại
< 1	70-90
2-3	40-70
4-6	10-40
>7	6-10

HBeAg là yếu tố quan trọng khiến bệnh nhi trở thành người mang mạn tính. Về tần suất HBeAg tại Việt Nam thuộc vào loại cao nhất. Điều này có nghĩa là một trẻ có mẹ nhiễm HBV HBeAg(+) có rất nhiều khả năng trở thành người mang mạn.

Về mức độ truyền nhiễm theo chiều dọc tại Việt Nam qua nhiều nghiên cứu như sau:

Đinh Thị Bình: nhận xét qua 1278 bà mẹ khám thai ở Viện 108 như sau: nếu bà mẹ có HBsAg(+), tỷ lệ HBsAg trong máu rốn là 21,3%. Nếu mẹ có HBsAg và HBeAg(+), tỷ lệ máu rốn của trẻ sơ sinh sẽ có HBsAg(+) 60,8%; so với bà mẹ chỉ có HBsAg(+), tỷ lệ này là 15,4%.

Nghiên cứu của tác giả Đỗ Trung Phấn cho thấy các bà mẹ có HBsAg và HBeAg(+) lây truyền HBV cho trẻ sơ sinh 67,1% sau 12 tháng tuổi so với bà mẹ chỉ có HBsAg(+) với tỷ lệ 14,6%; nguy cơ mang HBsAg ở nhóm trẻ 12 tháng tuổi sinh ra từ mẹ HBsAg và HBeAg(+) cao gấp 16,6 lần so với trẻ sinh ra từ mẹ HBsAg(+) và HBeAg(-).

Trần Thị Lợi ở TP. Hồ Chí Minh, đã theo dõi 35 em bé có mẹ HBsAg(+) và 25 em bé có mẹ HBsAg(-). Sau một năm theo dõi, các em bé có mẹ HBsAg(-) đều không có HBsAg được phát hiện trong máu. Trong khi đó, 35 em bé có mẹ HBsAg(+) thì đến 6 tháng tuổi có 14 em HBsAg(+), chiếm tỷ lệ 40% lây truyền từ mẹ sang con. Thời điểm lây truyền chủ yếu là trong và sau khi sinh. Tình trạng HBsAg(+) còn duy trì đến khi em bé được 12 tháng tuổi và 100% trẻ sơ sinh bị nhiễm HBsAg đều trở thành người mang HBsAg mạn.

Nghiên cứu về các trẻ nhiễm HBV chu sinh thấy các trẻ trai có một nguy cơ cao hơn trong phát triển tổn thương mô học tấn công với tiến triển đến xơ gan. Trong một nghiên cứu ở Đài Loan, 91% trẻ em có các thay đổi mô học trầm trọng là bé trai. Tương tự, tất cả 10 đứa trẻ người Ý nhiễm HBV mạn và xơ gan là trẻ trai, có 7 trẻ dưới 4 tuổi. Một ưu thế phái nam (76%) cũng đã được thấy ở các trẻ có UTTBG liên quan đến HBV.

Trong một nghiên cứu theo chiều dọc 51 trẻ mang HBsAg không triệu chứng (tuổi trung vị là 10 tuổi, 34 trẻ trai) được theo dõi đến 4 năm: 43 không có các đặc trưng của bệnh gan và 8 trẻ có gan to; ALT huyết thanh bình thường trong 80% lúc đầu và còn trong giới hạn bình thường ở 60% trong 4 năm. Các biểu hiện lâm sàng vắng mặt không có nghĩa là không có thay đổi bệnh học. Nhiễm HBV mạn kết hợp với các tổn thương mô học kèm theo ở 292 trẻ em người Ý: VG mạn hoạt động (57%), VG mạn tồn tại (35%), VG mạn tiểu thùy (5%), và xơ gan (3%); tuy nhiên, không có đứa trẻ nào trong 207 đứa trẻ có VG mạn phát triển thành xơ gan sau một thời kỳ theo dõi từ 1-10 năm.

Nhiễm HBV có thể có một vai trò quan trọng trong sự phát triển UTTBG ở trẻ em. Ở Đài Loan, 51 trẻ em bị UTTBG có HBsAg phát hiện được trong máu hoặc trong mô gan. Tại Đức, 7/11 (64%) các trường hợp UTTBG ở trẻ em có HBsAg(+). Các trình tự HBV DNA hòa nhập đã được tìm thấy trong các mô gan tăng sinh của các trẻ em trước đây nhiễm HBV.

1.4. BIẾN ĐỔI LÂM SÀNG VÀ VIRUT HỌC TRONG CHUYỂN HUYẾT THANH HBe Ag TỰ NHIÊN

Trẻ em nhiễm HBV mạn có HBeAg huyết thanh dương trong giai đoạn đầu nhiễm virut, trong quá trình trẻ dung nạp với HBV và thời kỳ virut sao chép rất cao. Nồng độ HBV DNA huyết thanh thường cao và trẻ có nhiều khả năng lây nhiễm và vì thế lại là một nguồn quan trọng truyền nhiễm theo chiều ngang trong gia đình và cộng đồng. ALT dao động quanh giới hạn trên bình thường hoặc chỉ tăng nhẹ so với trẻ khỏe mạnh không mang HBV. Tình trạng kháng nguyên HBe trong máu có thể kéo dài trong nhiều năm sau sơ nhiễm HBV.

Thanh thải tự nhiên HBeAg huyết thanh xảy ra dần dần cùng với tuổi của trẻ tăng lên. Sao chép virut giảm trong quá trình này, thường được báo hiệu trước bằng sự gia tăng ALT. Đỉnh của ALT có thể cao nhẹ hoặc thoáng qua. Một nồng độ ALT lớn hơn 600 IU/ml là bất thường và hiếm khi lớn hơn 1.000 IU/ml. Tiến trình chuyển huyết thanh HBeAg xảy ra âm thầm ở đa số BN trong khoảng thời gian từ 2-7 năm. Sau giai đoạn ALT gia tăng, khoảng 40% trẻ sẽ thanh thải HBeAg trong vòng một năm. Trẻ em có ALT lớn hơn 100 IU/ml và mức HBV DNA thấp hơn 1.000 pg/ml, thường chuyển huyết thanh trong 1-3 năm sau.

Trong một công trình của Chang, chuyển huyết thanh HBeAg hàng năm là 4-5% ở trẻ trên 3 tuổi và dưới 2% ở trẻ < 3 tuổi. Tỷ lệ thanh thải HBeAg rất thấp trước 3 tuổi, nhất là trẻ dưới 1 tuổi, có lẽ do dung nạp miễn dịch đối với HBcAg và HBeAg ở trẻ nhiễm virut. Dung nạp miễn dịch do HBeAg qua nhau đã được chứng minh bởi sự vắng mặt của đáp ứng tế bào T đối với HBcAg ở trẻ của các bà mẹ HBeAg và HBsAg(+), trong khi tế bào lympho T ở trẻ VG cấp mà mẹ HBeAg(-) HBsAg(+) đáp ứng rất tốt với HBcAg.

Sau khi thanh thải HBeAg, ALT trở về bình thường và anti-HBe phát triển. Trong nghiên cứu của Chang, HBV DNA chỉ được phát hiện trong 1% huyết thanh có anti-HBe, nhưng khi dùng PCR thì thấy 87% trẻ có HBV DNA phát hiện được bởi PCR trong vòng 5 năm theo dõi và trong 58% các trường hợp 10 năm sau chuyển huyết thanh.

Bùng phát cấp với tái hoạt sao chép HBV và ALT tăng trở lại hiếm gặp ở trẻ. Tổn thương gan lâu dài đã xảy ra và hoà nhập bộ gen HBV xuất hiện âm thầm dù đã thanh thải HBeAg. Phát triển xơ gan hoặc UTTBG đôi khi xảy ra, nhưng hiếm gặp ở trẻ nhỏ. Đa số các trẻ này anti-HBe huyết thanh dương (khoảng 80%).

1.5. THANH THẢI HBsAg

Trong nghiên cứu tương lai của Chang về các đứa trẻ HBsAg(+), tỷ lệ thanh thải HBsAg hàng năm khá thấp (0,56%), chỉ xảy ra sau khi thanh thải HBeAg. Sau khi mất HBsAg, kháng thể anti-HBs còn thấp và thường không phát hiện được (0 đến 100 mIU/ml). Cơ chế nền của đáp ứng anti-HBs kém ở những người HBsAg(+) và những người mất HBsAg thuộc về nhiều yếu tố, bao gồm sự thất bại trình diện kháng nguyên đặc hiệu hoặc hoạt hóa tế bào T, hoặc khiếm khuyết đáp ứng kiểu tế bào T giúp đỡ (Th2) đối với HBsAg. Chủng ngừa không ích lợi gì.

1.6. CÁC YẾU TỐ ẢNH HƯỞNG ĐẾN QUÁ TRÌNH NHIỄM HBV

1.6.1. Tuổi

Tuổi là một yếu tố quyết định quan trọng của hậu quả nhiễm HBV. Tuổi nhiễm HBV càng trẻ, tỷ lệ trở thành mạn tính càng cao. Tuổi cũng là yếu tố quan trọng ảnh hưởng đến tỷ lệ chuyển huyết thanh HBeAg. Trước 3 tuổi, tỷ lệ thanh thải HBeAg tự nhiên khá thấp (< 2% mỗi năm), nhưng tăng dần đến độ 5% mỗi năm sau 3 tuổi. Tuổi chuyển huyết thanh HBeAg xảy ra tùy theo từng cá nhân riêng biệt, từ dưới 1 tuổi cho đến hơn 40 tuổi, nhưng thường gặp nhất là từ 15-30 tuổi. Trước 15 tuổi, đa số trẻ HBsAg(+)có HBeAg huyết thanh dương (85% ở Đài Loan). Trong khi tuổi tăng lên, HBeAg thanh thải dần dần và phát triển anti-HBe.

1.6.2. Tình trạng HBsAg và HBeAg ở mẹ

Yếu tố thứ hai ảnh hưởng đến tỷ lệ chuyển huyết thanh HBeAg ở trẻ em là tình trạng HBsAg và HBeAg của mẹ. Tình trạng nhiễm virut của mẹ phản ánh truyền nhiễm chu sinh hoặc gây nhiễm sớm, sẽ dẫn đến một khoảng thời gian thanh thải miễn dịch dài hơn đối với HBV. Trẻ em có mẹ HBsAg(+) có một tỷ lệ thanh thải HBeAg thấp hơn những trẻ có mẹ HBsAg(-).

1.6.3. Tình trạng miễn dịch ký chủ

Ở trẻ bị tổn thương miễn dịch, một khi nhiễm virut, trẻ có khuynh hướng nhiễm virut tồn tại. VG ứ mật xơ hóa với một quá trình kịch phát có thể phát triển ở trẻ em nhiễm HBV mạn sau ghép cơ quan hoặc tủy xương.

1.6.4. Chủng virut

Vai trò của các đột biến HBV trong hậu quả nhiễm virut còn nhiều bàn cãi ở trẻ em. Để nghiên cứu vai trò đột biến codon kết thúc tiền lõi HBV, Chang đã nghiên cứu tương lai 80 trẻ nhiễm HBV mạn từ tình trạng HBeAg(+) chuyển thành tình trạng anti-HBe(+). Trong thời kỳ HBeAg(+) ban đầu, 90% trẻ có HBV kiểu nguyên sinh và 10% có các chủng hỗn hợp với ưu thế kiểu nguyên sinh. Ngay trước khi chuyển huyết thanh HBeAg (huyết thanh HBeAg(+) cuối cùng), 75% trẻ có kiểu nguyên sinh và 25% có chủng hỗn hợp (ưu thế là kiểu nguyên sinh trong 83% của trẻ có chủng hỗn hợp). Ngay sau khi chuyển huyết thanh HBeAg, HBV DNA không phát hiện được bằng PCR trong 11% trẻ em; 63% có kiểu nguyên sinh và 23% có chủng hỗn hợp. Vào cuối kỳ theo dõi HBV DNA không phát hiện được ở 10% trẻ: 51% có kiểu nguyên sinh, 21% có chủng hỗn hợp và 15% có chủng đột biến.

Sau chuyển huyết thanh HBeAg, HBV kiểu nguyên sinh còn hiện diện ở phân nửa các trẻ em nhiễm HBV mạn, tuy HBV DNA có thể rất thấp. Trong quá trình theo dõi, đột biến codon kết thúc tiền lõi HBV có thể gặp ở trẻ em của bà mẹ không nhiễm virut. Các trẻ có mẹ HBsAg(+) có khuynh hướng giữ HBV kiểu nguyên sinh dù sau chuyển huyết thanh HBeAg. Các trẻ có chủng đột biến thường có ALT cao trong quá trình chuyển huyết thanh HBeAg.

1.6.5. Ung thư tế bào gan ở trẻ em

UTTBG là một trong mười ung thư thường gặp nhất trên thế giới. Trong những vùng có dịch lưu hành HBV cao, UTTBG không hiếm gặp ở trẻ em; ở Đài Loan tỷ lệ HBsAg huyết thanh đạt gần 100% ở trẻ bị UTTBG. UTTBG liên quan đến nhiễm HBV mạn có thể xảy ra sớm hơn ở những người nhiễm HBV từ lúc nhỏ so với những người nhiễm vào lúc trưởng thành. Hòa nhập HBV DNA đã được phát hiện ở mô gan của trẻ nhiễm HBV mạn và UTTBG, gợi ý rằng hòa nhập HBV DNA vào bộ gen ký chủ có thể xảy ra ở trẻ em.

1.7. CƠ CHẾ BỆNH GAN DO NHIỄM HBV Ở TRẺ EM

Điều chưa rõ tại sao một vài BN tiến triển đến tình trạng mạn tính trong khi những người khác thanh thải HBV sau một nhiễm virut cấp. Các tế bào lympho nhiễm virut có thể không có khả năng làm tăng một đáp ứng miễn dịch bình thường. Điều này gợi ý rằng các cytokin phóng thích bởi các tế bào T hoạt hóa virut có thể giữ một vai trò quan trọng trong thanh thải virut qua tuyến mộ và hoạt hóa các tế bào (như đại thực bào, bạch cầu trung tính và các tế bào giết tự nhiên). Sự hiện diện của các tế bào T ức chế đặc hiệu HBsAg có thể tạo ra tình trạng không đáp ứng đối với HBsAg ở người mang mạn tính. Cũng có vài bằng chứng khiếm khuyết di truyền hoặc mắc phải trong việc sản xuất interferon. Trong VG B mạn, các hạt virut không toàn vẹn được sản xuất dư thừa. Đột biến tự nhiên trong bộ gen có thể giải thích các biến dị trong biểu hiện bệnh. Các tế bào đơn nhân máu dây rốn của trẻ sơ sinh sinh ra từ người mẹ HBeAg(+) đã được chứng minh là không tăng sinh trong đáp ứng đối với HBeAg, cho thấy phơi nhiễm xuyên qua nhau thai đối với HBeAg tạo nên tính không đáp ứng trong hệ miễn dịch thai nhi đang phát triển. HBeAg chứa nhiều đồng dạng trình tự với HBcAg, mục tiêu chính của tế bào T gây độc tế bào bao gồm tổn thương tế bào gan dẫn đến thanh thải HBV.

Nhiễm HBV mạn thường gặp ở các bệnh nhi suy giảm miễn dịch, hội chứng Down, ung thư máu, viêm đa động mạch nút, và nhiều bệnh cầu thận khác. BN bị ức chế miễn dịch (như những người cần thẩm tách thận hoặc đang dùng các thuốc gây độc tế bào) có thể có các đáp ứng sai lạc đối với nhiễm virut (như nhiễm HBV bên trong gan không có các dấu ấn huyết thanh) và nghiêng về các bùng phát cấp hoặc mạn tính.

1.8. ĐIỀU TRỊ

Mục tiêu của điều trị là trừ tiệt virut và giảm thiểu bệnh gan nền. Ở trẻ em cũng như người lớn, thành công trong điều trị hiện nay được đánh giá qua các tỷ lệ thanh thải HBeAg và chuyển huyết thanh đối với anti-HBe, hiếm khi đối với anti-HBs.

1.8.1. IFN-α

Chỉ có IFN-α được đánh giá trong các nghiên cứu có đối chứng. Trong đánh giá, điều quan trọng là sự khác nhau trong các tỷ lệ sao chép virut và đặc biệt trong hoạt tính bệnh ở các BN được điều trị. Thí dụ như các trẻ em được báo cáo trong các nghiên cứu ở Tây Ban Nha có bệnh hoạt động về mặt mô học và các mức ALT cao lúc khởi đầu điều trị, trong khi trẻ em Trung Quốc có mô học gan bất hoạt và các mức ALT thấp. Tỷ lệ chuyển huyết thanh tự nhiên ở nhóm sau thường thấp. IFN-α có tác dụng gia tăng tỷ lệ thanh thải HBeAg tự nhiên.

Một nghiên cứu đối chứng ngẫu nhiên nhỏ ở trẻ em châu Âu, dùng IFN-α với liều không điều chỉnh theo diện tích cơ thể trong 12 tháng, không thấy cải thiện tỷ lệ thanh thải virut.

Các cố gắng nhằm cải thiện tốt chuyển huyết thanh đã dùng một phối hợp prednisolone và sau đó là IFN-α. Trong một thử nghiệm IFN-α có đối chứng với hoặc không điều trị trước bằng prednisolone được thực hiện trong 90 trẻ em Trung Quốc (từ 2-17 tuổi) các kết quả tốt hơn với sự kết hợp prednisolone trong 6 tuần, sau đó dùng IFN-α trong 16 tuần. Trong nghiên cứu này, chỉ có một BN trong nhóm prednisolone-IFN và một trong nhóm chứng có tăng ALT trước điều trị và bởi thế chuyển huyết thanh tự nhiên là không thể. Trong một nghiên cứu tương tự được hướng dẫn trong 95 trẻ em, các BN được chọn ngẫu nhiên không kể đến nồng độ ALT, IFN-α dạng nguyên bào lympho người trong 12 tuần được cho sau tiền điều trị corticoit hoặc giả dược cho thấy 35% chuyển huyết thanh anti-HBe trong nhóm điều trị so với 13% trong lô chứng không điều trị và lợi ích do tiền điều trị corticoit không được chứng minh.

1.8.2. Lamivudine

BN nhiễm HBV chu sinh hoặc nhiễm HBV rất sớm trong đời, có ALT bình thường và có chủng đột biến tiền lõi, là những người đáp ứng kém với IFN, các BN này thường đáp ứng với lamivudine vì khác với IFN, lamivudine phong tỏa sự sao chép HBV trực tiếp bằng cách ức chế HBV polymerase. Gần đây lamivudine được báo cáo là an toàn và hiệu quả khi dùng ở bệnh nhi tuổi từ 2 đến 12 tuổi VG B mạn. Chuyển huyết thanh do IFN được chứng minh kết hợp với giảm tỷ lệ các biến chứng ở gan. Hiện chưa có nghiên cứu nào dài hơi để chứng minh lamivudine giảm các hậu quả về gan như IFN. Thời gian điều trị tối ưu của lamivudine hiện chưa rõ. Một nghiên cứu gần đây ở châu Á cho thấy chuyển huyết thanh tăng dần khi điều trị bằng lamivudine. Mặt khác, sự xuất hiện các đột biến YMDD không ngăn chặn chuyển huyết thanh và không làm xấu đi đáng kể chỉ số hoạt tính mô học (HAI). Sự thanh thải miễn dịch không có ở trẻ em có thể gia tăng thải loại các tế bào gan nhiễm virut, do đó các thuốc ức chế sao chép virut như lamivudine cần được dùng lâu dài để làm giảm gánh tế bào gan nhiễm virut và ngăn ngừa tái phát.

Liệu pháp lamivudine dung nạp tốt với nhiều liều lượng khác nhau mà không có tác dụng có hại nào đáng kể. Trên cơ sở dược động học, liều 3 mg/kg/ngày ở trẻ em (tuổi từ 2 đến 12) VG B mạn cũng tương tự như liều 100 mg ở người lớn.

1.9. DỰ PHÒNG

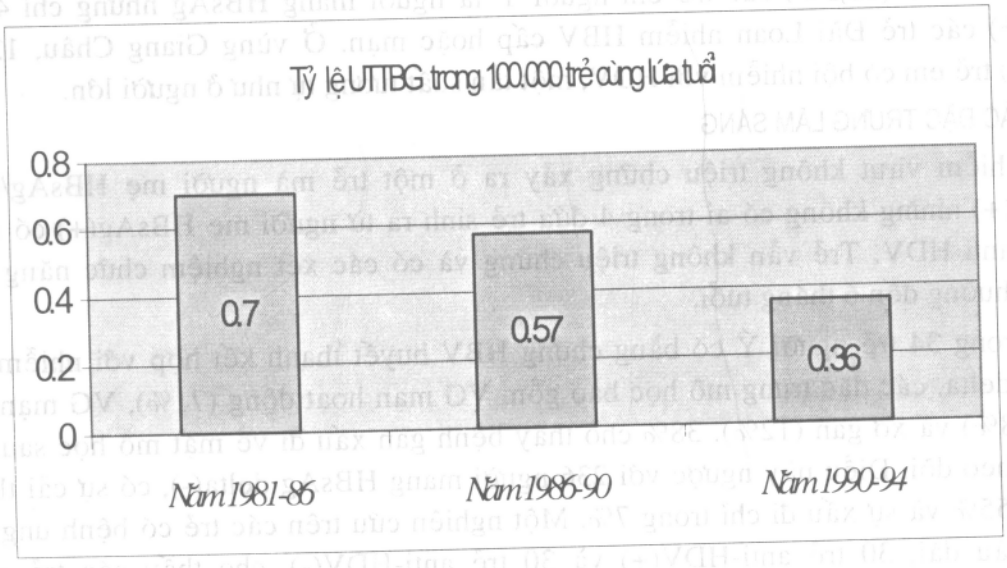
1.9.1. Globulin miễn dịch VG B và vacxin VG B

Việc dùng globulin miễn dịch VG B thụ động trong vòng 12 giờ sau sanh có thể hiệu quả 50-90%, dự phòng chủ động với vacxin VG B có hiệu quả 75-90% và kết hợp cả hai vừa dự phòng chủ động và thụ động hiệu quả sẽ là trên 90%. Liều vacxin đầu tiên quá 7 ngày thường kết hợp với nguy cơ nhiễm virut tăng lên. Tại Đài Loan, tần suất của HBsAg ở trẻ em dưới 5 tuổi đã giảm từ 9,3% (1984) xuống còn 1,3% (1994); tỷ lệ mắc hàng năm trung bình của UTTBG ở trẻ em tuổi từ 6-14 giảm từ

0,70 trong 100.000 trẻ năm 1981-86 xuống 0,57 giữa năm 1986-90 và 0,36 năm 1990-94. Đây là thành quả của chương trình tiêm chủng VG B toàn dân.

1.9.2. Vacxin VG B đơn thuần

Các nghiên cứu đã cho thấy vacxin VG B đơn thuần được cho 3 hoặc 4 liều trong năm đầu tiên của cuộc sống có hiệu quả trong dự phòng truyền nhiễm chu sinh. Lược đồ dự phòng có quan hệ quan trọng về kinh tế đối với các nước không đủ khả năng dùng globulin miễn dịch VG B. Tại Gambia, nơi đa số nhiễm virut xảy ra sau 5 tháng tuổi, tần suất nhiễm HBV ở các trẻ em từ 1 đến 14 tuổi sau chủng ngừa toàn dân với vacxin đơn thuần đã giảm từ 60% (474/791) năm 1984 xuống còn 9% (57/629) năm 1993. Chủng ngừa HBV hòa nhập vào chương trình chủng ngừa trẻ em thường qui (như DPT) có thể là biện pháp có lãi nhất trong dự phòng nhiễm virut.



***Hình 19-1**. Thành quả dự phòng UTTBG tại Đài Loan.*

1.9.3. Sàng lọc HBsAg ở bà mẹ mang thai

Trong các khu vực dịch lưu hành thấp, chính sách khuyến cáo hiện nay là sàng lọc HBsAg ở tất cả các bà mẹ mang thai. Trẻ sơ sinh của bà mẹ HBsAg(+), có hoặc không có HBeAg(+), phải được chủng vacxin HBV và globulin miễn dịch đặc hiệu. Đối với trẻ sinh ra từ các bà mẹ HBsAg(-), vacxin HBV được khuyến cáo. Tuy nhiên, chủng ngừa phổ thông là biện pháp hiệu quả duy nhất để loại trừ nhiễm virut.

Đối với trẻ em đã được chủng ngừa đầy đủ, mức độ anti-HBs bảo vệ tồn tại đến 8 năm. Một đáp ứng "nhớ lại" đủ, đa số thường là 4 năm, đã được chứng minh ở các trẻ được chủng ngừa mà nồng độ anti-HBs đã giảm xuống dưới mức độ bảo vệ. Thế nên, vấn đề là nên khuyến cáo các liều văc-xin HBV nhắc lại sau 5 năm.

Vacxin không hiệu quả ở trẻ em nhiễm virut trong bụng mẹ và HBsAg(+) ngay khi sinh. Cũng thế, các chủng đột biến HBV có thể gây nhiễm HBV sau chủng ngừa.

2. VG VIRUT D

2.1 TẦN SUẤT

Nhiễm HDV thay đổi theo từng địa phương. Vai trò của các yếu tố môi trường, di truyền hoặc chủng HBV chưa được rõ. Trong lưu vực Amazon ở Brazil, các tỷ lệ nhiễm virut tăng theo tuổi từ 5% ở trẻ em dưới 10 tuổi và 26% ở các trẻ từ 10-14 tuổi và > 40% trên 15 tuổi. Ở Venezuela, người Yucpa Indian có tần suất HDV biến đổi đáng kể cao nhất ở các đối tượng từ 15-19 tuổi (44%) và sau đó thấp dần ở các trẻ từ 5-14 tuổi (38%), > 24 tuổi (18%) và < 5 tuổi (14%). Nhiễm HDV được chứng minh trong 34/270 (12,5%) các trẻ em người Ý là người mang HBsAg nhưng chỉ 4/247 (1,6%) các trẻ Đài Loan nhiễm HBV cấp hoặc mạn. Ở vùng Giang Châu, 13,6% (6/44) trẻ em có bội nhiễm với HDV, một tần suất tương tự như ở người lớn.

2.2. CÁC ĐẶC TRƯNG LÂM SÀNG

Nhiễm virut không triệu chứng xảy ra ở một trẻ mà người mẹ HBsAg/anti-HDV(+) nhưng không có ai trong 4 đứa trẻ sinh ra từ người mẹ HBsAg(+) có anti-HBe/anti-HDV. Trẻ vẫn không triệu chứng và có các xét nghiệm chức năng gan bình thường đến 6 tháng tuổi.

Trong 34 trẻ người Ý có bằng chứng HBV huyết thanh kết hợp với nhiễm tác nhân delta, các đặc trưng mô học bao gồm VG mạn hoạt động (71%), VG mạn tồn tại (18%) và xơ gan (12%). 38% cho thấy bệnh gan xấu đi về mặt mô học sau 2-7 năm theo dõi. Điều này ngược với 236 người mang HBsAg delta(-), có sự cải thiện trong 55% và sự xấu đi chỉ trong 7%. Một nghiên cứu trên các trẻ có bệnh ung thư máu lâu dài, 30 trẻ anti-HDV(+) và 30 trẻ anti-HDV(-), cho thấy các trẻ anti-HDV(+) có ALT cao một cách ý nghĩa 3 năm sau ngưng hóa trị liệu và bằng chứng mô học của VG mạn hoặc xơ gan thường gặp hơn, gợi ý rằng nhiễm HDV là nguyên nhân chủ yếu gây tổn thương gan (VG mạn, xơ gan) và là một yếu tố tiên lượng xấu ở những bệnh nhi ung thư máu.

Tại lưu vực Amazon, nhiễm virut delta được chứng minh trong 74% các BN VGKP (VG Labrea) và trong 100% các BN VG B mạn. 32/44 (73%) các trường hợp VGKP là ở trẻ em dưới 15 tuổi, 31 trong số đó là bé trai. Trong một nghiên cứu tương tự, 44 trẻ mang HBsAg virut delta(-) được theo dõi từ 1 đến 5 năm; trong số các trẻ này, 4 trẻ dưới 10 tuổi trở nên bội nhiễm với HDV và 3 trẻ phát triển VGKP, trong đó tử vong 2. Các nghiên cứu sau tử vong ở các BN VGKP cho thấy hoại tử bạch cầu ái toan và thoái hóa mỡ vi nang trong gan. Một kiểu VGKP có cùng các đặc trưng lâm sàng và mô học đã được mô tả ở Colombia (VG Santa Masta) trong 81 BN, với đa số (63%) là nam và trẻ em dưới 15 tuổi (58%). Kháng

nguyên delta được chứng minh trong gan kết hợp với thoái hóa mỡ vi nang, hoại tử hạt bạch cầu ái toan, viêm tế bào lympho khoảng cửa và các tế bào phôi dâu (morula) trong 69% trường hợp.

2.3. DỰ PHÒNG VÀ ĐIỀU TRỊ

Không có điều trị đặc hiệu đối với nhiễm HDV. Vì nguy cơ nhiễm HDV lớn nhất xảy ra ở người mang HBV, nhiễm HDV có thể được dự phòng bằng cách chỉ dùng máu hoặc các sản phẩm máu anti-HDV(-) cho những người nhận HBsAg(+). Chủng ngừa HBV giúp dự phòng và hạn chế lan truyền HDV.

3. TÓM TẮT

Về VG B: theo nhiều nghiên cứu ở đông nam châu Á, nhiễm virut trong thời kỳ chu sinh hoặc sau sinh xảy ra trong 40-50% các trẻ dưới 1 tuổi; trẻ nhiễm HBV chu sinh sẽ trở thành người mang mạn tính với tỷ lệ trên 90% và gần 40% số trẻ này sẽ phát triển UTTBG nhiều năm sau đó. Ở bệnh nhi châu Á, một khi đã trở thành mạn tính, tỷ lệ thanh thải HBsAg hàng năm khá thấp (0,56%) và chỉ xảy ra sau khi thanh thải HBeAg. Dự phòng VG B với globulin miễn dịch VG B trong vòng 12 giờ sau sanh có thể hiệu quả 50-90%, dự phòng chủ động với vacxin VG B có hiệu quả 75-90% và nếu kết hợp cả hai thì hiệu quả sẽ trên 90%. Trẻ sơ sinh của bà mẹ HBsAg(+), có hoặc không có HBeAg(+), phải được chủng vacxin HBV và globulin miễn dịch đặc hiệu. Đối với trẻ sơ sinh có mẹ HBsAg(-), vacxin HBV được khuyến cáo. Tuy nhiên, chủng ngừa phổ thông là biện pháp hiệu quả nhất để loại trừ nhiễm HBV. Gần đây lamivudine được báo cáo là an toàn và hiệu quả khi dùng ở bệnh nhi tuổi từ 2 đến 12 tuổi VG B mạn.

Về VG D: nhiễm HDV ở trẻ em ở vùng châu Á có thể thấp hơn các khu vực khác. Chủng ngừa HBV giúp dự phòng và hạn chế lan truyền HDV. Không có điều trị đặc hiệu đối với nhiễm HDV dù có báo cáo về việc dùng IFN-α thành công ở một vài trường hợp VG D.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. **Gregorio GV**. Neonatal and Pediatric Infection. In Zuckerman AJ, Thomas HC, editors. Viral Hepatitis. 2nd ed. London. Churchill Livingstone; 1998: 547-68.
2. **Châu Hữu Hầu**. Nghiên cứu một số đặc điểm dịch tễ học nhiễm virút viêm gan trong cộng đồng dân cư tại huyện Tân Châu, Tỉnh An Giang. Luận An PTS khoa học y dược. Học viện Quân Y. Hà Nội. 1995.
3. **Lã Thị Nhẫn**. Nghiên cứu nhiễm virut viêm gan B và virus viêm gan C trên một số nhóm người ở miền Nam Việt Nam để góp phần tìm nguồn cho máu. Luận An PTS khoa học y dược. Trường Đại học Y Hà Nội. Hà Nội. 1995.

4. **Đỗ Trung Phấn, Vũ Thị Tường Vân, Phạm Song, Nguyễn Xuân Quang, Cao Thị Thanh Thủy.** Mối liên quan giữa HBeAg và khả năng lây truyền của virut viêm gan B (HBV) từ mẹ sang con. Y học thực hành, số 7/1996, tr 12-14.

5. **Đinh Thị Bình, Vũ Băng Đình, Nguyễn Anh Tuấn, Nguyễn Kim Nữ Hiếu.** Nhiễm virut viêm gan B (HBV) ở các bà mẹ có thai và vai trò của các dấu ấn HBV trong đường lây này. Y học thực hành, số 9/1996, tr 24-26.

6. **Chen DS.** Public health measures to control hepatitis B virus infection in the developing countries of the Asia-Pacific region. J Gastroenterol and Hepatol, 2000 (15) Suppl. E7-E10.

7. **Trần Thị Lợi.** Lây truyền virút viêm gan B từ mẹ sang con. Khả năng dự phòng. Luận An PTS khoa học y dược. Trường DHY Dược. TP. HCM. 1995.

8. **Maynard JE.** Hepatitis B: Global importance and need for control. Geneva 23-24 Feb., 1989, Vaccine, Vol. 8, Sup, 1990, S18-S20.

9. **Chu CM.** Natural history of chronic hepatitis B virus infection in adults with emphasis on the occurrence of cirrhosis and hepatocellular carcinoma. J Gastroenterol and Hepatol, 2000 (15) Suppl. E25-E30.

10. **Chang MH.** Natural history of hepatitis B virus infection in children. J Gastroenterol and Hepatol, 2000 (15) Suppl. E16-E19.

11. **Chow-CB; Lau-TT; Leung-NK; Chang-WK.** Acute viral hepatitis: aetiology and evolution. Arch-Dis-Child. 1989 Feb; 64(2): 211-3.

12. **Shiraki K.** Perinatal transmission of hepatitis B virus and its prevention. J Gastroenterol and Hepatol, 2000 (15) Suppl. E11-E15.

13. **Chun YK; Kim JY; Woo HJ; Oh SM; Kang I; Ha J; Kim SS.** No significant correlation exists between core promoter mutations, viral repliacation, and liver damage in chronic hepatitis B infection. Hepatology 2000; 32:1154-1162.

14. **Đinh Thị Bình, Vũ Bằng Đình, Nguyễn Anh Tuấn, Nguyễn Kim Nữ Hiếu, Phạm Thu Hà.** Một số nhận xét về tình hình nhiễm virut viêm gan B (HBV) ở sản phụ và trẻ sơ sinh. Mối liên quan dịch tễ giữa mẹ và con. Nhi khoa 1996, số 1, tập 5, tr 23-25.

15. **Wallis DE; Boxall EH.** Immunisation of infants at risk of perinatal transmission of hepatitis B: retrospective audit of vaccine uptake. BMJ 1999 24 April; 318:1112-1113.

16. **Kocak N; Saltik IN; Yuce A; Gurakan F.** Lamivudine treatment for children with interferon refreactory chronic hepatitis B. Hepatology Vol 32, No, 2000:1180.

17. **Sokal-EM; Roberts-EA; Mieli-Vergani-G; McPhillips-P; Johnson-M; Barber-J; Dallow-N; Boxall-E; Kelly-D.** A dose ranging study of the pharmacokinetics, safety, and preliminary efficacy of lamivudine in children and adolescents with chronic hepatitis B. Antimicrob-Agents-Chemother. 2000 Mar; 44(3): 590-7.

Chương 20

CÁC KHÍA CẠNH NGHỀ NGHIỆP CỦA VIÊM GAN B VÀ D

Trang

1. NGUY CƠ TRUYỀN NHIỄM NGHỀ NGHIỆP CỦA VG B 533
1.1. Nguy cơ trong các nhóm nhân viên chăm sóc sức khỏe (NVCSSK) 534
1.1.1. Nguy cơ nghề nghiệp ở những nước có tần suất VG B lưu hành thấp 534
1.1.2. Nguy cơ nghề nghiệp ở những nước có tần suất VG B lưu hành cao 536
1.1.3. Tình hình VG B nghề nghiệp ở Việt Nam 536
1.2. Nguy cơ VG B ở những nghề nghiệp liên quan với NVCSSK 537
1.3. Nguy cơ VG B ở những nghề nghiệp khác 538
1.4. Các kiểu truyền nhiễm nghề nghiệp của VG B 538
1.4.1. Nhiễm truyền máu nhiễm virut 538
1.4.2. Các dịch cơ thể khác 540
1.4.3. Nhiễm VG B qua khí dung 541
1.5. Nguy cơ truyền nhiễm nghề nghiệp của VG B 541
1.5.1. Tần suất của những người mang HBV trong cộng đồng BN 541
1.5.2. Tần số của các phơi nhiễm máu trong NVCSSK 542
2. NGUY CƠ TRUYỀN NHIỄM CỦA VG B TỪ CÁC NHÂN VIÊN NHIỄM VIRUT 543
2.1. Bằng chứng của truyền nhiễm VG B từ các NVCSSSK nhiễm HBV 544
2.2. Nguy cơ truyền nhiễm VG B từ NVCSSK nhiễm virut 545
3. DỰ PHÒNG TRUYỀN NHIỄM NGHỀ NGHIỆP CỦA VG B 546
3.1. Thực hành an toàn trong dự phòng lây nhiễm nghề nghiệp của VG B 547
3.2. Các chương trình tiêm chủng VG B 549
4. XỬ TRÍ 553
4.1. Xử trí các sự cố phơi nhiễm máu 553
4.2. Xử trí các NVCSSK nhiễm VG B 555
5. NGUY CƠ TRUYỀN NHIỄM NGHỀ NGHIỆP CỦA VG D 556
6. TÓM TẮT 556
TÀI LIỆU THAM KHẢO 557

1. NGUY CƠ TRUYỀN NHIỄM NGHỀ NGHIỆP CỦA VG B

Virut VG là một nguyên nhân quan trọng của bệnh nhiễm khuẩn nghề nghiệp. Mối nguy nghề nghiệp tăng cao do giai đoạn người mang thường kéo dài và người nhiễm virut có bề ngoài tương đối khỏe mạnh nhưng lại có khả năng truyền bệnh. VG B được biết như một nguy cơ nghề nghiệp trong một số nghề và những người

nhiễm có thể truyền virut cho người khác trong khi hành nghề. VG virut liên quan đến nghề nghiệp bao gồm việc tìm hiểu các vấn đề sau:

- Các nguy cơ truyền nhiễm nghề nghiệp.
- Kiểu truyền nhiễm của VG trong môi trường nghề nghiệp
- Các khía cạnh lý thuyết và thực hành của dự phòng truyền nhiễm nghề nghiệp
- Xử trí các BN VG liên quan với công việc của họ.

VG B và nghề nghiệp có khá nhiều bằng chứng trong khi các loại virut VG khác có bằng chứng ít hơn. Truyền nhiễm được biết xảy ra do tiếp xúc tình dục; do dùng chung ống tiêm, kim tiêm ở người tiêm chích ma túy; do truyền máu nhiễm virut và do tai nạn phơi nhiễm đối với máu hoặc dịch cơ thể khác nhiễm virut. Truyền nhiễm do phơi nhiễm với máu là rất dễ xảy ra trong môi trường nghề nghiệp.

1.1. NGUY CƠ TRONG CÁC NHÓM NHÂN VIÊN CHĂM SÓC SỨC KHỎE (NVCSSK)

1.1.1. Nguy cơ nghề nghiệp ở những nước có tần suất VG B lưu hành thấp

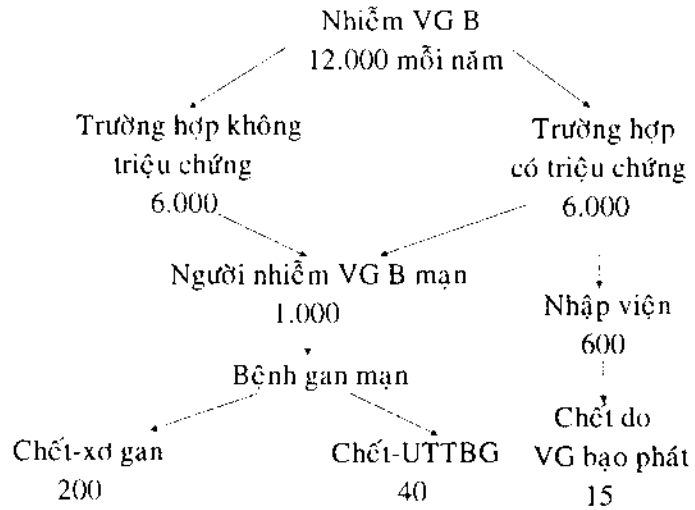
Một số các khảo sát đã cho thấy tần suất các dấu ấn VG B gia tăng ở người lao động phơi nhiễm với máu và các dịch cơ thể, đặc biệt là những NVCSSK. West đã xem lại bằng chứng từ các nghiên cứu tần suất huyết thanh ở Mỹ và kết luận:

- Nguy cơ toàn bộ đối với những người làm việc trong các lãnh vực liên quan đến sức khỏe cao hơn cộng đồng chung gấp 4 lần ở người lớn.
- Bác sĩ và nha sĩ có từ 5 đến 10 lần nguy cơ so với cộng đồng chung
- Các các nhóm có trên 10 lần nguy cơ bao gồm các phẫu thuật viên, các nhân viên lâm sàng ở các đơn vị thẩm tách máu và các trung tâm chăm sóc trẻ thiểu năng tâm thần, và các nhân viên phòng thí nghiệm t
- Tiếp xúc thường xuyên với các mẫu máu.

Nhiều nghiên cứu gần đây đã xác nhận các phát hiện này. Tần suất của các dấu ấn VG B trong một nhóm thầy thuốc cấp cứu độ 5 lần lớn hơn cộng đồng chung ở Mỹ. Nguy cơ không giới hạn ở những NVCSSK trong một vùng thành thị; các nhân viên có tiếp xúc thường xuyên với máu trong các bệnh viện cộng đồng ở Mỹ cũng có các dấu ấn nhiễm VG B. Một nghiên cứu về các nhân viên trong 5 bệnh viện đưa ra một tần suất chung của các dấu ấn VG B là 14%, liên quan đến giới tính, chủng tộc, tuổi tác, thường tiếp xúc với máu và số lần tai nạn kim tiêm. Nguy cơ nhiễm VG B khá cao ở các phẫu thuật viên miệng ở Mỹ đã được xác định trong một nghiên cứu tần suất với 434 cá thể; 26% có bằng chứng nhiễm virut trước đây, gồm cả 2 người HBsAg(+). Ở Ý vào năm 1985, trong 5.813 NVCSSK được xét nghiệm trước khi chủng ngừa VG B, 23% có dấu ấn nhiễm VG B trong quá khứ hoặc hiện tại, trong đó 2% có HBsAg(+). Một nhóm các điều dưỡng sức khỏe nghề nghiệp, nhiều người trong số họ ít tiếp xúc với máu và kim tiêm, nhưng vẫn tăng nhẹ các dấu ấn nhiễm

VG B so với cộng đồng chung người Mỹ. Một nghiên cứu gần đây tại Stockholm ở các NVCSSK được chọn để chủng ngừa VG B thấy tần suất các dấu ấn VG B là 4%, không lớn hơn so với cộng đồng chung, nhưng liên quan đến tuổi tác, thời gian công tác chăm sóc sức khỏe và bệnh sử về các sự cố phơi nhiễm với máu. Tại Mỹ, các phẫu thuật viên ở bệnh viện còn có tỷ lệ nhiễm VG B khá ý nghĩa; 17% phẫu thuật viên có các dấu ấn của nhiễm HBV và 0,4% có HBsAg(+). Các yếu tố nguy cơ đối với nhiễm HBV là không được tiêm phòng và làm phẫu thuật từ 10 năm trở lên.

Tại Mỹ, Chương trình giám sát VG thuộc CDC đã ước tính có khoảng 300.000 người Mỹ nhiễm HBV hàng năm, trong đó có 12.000 NVCSSK mà công việc bắt phải phơi nhiễm với máu trở nên nhiễm VG B mỗi năm, tỷ lệ tấn công là 0,5% ở nhóm có nguy cơ cao nhất. Dùng các lượng giá hiện hành để ước tính: các trường hợp nhiễm HBV có triệu chứng chiếm 50%, gồm 6.000 trường hợp; 500-600 người cần nằm viện do hậu quả nhiễm virut và khoảng 1.000 người nhiễm virut trở thành người mang HBsAg. Họ cũng ước tính có độ 255 nhân viên nhiễm virut sẽ chết vì VG bạo phát, xơ gan hoặc UTTBG (hình 20-1). Không phải tất cả các trường hợp nhiễm virut trong các NVCSSK bị mắc phải do nghề nghiệp. Ở Anh, khảo sát các báo cáo của phòng thí nghiệm về nhiễm VG B cấp đã phát hiện một tỷ lệ transaminase vượt mức ở các NVCSSK so với cộng đồng chung. Từ năm 1975 đến 1979, tỷ lệ nhiễm HBV hàng năm trung bình ở đàn ông trong toàn bộ cộng đồng là 4/100.000, trong khi NVCSSK có tỷ lệ lên đến 36/100.000. Từ năm 1980 đến 1989, tỷ lệ nhiễm HBV trung bình hàng năm ở đàn ông là 6/100.000 trong cộng đồng chung và tăng lên 37/100.000 ở các NVCSSK.



Hình 20-1. *Ước tính hậu quả của nhiễm VG B ở nhóm NVCSSK có nguy cơ cao ở Mỹ, 1983-1987.*

1.1.2. Nguy cơ nghề nghiệp ở những nước có tần suất VG B lưu hành cao

Ngay trong các nước nhiễm VG B là dịch địa phương, có bằng chứng nguy cơ nghề nghiệp tăng thêm trong NVCSSK. Trong 234 nha sĩ ở Phillipines, tần suất các dấu ấn nhiễm VG B là 58%, tương tự với tần suất trong cộng đồng chung, nhưng tăng lên theo thời gian hành nghề nha sĩ. Tại Nhật, nghiên cứu tần suất huyết thanh thấy trên 1/3 nhân viên bệnh viện có bằng chứng nhiễm VG B trước đây, một tần suất tương tự với một nhóm chứng khỏe mạnh, nhưng các điều dưỡng và phẫu thuật viên có tần suất huyết thanh cao có ý nghĩa so với các nhân viên khác hoặc với nhóm chứng. Một nghiên cứu ở Cairo phát hiện tần suất của các dấu ấn nhiễm VG B cao ở các nhân viên không có chuyên môn (60%) so với các bác sĩ và điều dưỡng, có thể do hậu quả của nhiễm virut từ lúc nhỏ. Trong các nhân viên bệnh viện ở Israel, những người sinh tại các nước có dịch VG B địa phương cao có một tần suất các dấu ấn nhiễm VG B cao, nhưng cũng có bằng chứng nguy cơ nhiễm virut tăng lên trong các nhóm nghề nghiệp thường phơi nhiễm với máu và các dụng cụ nhọn. Trong một khảo sát huyết thanh gần đây, các NVCSSK ở Belize, 29% có các dấu ấn của nhiễm VG B và 1% có HBsAg(+). Tần suất của các dấu ấn VG B lên đến 57% ở các nhân viên thuộc một nhóm chủng tộc.

1.1.3. Tình hình VG B nghề nghiệp ở Việt Nam

Ở nước ta, nhiều tác giả cũng đã lên tiếng về vấn đề này. Tuy nhiên, nhiều công trình đã được công bố tại Việt Nam cho thấy không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa nhân viên y tế và cộng đồng chung về tỷ lệ mang HBsAg:

- Tại Lâm Đồng: Hoàng Công Long xét nghiệm 2.363 mẫu huyết thanh, tỷ lệ mang HBsAg(+) là 13,75%. Trong đó một số đối tượng như người cho máu có tỷ lệ mang HBsAg(+) là 11,52%, người khoẻ mạnh là 9,41%, nhân viên y tế là 9,83%.

- Tại Tân Châu, An Giang: Châu Hữu Hầu nghiên cứu trên toàn bộ nhân viên y tế huyện có 20 trường hợp HBsAg(+)/153, tỷ lệ 13,1%. Trong cộng đồng vào lứa tuổi 20-29 (lứa tuổi của nhân viên y tế) có 94 trường hợp HBsAg(+)/746, tỷ lệ 12,6%. Tác giả thấy tỷ lệ mang HBsAg không khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa nhân viên y tế và cộng đồng với $p > 0,05$.

- Tại Viện Pasteur Nha Trang: Viên Chinh Chiến và cs. xét nghiệm cho nhân viên y tế huyện có 4 người HBsAg(+)/30, tỷ lệ mang HBsAg là 13,3%, nhân viên y tế tỉnh có 17 người HBsAg(+)/95, tỷ lệ 18,9%. Một công trình nghiên cứu khác cũng tại Viện Pasteur Nha Trang do Phùng Thị Thanh Yên và cs. thì thấy tỷ lệ mang HBsAg ở người khỏe mạnh bình thường là 16,08%. Như vậy riêng về tỷ lệ mang HBsAg không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa nhân viên y tế và cộng đồng chung. Viên Chinh Chiến và cs. cũng có tính tỷ lệ nhiễm cả HBsAg và anti-HBs thì thấy tỷ lệ nhiễm ở nhân viên y tế huyện là 36,7%, trong khi nhân viên y tế tỉnh là

83,1%. Nhưng vì không có số liệu về nhiễm 2 dấu ấn này trong cộng đồng nên không thể kết luận nhân viên y tế nhiễm cao hơn cộng đồng chung.

- Nguyễn Anh Tuấn, dùng kỹ thuật miễn dịch phóng xạ, xét nghiệm cho các sinh viên y khoa Bắc Thái thì thấy tỷ lệ nhiễm HBsAg chỉ 4,1% (10/242), trong khi công nhân đi kiểm tra sức khỏe lại có tỷ lệ nhiễm 11,1% (368/3.311).

- Lã Thị Nhẫn đã đưa ra số liệu tỷ lệ nhiễm HBsAg của nhân viên y tế Bệnh viện Thống Nhất là 14,77% (60/40). Trong khi đó cán bộ thuộc đối tương phục vụ của BV Thống Nhất có tỷ lệ 16,31% (92/564), nhân dân TP Hồ chí Minh đến kiểm tra sức khỏe có tỷ lệ 17,28% (74/428) nhiễm HBsAg.

- Tuy nhiên, nhóm nhân viên y tế tại khoa nhiễm E và khoa hồi sức Trung tâm bệnh viện nhiệt đới có tỷ lệ nhiễm khá cao 26,3% so với 11,3% của cộng đồng chung tại TP Hồ Chí Minh.

Theo nhiều tác giả, tại các nước lưu hành HBV cao vốn có tần suất mang HBsAg "nền" cao do lây nhiễm từ thời kỳ chu sinh và sơ sinh. Chính nhiễm virut ở lứa tuổi này dễ đưa đến tình trạng mang virut mạn tính. Tuổi càng lớn thì tình trạng mang HBsAg mạn càng khó xảy ra (5-10%) nên không góp phần quan trọng làm tăng tần suất mang HBsAg trong cộng đồng. Tuy trên thực tế có thể nguy cơ nhiễm HBV của các nhân viên y tế cao hơn cộng đồng, nhất là các thầy thuốc và nhân viên y tế phục vụ tại các bệnh viện và các trung tâm cấp cứu, truyền máu...

Nhiều tác giả cho rằng tại các nước dịch VG B lưu hành cao vốn có tần suất HBsAg "nền" cao do lây nhiễm từ thuở chu sinh và sơ sinh. Chính do nhiễm ở lứa tuổi này dễ đưa đến tình trạng mạn. Càng lớn thì tình trạng mang HBsAg mạn càng khó xảy ra (5-10%) nên không góp phần quan trọng làm tăng tần suất mang HBsAg trong cộng đồng. Tại Hội Nghị Quốc tế về viễn cảnh loại trừ VG B ở Genève vào tháng 4/1989, Ayoola (Nigeria) đặt vấn đề không nên nhấn mạnh về yếu tố nguy cơ ở NVCSSK, đặc biệt là ở các khu vực dịch lưu hành cao. Hadler cho là nhiễm HBV nghề nghiệp cũng xảy ra ở những nước đang phát triển, nhưng có tác động ít hơn.

Để nghiên cứu về nhiễm VG B nghề nghiệp tại nước ta phải cần đến các nghiên cứu sâu hơn về thời gian công tác trong ngành y tế và xét nghiệm nhiều dấu ấn VG B hơn (như anti-HBc, anti-HBs, HBeAg, anti-HBe, HBV DNA...) để có thể kết luận rõ ràng hơn về mức độ nhiễm VG B nghề nghiệp và ảnh hưởng của bệnh này đối với NVCSSK như thế nào và mức độ NVCSSK lây nhiễm cho BN ra sao.

1.2. NGUY CƠ VG B Ở NHỮNG NGHỀ NGHIỆP LIÊN QUAN VỚI NVCSSK

Nghề nghiệp liên quan với NVCSSK cũng có thể có nguy cơ nhiễm HBV. Một khảo sát huyết thanh 133 người ướp xác cho thấy họ có các dấu ấn nhiễm VG B gấp 2 lần so với tỷ lệ nhóm người cho máu và thường có bệnh sử tai nạn kim tiêm lúc

thao tác. Một nghiên cứu ở Canada báo cáo 13% các nhân viên (và hơn 20% các giáo viên) trong một trường ban ngày cho các trẻ em chậm phát triển tâm thần có các dấu ấn nhiễm VG B. Các nhân viên y tế cấp cứu, như nhân viên chuyển bệnh cấp cứu và nhân viên an toàn công cộng có các dấu ấn nhiễm VG B không tăng nhiều. Morgan-Capner và Wallice thấy không có sự tăng thái quá các dấu ấn VG B ở các nhân viên chuyển bệnh ở Lancashire so với những người cho máu, thuộc nhóm người đảm nhiệm các công việc thường qui và cả cấp cứu. Các nghiên cứu trên các sĩ quan cảnh sát, sĩ quan coi tù và lính cứu hỏa không thấy nguy cơ nhiễm VG B tăng lên.

1.3. NGUY CƠ VG B Ở NHỮNG NGHỀ NGHIỆP KHÁC

Nhiễm VG B nghề nghiệp cũng đã được báo cáo trong các nghề không liên quan đến NVCSSK hoặc các dịch vụ cấp cứu. Các đợt dịch VG B đã được báo cáo ở các cửa hàng bán thịt, do lan truyền từ các nhân viên nhiễm virut đến đồng nghiệp, hậu quả của việc đứt tay thường xuyên trong lúc làm việc. Các thống kê thu thập về nhiễm VG B ở Scotland phát hiện một sự tăng vượt mức ở thợ làm tóc và cho rằng viêm da và các nhát cắt nhỏ do kéo và các dụng cụ nhọn khác có thể là đường vào của virut trong loại hình nghề nghiệp này. Nhiều nghiên cứu đã báo cáo nhiễm VG B tăng lên ở các nhân viên hải quân và các thủy thủ buôn bán; điều này có thể được giải thích do các yếu tố liên quan đến nghề nghiệp như tiêm chích ma túy, quan hệ tình dục bừa bãi ở các cảng biển nước ngoài và xâm mình.

1.4. CÁC KIỂU TRUYỀN NHIỄM NGHỀ NGHIỆP CỦA VG B

1.4.1. Nhiễm truyền máu nhiễm virut

Quan trọng nhất của truyền nhiễm VG B trong khu vực nghề nghiệp là nhiễm truyền máu nhiễm virut, hoặc do các tai nạn kim tiêm lây nhiễm máu hoặc đứt do dao hoặc các vật nhọn khác lây nhiễm máu (các tai nạn do vật nhọn). Nguy cơ VG B sau nhiễm truyền do tai nạn của máu nhiễm virut được dẫn chứng từ nhiều nghiên cứu. So sánh các tỷ lệ truyền nhiễm từ các nghiên cứu khác nhau là khó khăn vì một vài nghiên cứu bao gồm tất cả các trường hợp có bằng chứng truyền nhiễm VG B, cả các trường hợp chuyển huyết thanh không triệu chứng; trong khi các nghiên cứu khác chỉ gồm các trường hợp VG lâm sàng. Tất cả các nghiên cứu được báo cáo cho thấy tỷ lệ truyền nhiễm cao nếu BN nguồn có HBeAg(+); nguy cơ truyền nhiễm từ các BN nguồn HBeAg(+) từ 19% đến 31%,trong khi BN nguồn HBeAg(-) từ 1% đến 65%. Alter và cs so sánh các trường hợp truyền nhiễm VG B sau tai nạn kim tiêm từ các BN nguồn HBsAg(+) với các trường hợp mà truyền nhiễm không xảy ra. Trong 14 trường hợp truyền nhiễm, tất cả các BN nguồn đều dương với HBeAg; trong khi 17 trường hợp không có truyền nhiễm, 12 BN nguồn âm tính đối với HBeAg. Masuko và cs đưa ra vài bằng chứng về nguy cơ truyền nhiễm khi không điều trị: 3

người đã bị kim đâm từ các BN nguồn HBeAg(+) không nhận HBIG vì các lý do kỹ thuật, và 2 trong số họ (67%) phát triển VG B. Chưa có một nghiên cứu tương tự nào đủ lớn nhằm xác định tỷ lệ này.

Bảng 20-1. Tỉ số truyền nhiễm VG B sau các tai nạn kim tiêm từ các BN nguồn HBsAg(+).

Tác giả	Tỷ lệ % các người nhận phát triển VG B		Tổng số các BN nguồn (n)
	BN nguồn HBsAg(+)	BN nguồn HBsAg(-)	
Seeff và cs[a]	22%	1%	6%
Grady và cs[b]	31%	6%	14%
Werner và Grady[c]	19%	2%	12%
Hansen và cs[d]	-	-	3%
Masuko và cs[e]	20%	0%	11%

[a] Những người nhận tai nạn kim tiêm HBsAg(+) được mô tả là những người đã được nhận ISG. Tất cả các trường hợp VG B trong số này về mặt lâm sàng khá rõ.

[b] Những người nhận tai nạn kim tiêm được mô tả là những người đã nhận globulin chuẩn độ bình thường (ISG), gồm cả các trường hợp VG B dưới lâm sàng.

[c] Những người nhận tai nạn kim tiêm đã nhận globulin có dung lượng anti-HBs khác nhau, gồm cả các trường hợp VG B dưới lâm sàng.

[d] Tình trạng HBeAg không được xác định. Chỉ có những trường hợp lâm sàng của VG B được ghi nhận, và tất cả những người nhận đã được điều trị với HBIG.

[e] Các trường hợp VG B dưới lâm sàng. Tất cả những người bị tai nạn kim tiêm được mô tả được nhận HBIG; 3 người khác có tai nạn kim tiêm HBeAg(+), 2 phát triển VG B.

Các số liệu cho phép dự đoán nguy cơ truyền nhiễm VG B sau các phơi nhiễm khác với máu nhiễm virut hiện chưa có đầy đủ. Nguy cơ truyền nhiễm có thể ít hơn so với tổn thương nhiễm truyền. Trong một nghiên cứu ở các phẫu thuật viên răng miệng, những người mang găng dưới 10% thời gian không có các dấu ấn nhiễm VG B nhiều hơn những người mang găng 90% thời gian. Điều này nhấn mạnh đến tầm quan trọng của các vết thương đâm thủng thường xuyên và các vết xước, hơn là tiếp xúc của da không nguyên vẹn với nước miếng chứa máu, qua các phương tiện truyền nhiễm virut đến phẫu thuật viên. Điều này, trái ngược với các nghiên cứu ban đầu của VG B trong các đơn vị thẩm tách máu đã cho là việc mang găng nhằm bảo vệ nhân viên khỏi nhiễm virut. Hình như có ít bằng chứng trực tiếp của sự truyền nhiễm VG B qua các phương tiện tiếp xúc của máu nhiễm virut với các vết thương mở, da hoặc các màng niêm không nguyên vẹn. Điều này có thể do các nhân viên không chú ý hoặc không báo cáo các sự cố nhỏ về phơi nhiễm máu cho đến những năm gần đây, khi nỗi sợ nhiễm HIV đã gây chú ý nhiều hơn về các nguy cơ tiếp xúc với máu. Có các nghiên cứu ghi nhận chuyển huyết thanh HIV ở các NVCSSK sau phơi nhiễm không phải đường máu đối với máu nhiễm virut bao gồm sự lây nhiễm qua da không nguyên vẹn và qua mắt và miệng. Các nghiên cứu này cung cấp bằng chứng VG B cũng có thể được truyền nhiễm như thế vì có một kiểu truyền nhiễm.

Các báo cáo từ trước khi có chủng ngừa VG B đưa ra các bằng chứng gián tiếp truyền nhiễm VG B qua tiếp xúc với máu không nhiễm truyền. Sau một thời khoảng 40 tháng, Hansen và cs ghi nhận các trường hợp nhiễm VG B lâm sàng ở các nhân viên trong một trung tâm y tế. Có 23 trường hợp trong các nhân viên đã không báo cáo phơi nhiễm với máu hoặc các dịch cơ thể, một trường hợp là kỹ thuật viên phòng thí nghiệm đã báo cáo tai nạn trong đó huyết thanh dính vào vết cắt hở trên bàn tay khi cô đang làm việc với một máy phân tích hóa học tự động (cô có thể đã xử lý các mẫu vật đã bị nhiễm VG B) và chỉ có 3 trường hợp trong các nhân viên đã báo cáo các tổn thương nhiễm truyền với máu có HBsAg(+). Các tác giả cho là các phơi nhiễm máu không báo cáo có khả năng truyền nhiễm VG B trong môi trường y tế. Pattison và cs báo cáo 5 trường hợp VG lâm sàng (ít nhất 4 trong số đó là VG B) trong các nhân viên phòng thí nghiệm bệnh viện sau một thời khoảng 6 tháng. Các điều tra khác phát hiện 36% các nhân viên trong ngân hàng máu và khu vực kiểm soát mẫu có các dấu ấn huyết thanh của nhiễm VG B, so với chỉ 10% trong các phòng thí nghiệm khác. Các tác giả thấy rằng các nhân viên VG lâm sàng có nhiều khả năng có các vết cắt nhỏ với các thẻ yêu cầu xét nghiệm vi tính hơn các nhân viên không có dấu ấn VG B và kết luận rằng sự lây nhiễm máu qua các vết cắt nhỏ có thể giải thích nguy cơ VG B ở các nhân viên phòng thí nghiệm. Bryan và cs báo cáo 12 trường hợp VG B trong các nhân viên lâm sàng trong một bệnh viện trẻ em; 10 người đã được tiếp xúc với một trẻ nhiễm VG B và một trẻ rối loạn đông máu. Không có người nào trong 10 nhân viên nhớ có tai nạn kim tiêm, nhưng họ thường có tiếp xúc bằng tay với máu của trẻ mà không mang găng. Không có người nào trong nhân viên chuyên khoa tai mũi họng tiếp xúc với sự chảy máu mũi thường xuyên của trẻ, bị phơi nhiễm VG B, nhưng họ luôn mang găng trong công việc này.

1.4.2. Các dịch cơ thể khác

Các dịch cơ thể khác cũng có nguy cơ truyền nhiễm VG B bao gồm dịch ối, dịch màng tim, dịch màng bụng, dịch khớp, dịch não tủy, tinh dịch và dịch tiết âm đạo. Không có các trường hợp được ghi nhận truyền nhiễm VG B sau các tổn thương nhiễm truyền hoặc các phơi nhiễm khác với phân không có máu, dịch nhày mũi, mủ, mồ hôi, nước mắt, nước tiểu, chất nôn. Nước miếng cũng không được cho là có nguy cơ trừ khi có chứa máu, thường gặp trong bệnh cảnh răng miệng. Truyền nhiễm VG B đã được báo cáo qua vết cắn của người, có thể liên quan đến nhiễm truyền của nước miếng chứa máu của người cắn. Kiểu phơi nhiễm này có thể gặp ở các nhân viên chăm sóc BN tâm thần, các BN dưới mức bình thường, ở cảnh sát và các viên cai ngục.

1.4.3. Nhiễm VG B qua khí dung

Truyền nhiễm VG B do hít phải các giọt nhỏ hoặc các hạt khí dung có máu nhiễm virut không được báo cáo. Tuy nhiên, phơi nhiễm đối với môi trường lây nhiễm máu trong các phòng thí nghiệm lâm sàng có thể là nguy cơ nhiễm VG B ở các nhân viên phòng thí nghiệm. Một nghiên cứu từ Viện Quốc Gia Sức Khỏe của Mỹ, gồm 800 mẫu môi trường từ 10 phòng thí nghiệm, tìm thấy HBsAg trong 31 mẫu từ 11 vị trí công tác. Tương tự, 7/163 mẫu môi trường trong một đơn vị thẩm tách máu dương tính đối với HBsAg, bao gồm các mẫu lấy từ bàn ghế, găng tay của điều dưỡng, và từ tay nắm cửa của tủ lạnh.

1.5. NGUY CƠ TRUYỀN NHIỄM NGHỀ NGHIỆP CỦA VG B

Nguy cơ truyền nhiễm VG B đối với người lao động, nhất là NVCSSK, tùy thuộc vào nhiều biến số: tần suất của tình trạng người mang VG B trong cộng đồng, số lần tai nạn kim tiêm hoặc các phơi nhiễm máu khác trong những NVCSSK, nguy cơ truyền nhiễm sau một phơi nhiễm đối với máu hoặc dịch cơ thể khác nhiễm virut và mức độ miễn dịch của nhân viên có nguy cơ nhiễm VG B nghề nghiệp.

1.5.1. Tần suất của những người mang HBV trong cộng đồng BN

Tần suất của tình trạng mang HBV trong cộng đồng BN thay đổi theo từng khu vực địa lý. Tần suất này cao hơn trong các vùng có dịch VG B lưu hành. Tại Anh, tần suất người mang VG B mạn trong cộng đồng người lớn được ước tính khoảng 1/500, với 5% đến 10% HBeAg(+). Tại Mỹ, được ước tính có 300.000 nhiễm VG B hàng năm, với 6% đến 10% trở thành người mang. Tình hình ở Anh đang thay đổi, với số lượng các báo cáo phòng thí nghiệm ngày càng nhiều về nhiễm VG B cấp từ 1980 đến 1984 và giảm xuống đều đặn từ năm 1985 đến 1988 với tỷ lệ mắc hàng năm trung bình của nhiễm HBV ở người lớn là 4/100.000 đối với đàn ông và 2/100.000 đối với phụ nữ từ năm 1985 đến 1989. Tần suất của người mang VG B trong một cộng đồng BN có lẽ được đánh giá thấp, vì nhóm có nguy cơ cao với nhiễm VG B, như người tiêm chích ma túy, người có các rối loạn đông máu hoặc những người cần truyền máu, chiếm số lượng khá lớn ở các khu vực điều trị nội và ngoại trú.

Tại Anh, tần suất nhiễm VG B cao ở các BN trong các bệnh viện thiểu năng tâm thần: 8% BN có HBsAg(+) trong một bệnh viện, từ 1% đến 12% trong một khảo sát 7 bệnh viện, và 2% trong một bệnh viện ở Wales. Một nghiên cứu khác gồm 220 BN trong một bệnh viện thiểu năng tâm thần ở miềm Bắc nước Anh chỉ thấy có một người có kháng thể đối với HBcAg và không có BN nào khác có các dấu ấn VG B. Tuy nhiên, tỷ lệ nhiễm VG B trong các BN thiểu năng tâm thần còn đáng kể: 7/102 BN trong một khảo sát 1994 có HBsAg(+).

1.5.2. Tần số của các phơi nhiễm máu trong NVCSSK

Các sự cố phơi nhiễm máu, bao gồm tai nạn kim tiêm cũng như các tổn thương do vật nhọn và lây nhiễm máu qua da hoặc viêm mạc bị rách, thường gặp ở NVCSSK. Nguy cơ truyền nhiễm HBV đã làm tăng số các nghiên cứu về các tỷ lệ mắc và nguyên nhân của chúng trong những năm gần đây. Dĩ nhiên, phòng mổ là khu vực nguy cơ cao đối với phơi nhiễm máu. Lowenfels và cs báo cáo một tỷ lệ của các tổn thương vết đâm trong các phẫu thuật viên ở New York qua tiếp xúc bằng thư hoặc điện thoại, 4,2/1.000 giờ trong phòng mổ, có 25% các phẫu thuật viên có tỷ lệ tổn thương ≥ 9/1000 giờ trong phòng mổ. Hussain và cs yêu cầu 18 phẫu thuật viên ở Saudi Arabia ghi tất cả các tổn thương tai nạn trong lúc phẫu thuật thì thấy tỷ lệ các tổn thương xảy ra trong 5,6% các trường hợp. Một nghiên cứu quan sát 1.307 các thủ thuật ngoại khoa ở San Francisco General Hospital phát hiện phơi nhiễm với máu do tai nạn là 6,4% các thủ thuật. Nguy cơ phơi nhiễm với máu cao nhất khi các thủ thuật kéo dài quá 3 giờ, khi sự mất máu vượt quá 30 ml và với các thủ thuật phụ khoa và mạch máu lớn. Các tác giả tin rằng tỷ lệ tổn thương thấp hơn ở San Francisco là do sự chú ý nhiều hơn về các thực hành an toàn và nguy cơ nhiễm HIV trong các BN. Tuy nhiên, trong một nghiên cứu gần đây trong 4 bệnh viện ở Mỹ, tổn thương do vật nhọn được ghi nhận trong 6,9% các thủ thuật và tổn thương được ghi nhận bởi một đội phẫu thuật ở Glassgow với tỷ lệ 1,6% cho mỗi phẫu thuật viên mỗi lần mổ, được tính là 4,6% cho toàn bộ cuộc mổ. Williams và cs nghiên cứu các phơi nhiễm máu trong nhóm phẫu thuật gồm 6.096 lần phẫu thuật trong 6 tháng. Một tổn thương do vật nhọn xảy ra trong 1,6% lần phẫu thuật. Nguy cơ tăng lên khi phẫu thuật kéo dài, mất máu nhiều, phẫu thuật lớn, đóng vết thương bằng kẹp và phẫu thuật viên chính mang kính điều chỉnh. Người có tuổi mang kính sẽ bị giảm khéo tay hoặc kính đeo tự nó có thể che thị trường phẫu thuật.

Phơi nhiễm máu khác hơn tổn thương do vật nhọn thường gặp trong thực hành phẫu thuật, bao gồm găng tay bị rách và sự bắn tóe vào mắt với máu và các dịch cơ thể khác. Ngay cả các thủ thuật may nhỏ tại khoa tai nạn và cấp cứu, găng tay bị thủng trong 11% trường hợp.

Tổn thương do vật nhọn và các phơi nhiễm máu khác và dịch cơ thể thường gặp ở những người ướp xác. Albertoni và cs nhận thấy một tỷ lệ 29% các tổn thương do kim đâm trong 20.000 NVCSSK người Ý được phỏng vấn trong năm 1985: tỷ lệ cao nhất ở các phẫu thuật viên (55%) và điều dưỡng (35%). Collins và Kennedy xem lại một số các nghiên cứu tổn thương do vật nhọn trong các nhóm NVCSSK và so sánh các kết quả liên quan đến tổn thương do kim đâm trong 100 nhân viên/năm với các

nhóm nghề nghiệp khác nhau. Các số liệu khá thay đổi từ nhiều nghiên cứu khác nhau (bảng 20-2). Điều dưỡng bị tổn thương cao nhất, kể cả số điều dưỡng hợp đồng. Các bác sĩ tương đối ít tổn thương.

Bảng 20-2. Tỷ lệ mắc của các tai nạn kim tiêm trong 100 nhân viên/năm (Số liệu từ 8 khảo sát). (Theo Collins và Kennedy).

Số khảo sát	Điều dưỡng (tất cả trình độ)	Nhân viên phòng xét nghiệm	Y công (domestic) và phu khuân vác
1	1,65	-	1,04
2	13,0	10,8	16,9
3	9,26	10,47	12,7
4	0,86	0,62	1,71
5	61,1	12,5	34,4
6	23,0	18,0	12,0
7	9,95	6,65	10,89
8	2,96	-	5,4

Khảo sát các sự cố theo các báo cáo thường qui cần được giải thích thận trọng vì các báo cáo này thường rất thấp, đặc biệt là ở các bác sĩ. Vài tác giả đã cố gắng định lượng sự báo cáo thấp này. Astbury và Paxter, dùng các bản trả lời câu hỏi để ước tính tỷ lệ mắc của các tổn thương do vật nhọn, cắn...các năm trước đó, thấy rằng chỉ có 5% các tổn thương đã được báo cáo bởi các nhân viên dịch vụ sức khỏe bệnh viện. Tỷ lệ trả lời thấp (45%) có thể làm sai lệch kết quả. Theo McGeer và cs, dưới 5% tỷ lệ báo cáo đối với các tổn thương do vật nhọn trong các sinh viên y khoa, nội trú và thường trú ở Torento; nhưng khi hỏi những người trả lời nhớ lại các sự cố xảy ra qua nhiều năm trước đó, có thể làm mất chính xác. Một nghiên cứu qua bản câu hỏi gần đây của 158 nhân viên khoa phẫu thuật ở bệnh viện Royal Free ở Luân Đôn ghi nhận 26 tổn thương do vật nhọn và 240 sự cố phơi nhiễm máu khác trong tháng trước đó: chỉ có 15% tổn thương do vật nhọn và không có trường hợp phơi nhiễm máu nào khác được báo cáo.

2. NGUY CƠ TRUYỀN NHIỄM CỦA VG B TỪ CÁC NHÂN VIÊN NHIỄM VIRUT

Lãnh vực quan tâm chính khi cân nhắc nguy cơ truyền nhiễm VG B từ một nhân viên nhiễm virut là môi trường chăm sóc sức khỏe vì khả năng máu của nhân viên tiếp xúc với hệ tuần hoàn của một BN hoặc các mô để mở, như trong phẫu thuật. Các nhân viên nhiễm virut đôi khi có nguy cơ trong các khung cảnh khác: các đợt dịch nhiễm VG B từ một nhân viên gây truyền nhiễm ở các nhà hàng thịt. Đối với các nhân viên trong bất cứ nghề nào khi các vết cắt và các tổn thương khác hay gây chảy máu để được huấn luyện các phương pháp thích hợp nhằm xử trí vết thương và

rửa sạch máu. Các BN đã quan tâm nhiều hơn về nguy cơ nhiễm VG B từ các NVCSSK, có lẽ do tác động của dịch HIV. Điều này phản ảnh nỗi sợ nhiễm HIV hơn là nguy cơ nhiễm HBV; và HIV lại ít truyền nhiễm hơn HBV .

2.1. BẰNG CHỨNG CỦA TRUYỀN NHIỄM VG B TỪ CÁC NVCSSSK NHIỄM HBV

Bằng chứng truyền nhiễm gián tiếp cho các BN từ các báo cáo nhiễm VG B. Giữa những năm 1985 và 1988, 3% các trường hợp VG B cấp được ghi nhận có bệnh sử điều trị phẫu thuật hoặc điều trị răng gần đây ở Phòng Thí nghiệm Sức khỏe Công cộng thuộc Trung tâm Giám sát bệnh Truyền nhiễm Mỹ. Cũng có một số bằng chứng trực tiếp truyền nhiễm VG B với BN. Hồi cứu 12 đợt dịch VG B truyền nhiễm từ các nhân viên phẫu thuật ở Anh từ 1975 đến 1990, với 91 BN nhiễm virut, cho thấy nhận biết và báo cáo các đợt dịch còn đánh giá thấp các số liệu về các trường hợp BN nhiễm VG B mắc phải qua các biện pháp phẫu thuật. Nhiều trường hợp nhiễm virut dưới lâm sàng và thời kỳ ủ bệnh kéo dài làm cho việc theo dõi nguồn bệnh thường khó khăn. Heptonstall xem lại các tỷ lệ truyền nhiễm trong 5 đợt dịch (bảng 20-3). Thành phần BN bị mắc VG B vàng da cấp là từ 1% đến 2%. Đối với 3 đợt dịch trong đó bằng chứng nhiễm virut không vàng da gần đây cũng được nghĩ đến, các tỷ lệ truyền nhiễm toàn bộ là 4-9%.

Bảng 20-3. Tỷ lệ truyền nhiễm đối với các đợt dịch nhiễm VG B liên quan với phẫu thuật viên nhiễm virut. (Theo Heptonstall)

Chuyên viên	Các BN phơi nhiễm được theo dõi	Số (%) của các BN được theo dõi	Số (%) của nhiễm virut vàng da cấp	(%) nhiễm virut không vàng da cấp	(%) truyền nhiễm toàn bộ
Phụ khoa	646	589 (91)	8 (1,4)	Không xác định	-
Phụ khoa	-	1020	9 (0,9)	Không xác định	-
Phụ khoa	268	247 (92)	5 (1,8)	17 (6,8)	9
Phẫu thuật lồng ngực	361	279 (77)	5 (1,8)	12 (4,3)	6
Phẫu thuật lồng ngực	128	123 (95)	2 (1,6)	3 (2,4)	4

CDC xác nhận 20 báo cáo đã được công bố nhiễm VG B từ các NVCSSK nhiễm virut toàn thế giới từ đầu những năm 1970 gồm hơn 300 BN nhiễm virut. 8 cụm báo cáo gồm các phẫu thuật viên phụ khoa (5) hoặc tim lồng ngực (3); 12 cụm còn lại gồm các nha sĩ hoặc các phẫu thuật viên miệng (9), một bác sĩ thực hành tổng quát, một chuyên gia điều trị khí dung và một kỹ thuật viên bơm bắt cầu tim phổi.

Nhiều trường hợp đặc biệt làm tăng nguy cơ truyền nhiễm VG B từ một NVCSSK đến các BN. Các bác sĩ sản phụ khoa và phẫu thuật tim lồng ngực dễ có nguy cơ truyền nhiễm cho BN. Truyền nhiễm virut dễ xảy ra trong phẫu thuật lớn,

đặc biệt khi thao tác với kim tiêm hoặc các dụng cụ nhọn khác trong khoang cơ thể không được nhìn rõ. Trong một đợt dịch tỷ lệ truyền nhiễm từ một phẫu thuật viên nhiễm virut thực hiện phẫu thuật sản khoa hoặc phụ khoa lớn là 20% và dưới 1% từ cùng một phẫu thuật viên thực hiện các thủ thuật ngoại khoa có nguy cơ trung bình hoặc thấp hơn. CDC mô tả các phẫu thuật dễ phơi nhiễm, khi có nguy cơ tổn thương qua da đối với NVCSSK và khi, nếu tổn thương xảy ra, máu của nhân viên có khả năng tiếp xúc với các mô hoặc màng niêm của BN.

Nguy cơ truyền nhiễm từ NVCSSK với BN cao hơn khi người này có HBeAg(+). Heptonstall báo cáo trong 11/12 đợt dịch truyền nhiễm đối với BN, NVCSSK nguồn có HBeAg(+); tình trạng HBeAg không được xác định trong một trường hợp còn lại. Tương tự, trong một báo cáo ở Mỹ từ 20 cụm nhiễm virut ở BN, HBeAg(+) trong NVCSSK nguồn được xác định là 17/20. Tuy nhiên, nguy cơ truyền nhiễm không chỉ hạn chế ở nhân viên có HBeAg(+). Một báo cáo gần đây mô tả 4 trường hợp truyền nhiễm VG B từ phẫu thuật viên có HBsAg(+) nhưng HBeAg(-). Tất cả 4 phẫu thuật viên có một đột biến tiền lõi ở codon 28. Một phẫu thuật viên chỉ có HBV DNA được phát hiện bằng phương pháp lai lỏng; HBV DNA được phát hiện trong tất cả 4 phẫu thuật viên qua xét nghiệm oligonucleotit gắn men, tuy ở mức thấp hơn trong lô chứng HBeAg(+).

2.2. NGUY CƠ TRUYỀN NHIỄM VG B TỪ NVCSSK NHIỄM VIRUT

Nguy cơ đối với một BN chịu một phẫu thuật hoặc chữa răng mắc VG B từ một nhân viên của đội phẫu thuật trong lúc thao tác tùy thuộc vào tần suất của người mang VG B gây nhiễm trong cộng đồng NVCSSK thực hiện các phương pháp xâm lấn và tần số của các sự cố khi máu của họ nhiễm vào hệ tuần hoàn hoặc các mô để mở của BN. Trong một hồi cứu của West, các tần suất HBsAg huyết thanh độ 1-2% được báo cáo trong các nhóm nha sĩ, và hơi ít hơn trong các nhóm bác sĩ và điều dưỡng. Tần suất HBsAg hiện nay trong các NVCSSK ở Mỹ và ở Anh chưa rõ, nhưng có nhiều bằng chứng gián tiếp cho thấy tần suất này thấp. Tại bệnh viện Royal Free ở Luân Đôn, nhiều ngàn nhân viên đã được chủng ngừa VG B trong 5 năm qua và chỉ có một số nhỏ có HBsAg(+) ở những người không có đáp ứng với tiêm phòng. Đa số những người này là nhân viên có nguồn gốc ở những vùng dịch VG B lưu hành: một bác sĩ có bệnh sử VG ở nước ngoài làm các thủ thuật xâm lấn. Không có ai có HBeAg(+).

Một khảo sát qua 1.996 bảng câu hỏi của Khoa Sức khỏe Nghề nghiệp Bệnh viện ở Anh hỏi về số các nhân viên y tế nhiễm VG B thực hiện các thủ thuật có khả năng phơi nhiễm đã được xác định qua các hướng dẫn của Bộ Y Tế về tiêm phòng và xét nghiệm các NVCSSK. Trên cơ sở thông tin của các câu hỏi, ở Anh có dưới 50

nhân viên HBeAg(+) đảm nhận các thủ thuật dễ gây phơi nhiễm đã được xác định và chỉ có 100 đến 200 nhân viên đang thực hành có HBsAg(+) và HBeAg(-).

Khi xem xét nguy cơ truyền nhiễm cho BN, tần số các sự cố khi phơi nhiễm của BN đối với máu của phẫu thuật viên cũng có khả năng truyền bệnh. Một nghiên cứu tương lai ở Mỹ cho thấy một tỷ lệ tổn thương cao đối với nhân viên phẫu thuật trong các thủ thuật ngoại khoa và 1/3 các sự cố, kim tiêm hoặc các vật nhọn khác tiếp xúc trở lại với các mô của BN. Các phẫu thuật viên miệng và các nha sĩ cũng có thể có một tỷ lệ tổn thương cao do vật nhọn và công việc của họ trong không gian hạn chế trong và quanh miệng sẽ đưa vật nhọn tiếp xúc lại với mô của BN hoàn toàn có thể xảy ra, nhưng không có nghiên cứu nào xác nhận điều này.

Trên cơ sở quan sát của Tokars và cs và dùng các ước tính xác suất truyền nhiễm từ một phẫu thuật viên nhiễm virut khi có một sự cố như thế. Bell và cs đã tính xác suất cho một phẫu thuật viên HBeAg(+) truyền nhiễm ít nhất cho một BN trong 7 năm là 57% đến 100%. Dùng các ước tính tần suất các phẫu thuật viên và nha sĩ HBeAg(+) ở Mỹ, họ đã tính từ 1980 đến 1990, 478 đến 4.773 BN có thể mắc phải nhiễm VG B từ các phẫu thuật viên và nha sĩ nhiễm virut ở Mỹ. Các tính toán này dựa vào nhiều số liệu ước tính và bởi thế có thể hoàn toàn không chính xác. Trên cơ sở các báo cáo phòng thí nghiệm về VG B cấp từ 1980 đến 1983, Polakoff ước tính nguy cơ của một BN phát triển VG B cấp gây nên bởi nhân viên y tế trong thủ thuật ngoại khoa là một trong một triệu lần phẫu thuật.

Tại Hà Lan, có 28 BN nhiễm VG B trong 4 năm do một phẫu thuật viên tại bệnh viện Saint Joseph gần Eindhoven. Một BN sau đó truyền HBV cho bạn tình và người này đã chết. Chính vì vụ này khiến cho Bộ trưởng Y tế Hà Lan phải xem xét việc tiêm phòng bắt buộc cho NVCSSK có tiếp xúc với máu và hạn chế một số công việc ở NVCSSK nhiễm virut.

3. DỰ PHÒNG TRUYỀN NHIỄM NGHỀ NGHIỆP CỦA VG B

Do hiệu quả của vacxin chống VG B, việc loại trừ truyền nhiễm VG B nghề nghiệp có thể gần như hoàn toàn. Nhìn chung, bất cứ việc gì làm giảm nguy cơ truyền nhiễm cho nhân viên sẽ cũng làm giảm nguy cơ truyền nhiễm từ các nhân viên bằng cách giảm số nhân viên nhiễm virut và làm cho các cơ hội truyền nhiễm ít xảy ra. Các khía cạnh trong dự phòng truyền nhiễm VG B nghề nghiệp và các bệnh nhiễm virut qua đường máu khác như VG C bao gồm các thực hành an toàn nhằm giảm thiểu các phơi nhiễm ngẫu nhiên, các chương trình tiêm phòng cho các nhân viên có nguy cơ, xử trí các sự cố phơi nhiễm máu và điều trị cho các nhân viên bị nhiễm virut.

3.1. THỰC HÀNH AN TOÀN TRONG DỰ PHÒNG LÂY NHIỄM NGHỀ NGHIỆP CỦA VG B

Có 2 biện pháp tổng quát trong thực hành an toàn nhằm dự phòng truyền nhiễm virut qua đường máu: kiểm soát nhiễm virut truyền thống và phòng ngừa phổ thông.

- *Phương pháp kiểm soát virut truyền thống*: BN hoặc mẫu vật được biết hoặc nghi bị nhiễm HBV được xác định và các dự phòng đặc biệt sẽ được dùng để chăm sóc hoặc xử lý. Phương pháp này đã được tán thành nhằm giảm nguy cơ truyền nhiễm VG B trong thời kỳ trước tiêm phòng được sử dụng và tiếp tục được khuyến cáo bởi một số tác giả về dự phòng truyền nhiễm HIV và HBV trong các phòng thí nghiệm và trong các phòng mổ.

- *Phương pháp dự phòng phổ thông*: hướng dẫn chính thức ở Mỹ và Anh ưa thích phương pháp này. Một số lớn nghề nghiệp chuyên ngành phẫu thuật đang nghiêng về hướng dự phòng phổ thông, tuy còn đề nghị thêm các dự phòng đối với các BN có nguy cơ cao. Quan niệm dự phòng phổ thông xuất hiện là do hậu quả của dịch HIV và dựa trên quan niệm các BN nhiễm virut qua đường máu không thể được xác định dựa theo bệnh sử đến nỗi máu của tất cả BN phải được xử lý như là đều có khả năng gây nhiễm. Mức độ dự phòng dựa vào việc đánh giá nguy cơ của các thủ thuật được thực hiện hơn là trên tình trạng nhiễm virut của BN.

Sự tranh luận về 2 phương pháp liên quan với nhiễm HIV đã được xem xét lại. Những người tán đồng phương pháp truyền thống cho rằng NVCSSK có quyền "biết những gì họ đang đối phó" giúp họ có thể tự bảo vệ thích đáng. Do vấn đề tài chánh, không cần áp dụng một tiêu chuẩn bảo vệ cao ngoại trừ các khu vực có tần suất huyết thanh của HBV hoặc HIV rất cao. Tuy nhiên, phương pháp truyền thống có các vấn đề cần phải làm rõ:

- Đầu tiên, việc xác nhận BN nhiễm HIV hoặc HBV trên cơ sở bệnh sử không được tin cậy khiến việc xét nghiệm cưỡng bách tất cả BN là cần thiết, nhưng tốn kém và tiêu tốn nhiều tiền bạc cho các thiết bị và các quần áo bảo vệ an toàn.

- Trong các khu vực HIV và HBV có tần suất huyết thanh thấp, chương trình sàng lọc sẽ kém hiệu quả, và trong các vùng có tần suất cao xử lý tất cả BN như nhiễm virut là rất nhạy cảm.

- Chờ đợi các kết quả xét nghiệm là không khả thi trong tình hình khẩn cấp, và chính trong tình hình đó, lại có khả năng phơi nhiễm với máu.

Việc xác định các BN nguy cơ cao với nhiễm HIV và HBV để xác định mức độ dự phòng được thực hiện là sự hiểu biết tình trạng nguy cơ cao của BN hình như không làm giảm nguy cơ phơi nhiễm với máu trong các thủ thuật ngoại khoa. Gerberding và cs thấy không có khác biệt trong tỷ lệ phơi nhiễm máu toàn bộ, hoặc trong các tổn thương vật nhọn đặc biệt, giữa các BN đã biết hoặc nghi ngờ có nguy

cơ cao so với các BN khác. Trong một nghiên cứu khác, có một tỷ lệ phơi nhiễm máu thấp hơn trong phẫu thuật ở các BN được xác định có nguy cơ cao, nhưng số lượng còn rất nhỏ và khác biệt có thể xảy ra do may rủi. Trong một khoa phẫu thuật ở Tổng Y Viện San Francisco, các dự phòng phổ thông đang thực hành với một qui mô lớn nhưng rõ ràng phương pháp này cũng không đủ để phòng ngừa các tai nạn kim tiêm và các phơi nhiễm máu khác trong lúc phẫu thuật. Tuy nhiên, có bằng chứng là thực hành các dự phòng phổ thông làm giảm tần số các phơi nhiễm máu không phải qua đường máu ở các NVCSSK đã được huấn luyện.

Mặc dù sự đơn giản và tính hợp lý của dự phòng phổ thông, nhiều tác giả đã báo cáo rằng các NVCSSK không thực hiện cho họ ngay cả khi đó đã là chính sách chính thức. Lý do đưa ra cho việc không dùng các dự phòng hàng rào vào tất cả mọi lúc là do thiếu thời gian, quần áo bảo vệ cản trở việc hoàn thành kỹ xảo của công việc và các vật dụng thiếu tiện nghi. Nghiên cứu ở Mỹ về các chuyên viên ướp xác không thực hành các dự phòng phổ thông, nhưng việc ướp xác đã giảm nhiều một khi xác được chẩn đoán là đã chết vì bệnh AIDS. Điều trị phân biệt các trường hợp nguy cơ cao còn được khuyến cáo một cách chính thức trong các nhà xác và các phòng khám nghiệm sau khi chết ở Anh. Hình như nhiều NVCSSK lựa chọn các thực hành của họ về những gì họ biết hoặc nghi ngờ tình trạng nhiễm virut của BN hơn là về thủ thuật được thực hiện. Trong một nghiên cứu gần đây, đa số sinh viên y khoa tại một bệnh viện ở Luân Đôn báo cáo việc thay đổi thực hành lâm sàng của họ, chủ yếu bằng cách mang găng và cẩn thận với kim tiêm, nếu họ biết BN bị nhiễm với một virut truyền qua đường máu. Trong một khảo sát tương tự, đa số sinh viên ủng hộ việc xét nghiệm bắt buộc (đối với HIV) các BN, có thể vì họ cảm thấy điều này có thể giúp họ quyết định các dự phòng nào được dùng ở BN này.

Các dự phòng phổ thông thường khá tốn kém và không thể thực hiện được ở các nước đang phát triển, nơi thường có tần suất nhiễm HBV và HIV cao. Đây là một quan niệm sai lầm, có lẽ do từ ngữ "phổ thông" được hiểu lầm, gợi ý một mức độ giống nhau của dự phòng đối với mỗi phương thức. Cơ sở của phương pháp dự phòng phổ thông phải là một đánh giá nguy cơ của các phương thức với các dự phòng phù hợp. Điều này có thể cho phép các nguồn lực hiếm hoi được dùng một cách hiệu quả nhất, với thiết bị bảo vệ dành cho các thủ thuật này, đây là sự cần thiết thực sự.

Việc phòng ngừa các tổn thương nhiễm truyền có tầm quan trọng ưu tiên trong giảm nguy cơ truyền nhiễm VG B nghề nghiệp và các virut sinh ra do đường máu khác. Các nghiên cứu trong các phòng mổ đã chứng minh thủ thuật may thường dẫn đến thủng găng tay hoặc các tai nạn kim tiêm và đã khuyến cáo dùng các dụng cụ để giữ kim tiêm trong lúc may, các kỹ thuật đóng vết thương thay thế, như kẹp vết thương và dùng các kim tù để may các mô mỡ. Tuy nhiên, Williams và cs thấy phẫu thuật với các kẹp được dùng có một nguy cơ tổn thương do vật nhọn cao hơn, tuy

không có các tổn thương gây nên từ chính các kẹp. Có thể do khi kẹp được dùng tự nó dẫn đến nguy cơ tổn thương do nhà phẫu thuật vội vã. Các tác giả khác đã khuyến cáo các kỹ thuật mổ an toàn hơn bao gồm các phương pháp chuyển dụng cụ giữa điều dưỡng và phẫu thuật viên và tránh dùng dụng cụ nhọn. Kamilleri và cs đã đề nghị nguy cơ tổn thương ở phẫu thuật viên trẻ có thể giảm xuống bằng việc huấn luyện bắt buộc về các thiết bị mổ. Việc đeo 2 lần găng có thể giảm tỷ lệ thủng găng và vài tác giả khuyên dùng như một dự phòng thường qui.

Bảo vệ các chuyên viên phòng mổ khỏi sự bắn tóc máu vào mắt bằng việc đeo kính hoặc tấm che và khỏi sự lây nhiễm da bằng các áo mổ không thấm nước được khuyến cáo. Tuy không có bằng chứng truyền nhiễm HBV hoặc HIV bằng các khí dung máu, vài nhà phẫu thuật vẫn dùng các mũ thông khí trong các thủ thuật làm phát sinh khí dung máu.

Các hệ thống hiệu quả cho việc thu thập và bố trí các dụng cụ nhọn được dùng ở nhiều khu vực chăm sóc sức khỏe là quan trọng nhằm giảm nguy cơ do vật nhọn đối với nhân viên. Tất cả nhân viên có nguy cơ cần được xem xét. Nhân viên trong các khoa phòng chống nhiễm khuẩn trung tâm có tỷ lệ tổn thương cao từ các dụng cụ nhọn và hệ thống được trả về nhằm tránh xử lý các dụng cụ này phải được nghĩ đến. Hiện nay có sự quan tâm phát triển việc dùng kim và ống tiêm an toàn hơn để giảm xử lý kim tiêm và bảo vệ tự động kim tiêm sau khi dùng. Tuy các sự cố được báo cáo chưa đủ đại diện cho những gì xảy ra trong bệnh viện, việc giám sát cẩn thận các sự cố có thể là chỉ thị hữu ích cho những thủ thuật nguy hiểm cũng như bảo đảm việc xử lý thích hợp các sự cố riêng lẻ. Trong một hồi cứu, Oakley và cs đã ghi nhận tai nạn kim tiêm ở điều dưỡng thường xảy ra khi giữ đầu ngón tay lấy mẫu máu, khi dùng một kim nhỏ đơn giản hoặc một thiết bị gắn lò so. Một thiết bị mới dùng một lần, có thể tự động rút ngòi tiêm vào bên trong trục sau khi dùng, được đưa vào sử dụng và đã thành công trong việc phòng ngừa tổn thương.

3.2. CÁC CHƯƠNG TRÌNH TIÊM CHỦNG VG B

Một vacxin an toàn và hiệu quả chống lại VG B đã được dùng ở nhiều nước từ hơn một thập kỷ. Ở Anh, việc tiêm phòng được khuyến cáo cho các NVCSSK, các nhân viên chuyển bệnh vào cấp cứu và một số sĩ quan cảnh sát. Ủy ban Hợp tác Sức khỏe về Vacxin và Tiêm phòng của Anh khuyến cáo chủng ngừa VG B cho tất cả các nhóm NVCSSK có nguy cơ phơi nhiễm với máu có khả năng bị nhiễm VG B. Có các chiến dịch qua các nhóm nghề nghiệp nhằm khuyến khích tất cả các điều dưỡng và bác sĩ tiêm phòng chống VG B. VG virut là một bệnh công nghiệp kê đơn ở những nhân viên phơi nhiễm với máu và dịch cơ thể; một NVCSSK phát triển VG B do phơi nhiễm lâm sàng có thể yêu cầu trợ cấp tai nạn công nghiệp và có thể khiếu kiện người sử dụng nếu chủng ngừa VG B không được thực hiện.

Tỷ lệ chuyển huyết thanh (bằng hoặc hơn 95%) khá cao sau chủng ngừa VG B đã được báo cáo trong các NVCSSK. Một đáp ứng kháng thể kém sau tiêm phòng trong da khiến đường tiêm này không phù hợp cho chương trình tiêm phòng nghề nghiệp; các chương trình trong da cũng không tiết kiệm vì phải cần đến các xét nghiệm kháng thể và các liều vacxin nhắc lại. Ở Mỹ và Bỉ, các chương trình chủng ngừa VG B nghề nghiệp đã cho thấy có lãi. Một ít NVCSSK không đáp ứng với các vacxin hiện dùng, những người này có thể dùng các vacxin mới hơn.

Ở Anh, có bằng chứng về sự thuyên giảm đáng kể số lượng các trường hợp của VG B cấp ở những NVCSSK trong khoảng thời gian từ 1985 đến 1988, đa số là do chương trình tiêm phòng. Sự thuyên giảm tiếp tục trong những năm gần đây. Những người sử dụng lao động có trách nhiệm bảo vệ nhân viên chống lại các may rủi nghề nghiệp. Ở Anh, VG là một nguy cơ sinh học được qui định bởi qui định về Kiểm soát các chất nguy cơ, đặc biệt các quá trình đánh giá nguy cơ đối với sức khỏe và dự báo sự huấn luyện cần thiết nhằm bảo vệ chống lại các nguy cơ. Trong trường hợp này, dự báo tiêm phòng sẽ là một trong các biện pháp bảo vệ. Dù thế, dự báo tiêm phòng cho các NVCSSK và các sinh viên không phổ biến trong các nước đã phát triển. Một khảo sát ở các bệnh viện Mỹ thấy 75% đã có các chương trình chủng ngừa VG B cho nhân viên, với các chương trình được phổ biến hơn trong các bệnh viện thành thị lớn. Tại Anh, cho đến gần đây chương trình chủng ngừa VG B bệnh viện chỉ lẻ tẻ và không đầy đủ. Một khảo sát của Khoa Sức khỏe Nghề nghiệp Bệnh viện năm 1988 ở Anh phát hiện nhiều chương trình tiêm phòng cho nhân viên còn thấp do giá thành của vacxin và khả năng tài chánh của khoa. Các hướng dẫn gần đây được thiết kế nhằm bảo vệ NVCSSK và BN đối với VG B đã qui định cần tiêm phòng và xét nghiệm tất cả các nhân viên có thể gây nhiễm cho BN cũng như lập lại khuyến cáo về tiêm phòng cho tất cả các nhân viên tiếp xúc trực tiếp hoặc gián tiếp với máu hoặc cơ thể.

Xác định các nhóm nhân viên có các mức nguy cơ VG B nghề nghiệp khác nhau, khi được yêu cầu các chương trình tiêm phòng hạn chế, là khó khăn vì nhân viên có khuynh hướng di chuyển thường xuyên và vì một vài nhóm không tiếp xúc với BN trực tiếp tuy có thể có tỷ lệ tai nạn kim tiêm cao, như các nhân viên khuân vác và các nhân viên giúp việc. Một chương trình tiêm phòng lý tưởng phải bao gồm các nhân viên có tiếp xúc trực tiếp hoặc gián tiếp với BN hoặc máu của họ. Nhiều người đồng ý các nhân viên chuyển bệnh cấp cứu phải được tiêm phòng nhưng còn bàn cãi về việc liệu các sĩ quan cảnh sát, các viên cai ngục và lính cứu hỏa có nên chủng ngừa VG B hay không? CDC khuyến cáo nếu nhiệm vụ của những nhân viên có khả năng tiếp xúc với máu hoặc dịch cơ thể, họ cần chủng ngừa VG B.

Một số các nghiên cứu đã thấy chủng ngừa VG B không đầy đủ trong các nhóm NVCSSK (bảng 20-4). Các lý do được báo cáo bao gồm sự thờ ơ, thiếu hiểu biết về

hiệu quả vacxin, nỗi sợ về tính an toàn vacxin và sự thiếu hiểu biết về truyền nhiễm VG B. Các phẫu thuật viên cũng ngại khi họ không đáp ứng với vacxin có thể dẫn đến các vấn đề nghề nghiệp. Trong nghiên cứu bởi Astbury và Baxter, tỷ lệ tiêm phòng quá thấp có thể do không được bệnh viện cung cấp; mà chỉ được tiêm phòng từ các thầy thuốc thực hành tổng quát của họ. Một nghiên cứu khác cho thấy niềm tin của nhân viên vào tính an toàn của vacxin là yếu tố tiên lượng quan trọng nhất của sự chấp nhận vacxin và việc giáo dục nhân viên về các kết quả tiêm phòng sẽ là con đường tốt nhất làm tăng tỷ lệ tham dự chương trình.

Cũng có thể tỷ lệ tiêm phòng ở nhân viên có báo cáo các sự cố phơi nhiễm máu không đại diện cho các tỷ lệ trong cộng đồng chung của các nhân viên có nguy cơ. Newman và Hambling cho rằng các nhân viên tự họ biết là được tiêm phòng thành công nên ít báo cáo các sự cố làm cho tỷ lệ tiêm phòng ở những người báo cáo quá ít. Gompertz thấy các sinh viên y khoa đã được khuyên chủng ngừa VG B nhớ đến các tai nạn do kim tiêm ít hơn những người không được khuyên như thế: ông cho rằng giáo dục làm cho thực hành an toàn hơn. Tại Bệnh viện Royal Free, nghiên cứu ở các nhân viên phòng mổ, những người tự họ biết được miễn dịch đối với VG B sau tiêm phòng thường báo cáo các tổn thương do vật nhọn hơn những người khác, có lẽ phản ánh nhận thức nguy cơ nhiễm virut của họ trong công tác. Thế nhưng, các sự cố phơi nhiễm với máu nhiễm HBV ít được báo cáo từ khi chủng ngừa VG B ở NVCSSK trở nên phổ biến trong những năm gần đây. Có lẽ quan tâm về nguy cơ VG B đã được thay thế bởi sự quan tâm lớn hơn về nguy cơ HIV. Các bác sĩ và sinh viên y khoa thường tìm hiểu nguy cơ nhiễm HIV trong công việc của họ hơn là trong cuộc sống cá nhân, với một số ít tự họ tin là có nguy cơ cao trong công tác.

Bảng 20-4. Các tỷ lệ tiêm ngừa VG B ở các nhóm NVCSSK (Theo Sở Sức Khỏe Nghề Nghiệp Royal Free).

Tác giả	Nhóm nghề nghiệp	Số nghiên cứu	% Được tiêm phòng	% Kháng thể được kiểm tra[b]
Berridge và cs	Phẫu thuật viên mạch máu	206	64	45
Williams & Flowerdew	Phẫu thuật viên tổng quát	76	87	47
Porteous	Phẫu thuật viên chỉnh hình	800	69	-
Williams và cs	Nhân viên phòng mổ	158	78	81
Astbury và Baxter	Nhân viên bệnh viện	803	25	-
Spence và Dash	Điều dưỡng trong khu vực nguy cơ cao	169	42	-
Wood	Bác sĩ chính thực hành tổng quát	416	35	-
	Thực tập sinh	32	69	-
Van-Amme và cs	Bác sĩ chính thực hành tổng quát Bỉ	149	44	-
	Nha sĩ	126	71	-
Choudhury và Cleator	Các sinh viên y khoa lâm sàng	172	95	83

Ellinghouse	Các sinh viên y khoa tiền lâm sàng	99	97	89
Newman và Hambling	Nhân viên bệnh viện trong phơi nhiễm máu	2975	49	a
Oakley và cs	Nhân viên bệnh viện trong phơi nhiễm máu	438	71	a
Stanford và cs	Nhân viên sức khỏe công cộng &bệnh viện	1464	56	46

[a] Kiểm tra ngay lúc xảy ra sự cố

[b] Tỷ lệ phần trăm của những người được tiêm phòng có đáp ứng anti-HBs đo được.

Xét nghiệm các dấu ấn VG B trước khi tiêm phòng cho các NVCSSK vẫn còn bàn cãi. Dienstag và Ryan gợi ý sự hiện diện của anti-HBs mà không có anti-HBc trong một vài NVCSSK có thể cho thấy miễn dịch tự nhiên hơn là nhiễm virut, do hậu quả phơi nhiễm VG B liên tục, mức độ thấp. Tuy nhiên, các tác giả khác đã thấy sự hiện diện của anti-HBs đơn thuần, nhất là ở mức độ thấp, có thể không có miễn dịch, và trước khi sàng lọc phải xét nghiệm cả anti-HBc. Tiền sàng lọc chỉ có lợi trong cộng đồng có nguy cơ nhiễm các dấu ấn virut cao và sẽ không bao gồm tất cả NVCSSK trừ khi họ đến từ các vùng dịch lưu hành cao. Ở Nam Phi, người ta đã cho là có hiệu quả tiền sàng lọc nhân viên điều dưỡng và nhân viên phòng thí nghiệm da đen nhưng không sàng lọc các nhân viên da trắng.

Mặc dù tỷ lệ đáp ứng cao với tiêm phòng, xét nghiệm các kháng thể đáp ứng là cần thiết trong các nhân viên phơi nhiễm nghề nghiệp đối với VG B. Những người không đáp ứng có thể được sàng lọc bằng chứng nhiễm VG B; nếu những người này không có đáp ứng hoặc đáp ứng thấp cần phải thêm các liều vacxin. Xác định người mang VG B trong các NVCSSK đảm nhiệm các thủ thuật xâm lấn là quan trọng vì lý do nghề nghiệp cũng như lâm sàng. Những người không đáp ứng cần phải nhận thức là họ không được bảo vệ chống lại VG B và hiểu tầm quan trọng của thực hành an toàn và báo cáo ngay các sự cố phơi nhiễm máu để tìm biện pháp dự phòng sau phơi nhiễm. Những người không đáp ứng phải tránh làm một số công việc như khuân vác hay thu thập các hộp chứa vật nhọn. Những người không đáp ứng đảm trách các thủ thuật xâm lấn cần được xét nghiệm HBsAg thường qui nhằm xác định họ không trở thành người mang mạn tính.

Theo Zuckerman và cs, có đến 15% NVCSSK không đáp ứng với các vacxin VG B hiện nay. Dùng một vacxin hòa nhập cả 3 thành phần của kháng nguyên S, tiền S1 và tiền S2, có thể tạo được kháng thể ở 69% NVCSSK không đáp ứng kéo dài với các vacxin qui ước.

Đối với những người luôn có nguy cơ nhiễm VG B nghề nghiệp, cần phải duy trì các mức bảo vệ sau khi tiêm phòng đầy đủ. Các tác giả không đồng ý về diễn tiến thời gian của tình trạng suy giảm mức độ kháng thể trong các cá thể sau tiêm phòng thành công và làm thế nào để xác định thời gian của các liều vacxin nhắc lại. Điều này được phản ánh qua bảng 20-5 thể hiện chính sách khác nhau trong chủng ngừa VG B đối với NVCSSK ở một số nước. Mức độ kháng thể cần cho sự bảo vệ chống

nhiễm virut VG B chưa được rõ: có bằng chứng bảo vệ ngay cả sau khi mức độ kháng thể giảm xuống dưới 10 mIU/ml. Tuy nhiên, các ước tính về các phơi nhiễm nghề nghiệp đã được xem xét lại, hiện nay nhiều người tin rằng một nồng độ 100 mIU/ml phải là mục tiêu cần đạt ở các NVCSSK. Hướng dẫn chính thức hiện nay là cho một liều nhắc lại 5 năm sau đối với NVCSSK là những người đã có đáp ứng kháng thể ban đầu đối với vacxin.

Bảng 20-5. Các khuyến cáo chủng ngừa VG B đối với NVCSSK ở các nước châu Âu và Mỹ

Chính sách tiêm phòng	Hà Lan	Đức	Thụy sĩ	Pháp	Bỉ	Anh	Mỹ
Liệu trình tiêm phòng (tháng)	0, 1, 6	0,1,6	0,1,6 hoặc 1,2,12	0,1,6 hoặc 0, 1, 2,12	0, 1, 2, 12	0, 1, 6 hoặc 0, 1 2, 12	0, 1, 6
Xét nghiệm anti-HBs sau chủng	Có	Có	Có, 1-2 tháng sau liệu trình	Không	Có	Có, tháng 13	Có
Tiêm phòng nhắc lại (theo anti-HBs mIU/ml)	Không, nếu >100 Có nếu 10-100	Có, nếu <100	Không nếu>100 Có nếu ≤100 mỗi 6-12 tháng. Xét nghiệm anti-HBs ở người > 30 tuổi	Không nếu > 10; Có, trong vòng 5 năm, nếu > 25 tuổi	Có, sau 5 năm, nếu tháng 13 > 100 và trong 5 năm nếu ≤100	Có, chỉ một liều nhắc lại sau 5 năm	Không ở người lớn bình thường

[a] nhưng đa số bệnh viện vẫn xét nghiệm

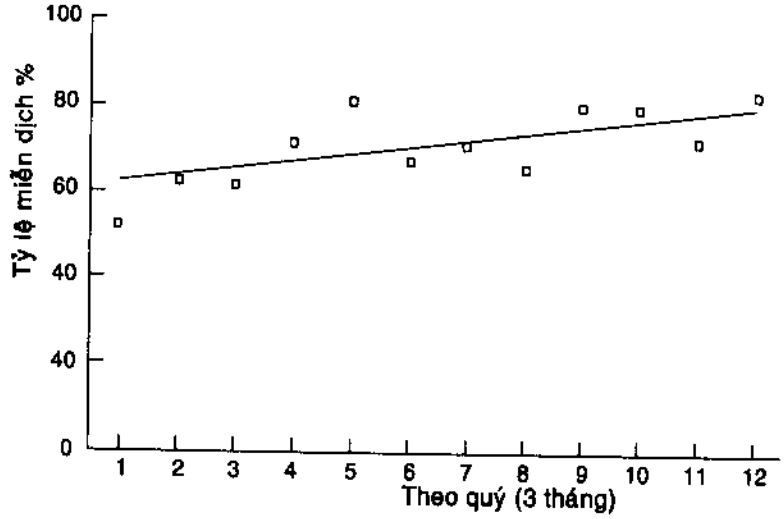
4. XỬ TRÍ

4.1. XỬ TRÍ CÁC SỰ CỐ PHƠI NHIỄM MÁU

Xử trí đúng các sự cố phơi nhiễm máu có thể giảm nguy cơ truyền nhiễm VG, dù trước đây nhân viên không được chủng ngừa VG B. Xử trí cần thiết lập tình trạng miễn dịch VG B ở nhân viên, việc xét nghiệm các BN HBsAg (và HBcAg) nguồn, việc xử dụng HBIG, nếu cần thì dùng vacxin VG B. Đối với những nhân viên không tiêm phòng, nên dùng HBIG, cùng với liều vacxin đầu tiên. HBIG đơn thuần thường không hoàn toàn hiệu quả: trong nghiên cứu của Masuko và cs, 20% nhân viên bị tai nạn kim tiêm từ các BN HBeAg(+) phát triển VG B, dù đã nhận HBIG trong 48 giờ. Có bằng chứng ISG được dùng bởi Grady và cs có một lượng nhỏ HBsAg dẫn đến

miễn dịch chủ động chống VG B ở người nhận và vì thế, cải thiện sự bảo vệ được tạo ra bởi chế phẩm này. Trong nghiên cứu gần đây ở Croatia về dự phòng HBsAg sau bị kim đâm, không một trường hợp nào phát triển VG B cấp trong 37 nhân viên được dùng HBIG cùng với vacxin VG B và trong 40 nhân viên được dùng đơn thuần vacxin, trong khi 2/34 nhân viên không dự phòng phát triển VG B cấp. Điều này cho thấy vacxin đơn thuần cũng tốt như vacxin và HBIG trong dự phòng.

Dự phòng sau phơi nhiễm có khả năng tạo bảo vệ không hoàn toàn ở các cá thể không miễn dịch, điều quan trọng là những người này phải được giám sát, nhất là khi BN nguồn có HBeAg(+). Việc dùng HBIG hình như làm chậm trễ chuyển huyết thanh 2-3 lần và phải cần hơn 8 tháng mới có bằng chứng nhiễm virut. Tiêm phòng chủ động sau phơi nhiễm sau tất cả các sự cố (ngay cả khi BN nguồn được biết không bị nhiễm VG B) là quan trọng cho sự bảo vệ trong tương lai, khi những người báo cáo các sự cố rõ ràng có nguy cơ.



Hình 20-2. *Thành phần nhân viên báo cáo các sự cố phơi nhiễmđược miễn dịch đối với VG B 1989-1991, ở bệnh viện Royal Free (Theo Oakley và cs).*

Xử trí các sự cố phơi nhiễm máu phải được thực hiện bởi một khoa đặc hiệu và việc sắp xếp báo cáo các sự cố phải được công bố rộng rãi ở tất cả các nhân viên. Xử trí các sự cố phải được xem xét thường xuyên sao cho các vấn đề phải được xác định và đối phó. Oakley và cs xem xét hơn 400 sự cố được báo cáo trong 2,5 năm và ghi nhận chỉ độ phân nửa các BN nguồn được xét nghiệm HBsAg như một hậu quả của sự cố, tuy yêu cầu xét nghiệm là chính sách rõ ràng. Không xét nghiệm chủ yếu là do các lý do hậu cần và tỷ lệ xét nghiệm tăng lên suốt thời gian nghiên cứu. Trong một ít trường hợp, BN nguồn không được xét nghiệm HBsAg ngay cả khi nhân viên bị thương không có miễn dịch đối với VG B. Nghiên cứu ở Royal Free

phát hiện tỷ lệ nhân viên báo cáo các sự cố là những người được miễn dịch VG B tăng lên đáng kể trong 3 năm qua (hình 20-2).

4.2. XỬ TRÍ CÁC NVCSSK NHIỄM VG B

Qua các bằng chứng đã được đề cập, VG B truyền nhiễm từ NVCSSK nhiễm virut đến BN qua các thủ thuật xâm lấn. Do đó, cần thiết phải bảo vệ BN bằng cách bảo đảm NVCSSK nhiễm VG B không được thực hiện các thủ thuật dễ gây truyền nhiễm. Điều này chỉ hiệu quả nếu tất cả cá thể nhiễm virut được xác định. Chủng ngừa VG B, với xét nghiệm đáp ứng kháng thể, cho phép xác định những người không đáp ứng và xác định tình trạng mang. Phác đồ hướng dẫn của Anh năm 1981 không còn phù hợp, vì các hạn chế khuyến cáo trên thực hành chỉ khi truyền nhiễm từ một NVCSSK đã được xác định.

Các hướng dẫn của Mỹ khuyến cáo rằng NVCSSK là những người thực hiện một vài thủ thuật xâm lấn có thể phơi nhiễm phải có bằng chứng miễn dịch sau chủng ngừa VG B, hoặc phải biết tình trạng HBeAg của họ; nếu HBeAg(+) họ không được tiếp tục thực hành các thủ thuật xâm lấn. Tại Anh, hướng dẫn hiện nay ban hành năm 1993 tuyên bố NVCSSK có HBeAg(+) không được tham dự vào các thủ thuật dễ phơi nhiễm (khi tổn thương đối với nhân viên có thể làm máu của họ tiếp xúc với mô của BN) và việc tiêm phòng thành công hoặc bằng chứng không có HBeAg phải là một điều kiện sử dụng nhân công trong các chuyên khoa xâm lấn. Bằng chứng miễn dịch thành công chống VG B hoặc tình trạng không nhiễm virut là một yêu cầu nhập học ở các trường y khoa ở Anh hiện nay. Nhiều trường y khoa đã đi xa hơn các hướng dẫn quốc gia, không nhận sinh viên HBsAg(+) và HBeAg(-), do bằng chứng hiện nay là những người này cũng có thể truyền nhiễm cho BN qua các thủ thuật dễ gây phơi nhiễm. Ở Anh, đang cần một hướng dẫn khác quan tâm đến quản lý nghề nghiệp của NVCSSK có HBsAg(+) và HBeAg(-) trong các chuyên khoa xâm lấn, những người này có thể không được tiếp tục thực hiện các thủ thuật dễ gây phơi nhiễm.

Hướng dẫn 1993 đã đề ra với Khoa Sức khỏe Nghề nghiệp nước Anh, các yêu cầu sinh viên y khoa trước khi nhập học phải kiểm tra VG B. Tình trạng VG B của các nhân viên mới tương đối dễ kiểm tra, và tình trạng này phải minh bạch đối với nhân viên phẫu thuật tương lai qua chủng ngừa VG B và xét nghiệm kháng thể trở thành phổ biến trong các sinh viên y khoa. Đối với nhân viên hợp đồng di chuyển thường xuyên sẽ gặp khó khăn và họ có thể công tác một khi bệnh viện đã kiểm tra tình trạng VG B của họ.

Sự cần thiết xác định NVCSSK được xét nghiệm các dấu ấn nhiễm HBV đã được nhấn mạnh qua trường hợp một phẫu thuật viên ở Anh đã bị ra khỏi ngành và vào tù sau khi thay thế mẫu máu của chính anh ta nhằm trốn tránh sự kiện là anh ta bị HBeAg(+); anh ta đã truyền nhiễm cho 24 BN. Hiện nay, máu để xét nghiệm tình

trạng VG B phải được lấy trực tiếp bởi Cơ sở Dịch vụ Sức khỏe Nghề nghiệp, hoặc bởi những người đại diện cho họ, hoặc bởi đội điều tra nếu nghi ngờ có nguy cơ truyền nhiễm cho BN.

Các nhân viên hiện đang làm việc trong các chuyên khoa xâm lấn có HBeAg(+) cần được báo tin và lời khuyên bảo tin cậy. Một phương pháp hợp lý là thảo luận với phẫu thuật viên kiểu phẫu thuật được thực hiện và khuyên tránh các thủ thuật nào dễ gây truyền nhiễm. Các thủ thuật kiểu này cần được sự đồng ý giữa các phẫu thuật viên và các chuyên khoa khác như các nhà vi trùng học, các chuyên gia kiểm soát virut và các thầy thuốc nghề nghiệp. Trong các trường hợp khó, cần tư vấn với các ban chuyên viên. Các hạn chế thực hành có thể chỉ tạm thời, vì một số sẽ trở nên HBeAg(-) với thời gian hoặc do kết quả điều trị.

Cải tiến thực hành nhằm ngăn ngừa lây nhiễm trong một số trường hợp nhưng không luôn luôn thành công. Bởi thế, có thể cần thiết điều động các nhân viên phòng mổ vào các công việc như giảng dạy hoặc nghiên cứu, cùng với việc bảo đảm thu nhập. Vấn đề bồi thường có thể đặt ra: VG B là một bệnh công nghiệp kê đơn và các phẫu thuật viên nhiễm virut có thể khởi kiện nếu họ nhiễm virut do nghề nghiệp và người sử dụng lao động không có biện pháp bảo vệ hợp lý, gồm cả tiêm phòng. Nhà quản lý y tế cần có các biện pháp đối xử với các nhân viên nhiễm VG B, cùng các vấn đề y khoa, đạo đức và thực hành. Những người sử dụng lao động ở Anh có thể đối xử tốt với các nhân viên nhiễm virut, vì họ còn ít và nếu có thể, vẫn giữ các kỹ năng của họ trong cơ quan. Các chính sách rõ ràng được chấp nhận trong khi xử trí các nhân viên nhiễm VG B có thể giúp tránh một vài nhầm lẫn và lời khuyên mâu thuẫn, vốn đã là một vấn đề trong quá khứ.

5. NGUY CƠ TRUYỀN NHIỄM NGHỀ NGHIỆP CỦA VG D

Nhiễm VG D ít khi liên quan đến nghề nghiệp, trừ các trường hợp đặc biệt. Nhân viên tiếp xúc với súc vật gây nhiễm thực nghiệm VG D phải được sàng lọc và cần chủng ngừa VG B trước khi bắt đầu công việc. Việc này nhằm bảo vệ họ khỏi nhiễm VG D mà họ có thể mắc nếu đã nhiễm VG B. Nhân viên chăm sóc BN nhiễm VG D phải được chủng ngừa VG B.

6. TÓM TẮT

Virut VG B rất dễ truyền nhiễm. VG B là một bệnh nghề nghiệp ở những nước có tần suất VG B lưu hành thấp. Tuy nhiên, ở những nước có dịch VG B lưu hành như Việt Nam, truyền nhiễm VG B cho NVCSSK bị hạn chế vì "tần suất nền" sẵn có ở NVCSSK do bị nhiễm từ nhỏ. Nhưng cũng có nhiều nghiên cứu cho thấy NVCSSK hành nghề lâu năm, thường xuyên tiếp xúc với máu, dịch tiết của BN, cũng có các dấu ấn VG B cao một cách ý nghĩa. Đây là điều cần phải tiếp tục nghiên cứu. Đối với

nước ta, vấn đề NVCSSK nhiễm HBV hiện chưa có chính sách rõ ràng từ khi đào tạo cho đến khi hành nghề. Cũng thế, vấn đề truyền nhiễm từ NVCSSK đến BN hiện vẫn chưa được chú ý. Nhiễm VG D ít khi liên quan đến nghề nghiệp. Nhân viên chăm sóc BN nhiễm VG D phải được chủng ngừa VG B.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. **Cockcroft A.** Occupational aspects of hepatitis. In Zuckerman AJ, Thomas HC, editors. Viral Hepatitis. 2nd ed. London. Churchill Livingstone; 1998: 527-45.
2. **Hoàng Công Long**. Tỷ lệ HBsAg trong những nhóm người khác nhau ở tỉnh Lâm Đồng. Vệ sinh phòng dịch, Hội VSPD Việt Nam, tập IV, số 3 (16), phụ bản 1994, 111.
3. **Châu Hữu Hầu**. Nghiên cứu một số đặc điểm dịch tễ học nhiễm virút VG trong cộng đồng dân cư tại huyện Tân Châu, Tỉnh An Giang. Luận Án PTS khoa học y dược. Học viện Quân Y. Hà Nội. 1995.
4. **Viên Chinh Chiến, Nguyễn Thị Thế Trâm, Đinh sĩ Hiền, Phạm Ngọc Cảnh và cs.** Bước đầu nhận xét về tình trạng nhiễm virút VG B ở nhân viên y tế tại một số bệnh viện. Vệ sinh phòng dịch, tập V, số 4 (23), 1995, tr 133-137.
5. **Phùng Thị Thanh Yên, Nguyễn Thị Thuyên, Nguyễn Thị Rồi, Cao Thị Minh Nguyệt**. Tình hình nhiễm virút VG B ở các nhóm nghiên cứu khác nhau tại Nha Trang, Khánh Hòa. Vệ Sinh Phòng Dịch, tập IV, số 2 (27), phụ bản, 1996, tr 36.
6. **Ayoola.** Modes of transmission and risk groups: Discussion. In International conference on prospects for eradication of hepatitis B virus. Geneva 23-24 Feb., 1989, Vaccine, Vol. 8, Sup. 1990, S41.
7. **Hadler SC**. Hepatitis B virus infection and health care workers. In International conference on prospects for eradication of hepatitis B virus. Geneva 23-24 Feb., 1989, Vaccine, Vol. 8, Sup. 1990, S24-S28.
8. **European consensus group on hepatitis B immunity**. Are booster immunisations needed for lifelong hepatitis B immunity?. Lancet 2000;355:561-65.
9. **Nguyễn Anh Tuấn**. Nghiên cứu điều tra tình hình nhiễm virut viêm gan B bằng kỹ thuật miễn dịch phóng xạ. Y học Việt Nam 1999 Số 8,9 (238-239), tr 7-10)
10. **Zuckerman JN; Sabin C; Craig FM; Williams A; Zuckerman AJ**. Immune response to a new hepatitis B vaccine in healthcare workers who had not responded to standard vaccine: randomised double blind dose-response study. BMJ 1997, 1 February: 314-329.
11. **Sheldon T.** Dutch consider obligatory testing of surgeons for heatitis B. BMJ 1999 6 November; 319:1219.
12. **Lã thị Nhẫn.** Nghiên cứu nhiễm virut viêm gan B và virus viêm gan C trên một số nhóm người ở miền Nam Việt Nam để góp phần tìm nguồn cho máu. Luận án PTS khoa học y dược. Trường ĐHY Hà Nội. 1995.
13. **Trương Xuân Liên.** Tình hình nhiễm virut viêm gan C tại TP Hồ Chí Minh. Luận án PTSKHYD, Hà Nội, 1994.

Chương 21

DỰ PHÒNG VÀ KIỂM SOÁT VIÊM GAN B

Trang

1. CÁC BIỆN PHÁP DỰ PHÒNG 559
1.1. Biện pháp giáo dục 559
1.1.1. Giáo dục cộng đồng 559
1.1.2. Giáo dục nhân viên y tế 560
1.2. Các dự phòng không đặc hiệu 560
2. DỰ PHÒNG ĐẶC HIỆU SAU PHƠI NHIỄM 561
2.1 Đối với trẻ sơ sinh của các bà mẹ HBs Ag (+) 561
2.2 Đối với người không được tiêm chủng 561
2.3. Trong gia đình 561
3. DỰ PHÒNG ĐẶC HIỆU TRƯỚC PHƠI NHIỄM 561
3.1 Sự phát triển Vacxin 562
3.2 Cách sử dụng vacxin 563
3.2.1. Trẻ sơ sinh 563
3.2.2. Đối với trẻ vị thành niên và người lớn chưa tiêm chủng 564
3.3. Xét nghiệm trước khi tiêm chủng 564
3.4. Chỗ tiêm chủng 565
3.4.1. Chỗ tiêm chuẩn 565
3.4.2.Vấn đề tiêm chủng vào cơ mông 565
3.5 Tiêm chủng VG B ở vùng dịch lưu hành trung bình và cao 566
3.6 Tiêm chủng VG B ở vùng dịch lưu hành thấp 566
3.6.1. Tiêm chủng cho trẻ vị thành niên 566
3.6.2. Tiêm chủng cho tất cả trẻ sơ sinh 567
3.7. Tiêm chủng cho NVCSSK và các nhóm nguy cơ cao khác 567
3.8 Vấn đề tiêm chủng nhắc lại 568
4. CÁC LOẠI VACXIN VG B KHÁC 571
4.1. Các vacxin polypeptit 572
4.2. Sự sản xuất vacxin VG B bằng các kỹ thuật rDNA 572
4.3. Các vacxin VG B chứa các biểu vị Pre-S 572
4.4. Các vacxin virut lai 573
4.5. Vacxin HBV DNA trần biến nạp vào Salmonella typhimurium 574
4.6. Các vacxin VG B dùng các hạt lai 574
4.6.1. Các protein vỏ ngoài lai 574
4.6.2. Các hạt lõi lai 575
4.7. Các vacxin VG B được tổng hợp về mặt hóa học 575
5. CÁC TRIỂN VỌNG TƯƠNG LAI 576
6. TÓM TẮT 577
TÀI LIỆU THAM KHẢO 578

1. CÁC BIỆN PHÁP DỰ PHÒNG

Giống như các nhiễm virut khác, quá trình nhiễm HBV gồm 3 phần: nguồn nhiễm virut, ký chủ cảm nhiễm, đường truyền nhiễm được xác định. Cách kiểm soát HBV hiệu quả nhất là ngăn ngừa để những người cảm thụ không nhiễm virut, hơn là điều trị những người đã nhiễm. Có 2 phương pháp chính để đạt tới mục tiêu này: đầu tiên là cắt đứt con đường truyền nhiễm, sau đó là tiêm chủng cho những người cảm nhiễm.

Ở các quốc gia khu vực châu Á-Thái Bình Dương, mục tiêu đầu tiên kiểm soát HBV là phòng ngừa nhiễm virut mạn, gây ra phần lớn từ các phơi nhiễm HBV rất sớm, thường trước 5 tuổi, Vì nhiễm virut xảy ra ở tuổi nhỏ nên thường gây tình trạng mang virut mạn không triệu chứng. Việc giáo dục cho các bậc cha mẹ về yêu cầu kiểm soát HBV ở bản thân và ở con cái của họ, nhất là các trẻ sơ sinh, là một bước then chốt.

1.1. BIỆN PHÁP GIÁO DỤC

1.1.1. Giáo dục cộng đồng

Đầu tiên là giới thiệu về các di chứng của nhiễm HBV, có thể được minh họa bằng các trường hợp bệnh điển hình hoặc các thống kê sinh động ở một nước nào đó. Tuy nhiên, khi trình bày các ca bệnh, phải rất cẩn thận tránh việc nhấn mạnh quá đáng về các nguy cơ di chứng chết người (như xơ gan hoặc UTTBG), vì không phải tất cả những trường hợp có HBsAg(+) đều có nguy cơ xơ gan và UTTBG. Một sự hiểu biết thích hợp về các di chứng có khả năng xảy ra sẽ không chỉ báo động cho những người được giáo dục về các hành vi làm tăng bệnh gan mạn (như uống rượu), mà còn giúp họ chấp nhận các biện pháp kiểm soát chống nhiễm HBV ở con cái của họ cũng như theo dõi đều đặn chính họ.

Tiếp theo là giáo dục về các biện pháp dự phòng, gồm các thực hành nhằm cắt đứt đường lây truyền người sang người và tiêm chủng cho trẻ cũng như các đối tượng khác.

Giáo dục cộng đồng phải được thực hiện song song với các biện pháp kiểm soát và phòng chống. Cộng đồng mục tiêu trong giáo dục có thể khác nhau tùy theo từng nước hoặc từng vùng dân cư. Thí dụ như trong các vùng dịch lưu hành cao, truyền nhiễm mẹ-con chu sinh là quan trọng và chương trình kiểm soát bao gồm globulin miễn dịch VG B (HBIG) ngay sau sinh đối với trẻ sơ sinh có nguy cơ cao thì cộng đồng mục tiêu cần giáo dục là các bà mẹ HBsAg(+) và những người trong độ tuổi sinh sản là đặc biệt quan trọng.

Giáo dục những người lãnh đạo chính quyền và đoàn thể quần chúng cũng quan trọng. Một nhận thức về phòng chống nhiễm HBV đúng đắn, các cách dự phòng và tầm quan trọng của các biện pháp sức khỏe cộng cộng để kiểm soát HBV là nội dung giáo dục cho các đối tượng này. Sự tham dự tích cực của mọi thành viên trong

cộng đồng trong các hoạt động của chương trình kiểm soát cũng nên được khuyến khích để xã hội hóa cao việc kiểm soát, phòng chống một loại bệnh hiện đang rất phổ biến trong cộng đồng là nhiễm HBV.

1.1.2. Giáo dục nhân viên y tế

Giáo dục nhân viên y tế là tuyệt đối cần thiết trong bất cứ chương trình kiểm soát nào. Những người này sẽ truyền đạt tầm quan trọng kiểm soát nhiễm HBV cho công chúng và họ cũng là những người tiến hành các biện pháp kiểm soát.

Nhân viên y tế phải biết về phát triển tự nhiên, đặc điểm dịch tễ, các cách truyền nhiễm và dự phòng HBV. Đối với các bác sĩ và nhân viên điều dưỡng, cần giáo dục về sự an toàn của dự phòng miễn dịch đặc hiệu cũng như về tiệt khuẩn nghiêm ngặt các dụng cụ y tế dùng trong điều trị và khám bệnh. Đối với nhân viên phòng thí nghiệm, cần giáo dục về các thao tác xét nghiệm tốt cũng như việc khử trùng. Đối với các dược sĩ và những người có chức năng về vật tư, cần giáo dục về việc dự trữ vacxin, nhất là các dây chuyền lạnh bảo đảm vacxin và vô khuẩn.

1.2. CÁC DỰ PHÒNG KHÔNG ĐẶC HIỆU

Các dự phòng không đặc hiệu đối với nhiễm HBV bao gồm:

- Xét nghiệm phát hiện nhiễm HBV sớm, nhất là với phụ nữ có thai, người ở tuổi sinh đẻ, trẻ sơ sinh, những người có nguy cơ cao nhiễm HBV, để kịp thời có chỉ định dự phòng đặc hiệu như dùng globulin miễn dịch hay tiêm chủng vacxin HBV.

- Phát hiện và có biện pháp quản lý những người mang HBV mạn, trong từng gia đình và trong cộng đồng để hạn chế sự lây nhiễm cho người thân và những người xung quanh.

- Thường xuyên có biện pháp khử trùng, làm vệ sinh môi trường sạch sẽ trong gia đình và môi trường sinh sống khác, nơi có các bà mẹ và những người mang HBV mạn.

- Duy trì nghiêm ngặt và thường xuyên các biện pháp khử trùng dụng cụ y tế, các chất thải gồm máu và các dịch cơ thể từ BN nhiễm HBV để hạn chế cao nhất việc lây chéo trong bệnh viện, ở các phòng khám và nơi tiêm chủng hàng loạt cho trẻ em và các đối tượng khác.

- Quản lý chặt chẽ các dụng cụ nhọn, có khả năng xuyên da, nhất là khi chúng có ô nhiễm máu và dịch cơ thể BN.

- Các biện pháp tình dục an toàn để chống lây nhiễm qua đường tình dục, đồng và khác giới.

2. DỰ PHÒNG ĐẶC HIỆU SAU PHƠI NHIỄM

Globulin miễn dịch VG B (HBIG) được bào chế từ huyết tương người có nồng độ kháng thể bề mặt VG B cao (anti-HBs) và có thể tạo miễn dịch tạm thời. Liều tối ưu chưa được xác định, nhưng tùy theo độ tuổi. Liều dùng từ 200 đến 2.000 IU tỏ ra có hiệu quả. HBIG phải được dùng sớm sau phơi nhiễm ngay khi có thể và thường trong vòng 48 giờ. HBIG không nên dùng sau phơi nhiễm quá 7 ngày. Thường 2 đến 3 liều HBIG được dùng cách nhau 30 ngày.

2.1. ĐỐI VỚI TRẺ SƠ SINH CỦA CÁC BÀ MẸ HBs Ag (+)

Các trẻ này có nhiều khả năng trở thành người mang HBV mạn nếu không được điều trị dự phòng. Các kết quả từ việc sử dụng HBIG dự phòng cho trẻ em có nguy cơ cao nhiễm virut VG B khá tốt nếu globulin miễn dịch được cho sớm sau sinh ngay khi có thể, hoặc trong vòng 12 giờ sau sinh và nguy cơ đứa trẻ phát triển tình trạng mang virut tồn tại được giảm độ 70%. Gần đây, các nghiên cứu dùng kết hợp tiêm chủng chủ động và thụ động cho thấy hiệu quả lên tới 90%. HBIG cùng với vacxin được khuyến cáo dùng trong tất cả các trường hợp như thế nhất là đứa trẻ của bà mẹ có cả HBeAg(+). Hai sinh phẩm phải tiêm ở 2 nơi khác nhau. HBIG được tiêm bắp một liều duy nhất 200 IU. Có thể tiêm nhắc lại với liều trên 1 đến 2 lần, mỗi lần cách nhau 30 ngày và kèm theo là một thời biểu tiêm chủng 3 liều vacxin HBV.

2.2. ĐỐI VỚI NGƯỜI KHÔNG ĐƯỢC TIÊM CHỦNG

Các đối tượng này khi phơi nhiễm với HBV, hoặc qua tiếp xúc tình dục thì cả HBIG và vacxin HBV nên được dùng càng sớm càng tốt ngay sau khi biết phơi nhiễm. HBIG được tiêm bắp một liều duy nhất 1.000 IU đến 2.000 IU tùy độ tuổi và cân nặng, có thể tiêm nhắc lại sau 30 ngày và kèm theo là một thời biểu tiêm chủng 3 liều vacxin HBV.

2.3. TRONG GIA ĐÌNH

Dự phòng miễn dịch và tiêm phòng không khuyến khích cho phơi nhiễm trong gia đình với một người nhiễm HBV cấp, trừ khi người bị phơi nhiễm là một trẻ dưới 12 tháng tuổi. Ngược lại, tiếp xúc trong nhà với một người VG B mạn, việc tiêm chủng lại cần thiết.

3. DỰ PHÒNG ĐẶC HIỆU TRƯỚC PHƠI NHIỄM

Sự phát triển vacxin VG B đã được tiến hành khá độc đáo so với tất cả các vacxin virut khác trước đó. Các vacxin virut cổ điển đã được phát triển bằng cách nhân bản virut trong động vật, trong trứng hay trong môi trường tế bào nuôi cấy. Sau đó, virut được bất hoạt bằng giảm độc tự nhiên hoặc xử lý vật lý hay hóa học. Tuy nhiên, kháng nguyên bề mặt VG B (HBsAg) sản xuất trong huyết tương của bệnh

nhân đã cung cấp một nguồn vật liệu kháng nguyên tự nhiên dồi dào có thể dùng làm vacxin.

Các nghiên cứu từ đầu thập niên 1970 do Krugman và cs cho thấy huyết tương lấy từ các bệnh nhân nhiễm HBV được xử lý nhiệt tạo thành vật liệu sinh miễn dịch có thể dự phòng VG B. Sự phát triển vacxin sau đó có vẻ thuận lợi do cấy chuyền thành công HBV vào hắc tinh tinh, đã được báo cáo lần đầu vào năm 1973. Thành công này đã xác lập một mô hình để thử nghiệm tính an toàn và hiệu quả của vacxin. Sau đó, nghiên cứu dẫn đến sự phát hiện nồng độ các hạt HBsAg đạt đến 10^{10}-10^{12}/ml máu khi các chế phẩm HBsAg không gây nhiễm pha loãng được xét nghiệm, chế phẩm này rõ ràng là vật liệu sinh miễn dịch có thể được dùng sản xuất vacxin. Bắt đầu từ năm 1975, các vacxin HBV thực nghiệm có thành phần HBsAg bất hoạt được tinh khiết từ huyết thanh người HBsAg(+) đã được thử nghiệm ở Mỹ, châu Âu và Viễn Đông.

3.1. SỰ PHÁT TRIỂN VACXIN

Như trên đã nói, các nỗ lực đầu tiên nhằm đánh giá khả năng phát triển một vacxin từ huyết tương bất hoạt bằng nhiệt. Các vacxin lúc đầu được bào chế từ huyết tương người cho khỏe mạnh có nồng độ HBsAg cao. Các hạt HBsAg 22 nm được tách khỏi các hạt HBV 42 nm bằng siêu ly tâm, như một phần của một tiến trình nhiều bước bao gồm sự tiêu hóa bằng pepsin ở pH= 2, xử lý bằng urê 8 M, sàng lọc phân tử và xử lý với formalin (1/4.000 trong 72 giờ ở 37°C). Tiến trình bất hoạt phá hủy HBV và toàn bộ các virut động vật khác gồm cả HIV.

Trên thế giới, hiện có độ hơn một chục vacxin có nguồn gốc từ huyết tương. Thử nghiệm lâm sàng sớm nhất dùng vacxin có nguồn gốc huyết tương được thực hiện ở hắc tinh tinh. Vacxin đã chứng minh gây miễn dịch bảo vệ an toàn và hiệu quả. Thế nhưng, các thử nghiệm trên người bị chậm lại do thận trọng và nỗi sợ truyền nhiễm bệnh. Vacxin được cấp phép sử dụng đầu tiên ở Mỹ vào năm 1982. Vacxin này hiện nay được cấp phép ở Mỹ với tên là Hepatavax-B (Merck, Sharp and Dohme, West Point, PA). Tuy nhiên, các vacxin HBV có nguồn gốc huyết tương như thế hiện ít được sử dụng.

Ở Việt Nam, từ 1995, trên cơ sở tiếp thu công nghệ của Mỹ, loại vacxin từ huyết tương người đã được nghiên cứu phát triển. Vacxin hiện nay có tên HB vaccine (Cty vacxin và sinh phẩm số 1- Vabiotech) đã được sử dụng cho chương trình tiêm chủng mở rộng nhằm bảo vệ cho trẻ sơ sinh và trẻ trong vòng 12 tháng tuổi khỏi nhiễm HBV. Các vacxin chế từ huyết tương đều chứa hàm lượng 10 đến 20 µg HBsAg bất hoạt cho một liều với sự có mặt của tá chất phèn nhôm và thimerosal như là chất bảo quản.

Tuy nhiên, vào cuối thập niên 1980, các vacxin có nguồn gốc huyết tương không còn được ưa chuộng nữa vì nỗi sợ truyền nhiễm HIV. Mặc dù mức độ an toàn đã được chứng minh, các vacxin này đã bị thay thế bằng các vacxin không bào chế từ huyết tương người mà từ các chất liệu tái tổ hợp có thể được sản xuất trong các vật truyền nhân chuẩn.

Gần đây, gen mã hóa HBsAg đã được đặt vào một plasmit được mang bởi một loài nấm, Saccharomyces cerevisiae. Protein được sản xuất sau đó được tinh khiết, hấp phụ vào tá chất phèn nhôm và được cho vào dung dịch bảo quản thimerosal. Protein này ước chừng 24 kDa, nhỏ hơn HBsAg tự nhiên vì thiếu các chuỗi đường cạnh bên. Vacxin tái tổ hợp đã chứng minh tạo sự bảo vệ chống lại nhiễm HBV. Nhiều vacxin được mã hóa từ nấm đã được cấp phép.

Hai vacxin HBV có nguồn gốc từ nấm được sử dụng nhiều nhất là Engerix-B (SmithKline Beecham, Philadelphia, PA) và Recombivax HB (Merck, Sharp and Dohme), được cấp bằng trong hầu hết các nước. Sự khảo sát chung các vacxin HBV đã được báo cáo trong năm 1993 cho thấy có ít nhất 5 vacxin có nguồn gốc từ nấm đã được bán trên thị trường và là các vacxin HBV được ưa chuộng nhất. Các vacxin Engerix-B và Recombivax HB bao gồm các hạt HBsAg không glycosyl hóa đã được tinh khiết bằng các phương pháp lý hóa, hấp phụ vào phèn và được bảo tồn bằng thimerosal. Gần đây, vào tháng 5/2001, FDA cũng đã chấp thuận một vacxin phối hợp dự phòng VG A và B dưới tên twinrix (vacxin VG A bất hoạt và vacxin VG B tái tổ hợp, do hãng GlaxoSmithKline Biologicals sản xuất). Đây là loại vacxin dùng cho những người trên 18 tuổi với 3 lần tiêm. Hiện vacxin đã được khoảng 70 nước cấp phép.

Các thử nghiệm về hiệu quả bảo vệ trong các nhóm nguy cơ cao đã chứng minh giá trị và tính an toàn của vacxin. Không có nguy cơ truyền nhiễm HIV hoặc bất cứ virut nào khác qua các vacxin dẫn xuất từ huyết tương. Các phản ứng tại chỗ được báo cáo sau tiêm chủng ít, xảy ra dưới 20% những người được dùng vacxin bao gồm tình trạng sưng nhẹ và đỏ tại chỗ tiêm chủng, sốt nhẹ dưới 38° chỉ thấy trong một số ít bệnh nhân.

3.2. CÁCH SỬ DỤNG VACXIN

3.2.1. Trẻ sơ sinh

Tiêm chủng HBV được khuyến cáo cho trẻ sơ sinh trong vòng 12 giờ sau sinh nếu người mẹ bị nhiễm HBV và trong tất cả các trường hợp được khuyến cáo trước khi trẻ sơ sinh ra viện. Lịch tiêm chủng gồm 4 liều vacxin được sử dụng vào lúc sinh, 1, 2 và 12 tháng sau sinh (lịch tiêm 0, 1, 2, 12), với liều 5-10 µg/liều đối với trẻ Việt Nam. Cũng có thể áp dụng lịch tiêm 0, 1, 6 tháng với liều trên và tiêm nhắc lại sau 5 năm.

Đối với trẻ em chưa được tiêm chủng trước khi ra viện sau sinh, việc bắt đầu loạt tiêm chủng được khuyến cáo vào lúc thăm khám bác sĩ đầu tiên, thường vào lúc 1-2 tháng tuổi. Sau đó, loạt tiêm chủng tiếp tục vào tháng thứ 1 và tháng thứ 6 sau lần

tiêm đầu tiên (lịch tiêm 0, 1, 6 tháng). Lịch và liều tiêm như trên có thể áp dụng cho mọi đứa trẻ dưới 12 tháng tuổi.

3.2.2. Đối với trẻ vị thành niên và người lớn chưa tiêm chủng

Sự khuyến cáo tiêm phòng HBV được mở rộng đến tất cả những người có nguy cơ cao. Liều lượng trong tiêm chủng nhóm vị thành niên gấp đôi liều lượng dùng cho trẻ dưới 12 tháng tuổi, đối với người lớn là 2-4 lần liều lượng trẻ < 1 tuổi, tùy vào chế phẩm được dùng. Đối với các nhóm có nguy cơ cao, như các bệnh nhân được thẩm tách hay những người thường xuyên nhận máu có thể dùng liều cao 2-4 lần liều người lớn tùy theo chế phẩm.

Bảng 16-1. Khuyến cáo của Hội đồng Tư vấn về Thực hành Tiêm chủng của CDC (ACIP) về các liều lượng trong tiêm chủng dự phòng đặc hiệu HBV

Nhóm	HBIG[a]	Engerix B (µg)	Recombivax HB(µg)
Trước phơi nhiễm			
Trẻ < 1 tuổi và ≤ 10 tuổi	KD[b]	10[c]	2,5[c]
Vị thành niên 11-19 tuổi	KD	20[c]	5[c]
Người lớn ≥ 20 tuổi	KD	20[c]	10[c]
BN thẩm phân phúc mạc/tổn thương miễn dịch	KD	40[c]	40[c]
Sau phơi nhiễm			
Chu sinh	0,5 ml	10	5
Tình dục	0,06 ml/kg	20	10
Người đáp ứng được chủng	KD	KD hoặc 1 liều-xem lứa tuổi[d]	
Không đáp ứng	0,006 ml/kg x 2 hoặc 0,06 ml/kg		
		20	10
Không xác định	Không[d] hoặc 0,06 ml/kg		
		20	10

[a] HBIG: Globulin miễn dịch VG B được dùng tiêm bắp

[b] KD: không dùng

[c] Vacxin được cho vào các tháng 0, 1 và 6

[d] Kiểm tra nồng độ kháng thể anti-HBs trước, nếu không đủ (≥ 10 mIU), cho một liều nhắc lại.

3.3. XÉT NGHIỆM TRƯỚC KHI TIÊM CHỦNG

Hội nghị Thỏa thuận về dự phòng và điều trị VG virut B và C trong khu vực châu Á-Thái Bình Dương căn cứ vào đặc điểm dịch tễ học của VG virut có đưa ra khuyến cáo:

- Trẻ sơ sinh cho đến dưới 10 tuổi: không cần xét nghiệm trước tiêm chủng.
- Trẻ trên 10 tuổi và người lớn: cần xét nghiệm trước tiêm chủng: đầu tiên thử HBsAg, nếu:

HBsAg(+), thử tiếp HBeAg

HBsAg(-), thử tiếp anti-HBs: anti-HBs(-) thì tiêm chủng, anti-HBs(+) không chủng.

Ở Việt Nam, các trẻ em dưới 12 tháng tuổi trong diện tiêm chủng mở rộng đều được tiêm chủng nhiễm HBV miễn phí và không cần xét nghiệm trước. Với các đối tượng khác cũng không có yếu cầu xét nghiệm trước tiêm chủng do những khó khăn về kinh tế và kỹ thuật. Tuy nhiên, các phụ nữ có thai trước ngày sinh và một số đối tượng có nguy cơ nhiễm HBV cao, kể cả các thầy thuốc được khuyên nên làm xét nghiệm HBsAg và anti-HBs để có quyết định tiêm chủng vacxin và/hoặc HBIG. Hàm lượng anti-HBs dưới 10 mIU/ml huyết thanh thì được coi là không có giá trị bảo vệ khỏi nhiễm mới HBV.

3.4. CHỖ TIÊM CHỦNG

3.4.1. Chỗ tiêm chuẩn

Tiêm chủng vacxin VG B được thực hiện bằng tiêm bắp ở cánh tay trên hoặc mặt trước bên của đùi nhưng không tiêm vào mông. Trên cơ sở các xét nghiệm kháng thể sau tiêm chủng, Hội đồng Tư vấn về Thực hành Tiêm chủng của CDC (ACIP) đã khuyến cáo rằng cánh tay được dùng như chổ tiêm chủng VG B ở người lớn.

3.4.2. Vấn đề tiêm chủng vào cơ mông

Đã có hơn 100 báo cáo về tỷ lệ chuyển huyết thanh kháng thể thấp không đạt yêu cầu sau tiêm chủng VG B bằng cách tiêm vào mông. Trong một trung tâm ở Mỹ, đáp ứng kháng thể thấp được ghi nhận trong 54% nhân viên y tế khỏe mạnh được tiêm chủng. Nhiều nghiên cứu sau đó đã chứng minh tỷ lệ đáp ứng kháng thể cao một cách ý nghĩa ở các thử nghiệm tiêm vào cơ delta hơn là tiêm vào cơ mông.

Một nghiên cứu toàn diện ở Mỹ thực hiện bởi Shaw cà cs chứng minh những người được tiêm vacxin ở cơ delta có nồng độ kháng thể 17 lần cao hơn những người được tiêm vào mông. Hơn nữa, những người được tiêm vào mông có 2 đến 4 lần khả năng không đạt đến nồng độ kháng thể tối thiểu 10 mIU/mL sau tiêm chủng. Các báo cáo gần đây cũng đã liên hệ tiêm vào mông như một yếu tố có khả năng thất bại trong dự phòng sau phơi nhiễm bệnh dại khi dùng một vacxin dại tế bào lưỡng bội người. Những lý do có thể thất bại khi tiêm vào cơ mông:

- Có thể vào mô mỡ sâu với kim ngắn hơn 5 cm.
- Kháng nguyên nhanh chóng vào hệ tuần hoàn từ chổ tiêm trong mỡ, dẫn đến việc thiếu sót trong xử lý bởi đại thực bào và cuối cùng trình diện với các tế bào T và B.

- Các enzyme của kháng nguyên ở trong mỡ nhiều giờ hoặc nhiều ngày có thể bị biến tính.

- Nếp gấp da dầy hơn liên quan với một đáp ứng kháng thể thấp hơn.

Các quan sát này có nhiều liên quan đến sức khỏe công cộng, được minh họa bằng dự đoán độ 20% người tiêm chủng VG B vào mông ở Mỹ vào tháng 3, 1985 (độ 60.000 người) không đạt đến nồng độ kháng thể tối thiểu 10 mIU/ml và vì thế không gây được bảo vệ.

3.5. TIÊM CHỦNG VG B Ở VÙNG DỊCH LƯU HÀNH TRUNG BÌNH VÀ CAO

Xuất phát từ những đặc điểm dịch tễ nhiễm HBV và các điều kiện kinh tế xã hội, các khuyến cáo trong việc tiêm chủng chống VG B trong những vùng có tần suất trung bình và cao ưu tiên vào tiêm chủng phổ thông trẻ dưới 1 tuổi. Sau khuyến cáo của WHO năm 1991 về việc hòa nhập vacxin VG B vào chương trình tiêm chủng phổ thông, nhiều nước, trong đó có Mỹ và Itali, đã đưa vào tiêm chủng phổ thông từ năm 1992 và đa số các nước đã thực hiện chính sách này vào các năm sau. Tính đến năm 2000 đã có hơn 100 nước đưa vacxin VG B vào chương trình tiêm chủng quốc gia.

Tuy lấy các trẻ em < 12 tháng tuổi là đối tượng bảo vệ khỏi nhiễm HBV ở các khu vực tần suất nhiễm trung bình và cao, song các đối tượng khác, trước hết là các trẻ ở tuổi học đường, trẻ vị thành niên và một số nhóm người lớn tuổi có nguy cơ cao nhiễm virut vẫn được khuyên đi tiêm chủng vacxin HBV nếu có điều kiện và trong một số tình huống cần thiết, để chủ động bảo vệ khỏi những tác hại lâu dài vcủa nhiễm HBV như một bệnh còn phổ biến ở cộng đồng.

3.6. TIÊM CHỦNG VG B Ở VÙNG DỊCH LƯU HÀNH THẤP

3.6.1. Tiêm chủng cho trẻ vị thành niên

Chiến lược này phân phối vacxin gần thời điểm trẻ vị thành niên (11-19 tuổi) có thể có hành vi nguy cơ phơi nhiễm với virut. Tiêm chủng được xem như một phần của một chính sách lớn về giáo dục sức khỏe bao gồm giáo dục giới tính, nguy cơ AIDS, các hậu quả nguy hiểm của việc tiêm chích xì ke, hút thuốc lá và các lợi ích của một chế độ ăn và cách sống khỏe mạnh ngay từ tuổi vị thành niên.

Các biện pháp cụ thể của chiến lược như sau:

- Thuyết phục cha mẹ chấp nhận tiêm chủng cho trẻ chống VG B là một bệnh truyền qua đường tình dục, một vấn đề họ không muốn bàn tới vào thời điểm này.

- Bảo đảm một liệu trình 3 liều đầy đủ của vacxin VG B.
- Đánh giá và giám sát sự bao phủ vacxin.

3.6.2.. Tiêm chủng cho tất cả trẻ sơ sinh

Sử dụng vacxin VG B hiện nay đã được khuyến cáo một cách phổ thông đối với trẻ một thời gian ngắn ngay sau sinh và trước khi rời bệnh viện với liều đầu tiên và liều nhắc lại vào lúc 1-2 tháng sau và 12 tháng tuổi.

Thuận lợi của chiến lược này là cha mẹ dễ chấp nhận tiêm chủng chống VG B cùng với các tiêm chủng bệnh khác. Các bất lợi của chiến lược này có thể là:

- Liệu miễn dịch có kéo dài cho đến khi phơi nhiễm vào lúc lớn tuổi hay không? Điều này có thể không thành vấn đề do nhiều người được tiêm chủng và vì thế nguy cơ có tính cộng đồng với virut giảm xuống.
- Các loại vacxin khác trong chương trình tiêm chủng phổ thông có thể cạnh tranh làm giảm hiệu quả của tiêm chủng VG B. Vấn đề này có thể tránh được nếu vacxin VG B được đưa vào trong một vacxin phối hợp chứa DPT (bạch hầu, ho gà, uốn ván) và ngay cả với vacxin HIB và viêm nãoNhật Bản. Tuy nhiên, vấn đề cần được đánh giá thêm.

Tiêm chủng cho trẻ nhỏ được khuyến khích hơn tiêm chủng ở lứa tuổi vị thành niên, do có cơ chế đầy đủ nhằm bảo đảm, giám sát và đánh giá mức độ bao phủ. Một liều nhắc lại có thể được cho vào lúc 5 tuổi và khi bước vào lứa tuổi vị thành niên cùng với chương trình giáo dục sức khỏe. Một chương trình cuốn chiếu có thể được hình thành với ưu tiên cho các vùng dân cư tập trung cao và cũng là chiến lược tiêm chủng hiện nay ở Việt Nam.

3.7. TIÊM CHỦNG CHO NVCSSK VÀ CÁC NHÓM NGUY CƠ CAO KHÁC

Trong một nghiên cứu gần đây trên các NVCSSK ở Mỹ cho thấy mới có khoảng 2/3 số nhân viên y tế nhận đủ 3 liều vacxin VG B. Tuy nhiên, số lượng các trường hợp nhiễm HBV do hậu quả của phơi nhiễm trong lúc thực hiện nhiệm vụ đã giảm xuống một cách đáng kể ở Mỹ, từ 17.000 năm 1983 xuống 400 vào năm 1995.

Những người có nguy cơ cao, các nhân viên trong các đơn vị thẩm tách máu, bác sĩ, điều dưỡng viên, có tỷ lệ tiêm chủng cao nhất (gần 75%), trong khi các chuyên gia dinh dưỡng và các nhân viên hỗ trợ khác thường có tỷ lệ thấp hơn.

Bảng 16-2. Những người có nguy cơ cần tiêm chủng VG B (theo ALF: Tổ chức Gan nước Mỹ)

- Những người cung cấp dịch vụ cấp cứu như cứu thương, cảnh sát, lính cứu hỏa.
- Các nhóm dân tộc có tỷ lệ nhiễm HBV cao và những người đến từ các vùng dịch HBV lưu hành như thổ dân Alaska, Trung Quốc, người Filipinos, người Haitians, người Đông Dương, Hàn quốc, người Mỹ bản xứ là NVCSSK như bác sĩ, nha sĩ, điều dưỡng và các kỹ thuật viên xét nghiệm và huyết học.
- Các bệnh nhân thẩm tách máu và nhân viên y tế.
- Người cùng trong nhà và bạn tình của người mang HBV mạn tính.
- Khách du lịch quốc tế.
- Nhân viên quân sự.
- Người làm dịch vụ lễ tang và nhân viên nhà xác.
- Các bệnh nhân và nhân viên ở một vài trung tâm cứu tế như các trung tâm châm phát triển tâm thần, cải huấn lâu dài.
- Người có nhiều bạn tình, luyến ái đồng giới hoặc khác giới.
- Người nhận các sản phẩm máu

3.8. VẤN ĐỀ TIÊM CHỦNG NHẮC LẠI

Các nghiên cứu trước đây cho thấy trên 90% những người khỏe mạnh được tiêm đủ 3 liều vacxin HBV sẽ phát triển miễn dịch bảo vệ, với nồng độ kháng thể anti-HBs ≥ 10 mIU/ml được đo bằng phương pháp RIA hoặc bằng phương pháp ELISA. Các đáp ứng kháng thể giảm dần sau tiêm chủng nhưng nồng độ bảo vệ còn duy trì nhiều năm. Nồng độ thường giảm xuống dưới 10 mIU/ml nhưng trí nhớ miễn dịch có thể duy trì qua các tế bào lympho T và B. Điều này đã được chứng minh qua các nghiên cứu trong đó một liều vacxin nhắc lại được cho 5-7 năm sau loạt chủng đầu tiên đã tạo ra một đáp ứng miễn dịch cao.

Ở những người không đáp ứng với loạt tiêm chủng đầu tiên thì một liều hoặc một số liều vacxin nhắc lại nhưng không chắc chắn thành công. Vấn đề tái chủng ở những người đã tiêm đủ 3 liều mà không có nồng độ kháng thể ≥ 10 mIU/ml còn đang bàn cãi. ACIP khuyến cáo tái chủng cho những người thất bại đáp ứng đối với chế độ 3 liều đầu tiên bằng cách dùng một hoặc nhiều liều nhắc lại. Tỷ lệ đáp ứng cho người nhận một liều nhắc lại thay đổi từ 18 đến 54% đối với người không đáp ứng và từ 33 đến 83% đối với người đáp ứng kém (anti-HBs(+) nhưng dưới 10 mIU/ml). Nếu tái chủng nhắc lại 3 liều đã cho thấy tỷ lệ đáp ứng là 44 đến 75%. Trong các nghiên cứu gần đây, Chedid và cs chỉ ra nguyên nhân đáp ứng nghèo nàn là do các tế bào lympho Th1. Các vacxin tương lai phải được thiết kế để vượt qua khiếm khuyết này.

Vấn đề tiêm chủng nhắc lại trước đây không được thống nhất mà tùy theo nhà nghiên cứu, tùy theo từng quốc gia. Mãi đến năm 1999, một hội nghị đồng thuận của châu Âu về tiêm chủng VG B được tổ chức dưới sự lãnh đạo của Kane, giám đốc

chương trình vacxin của Tổ chức Y tế Thế giới và các khuyến cáo được tóm tắt trong một số điểm sau:

• Độ bền của đáp ứng miễn dịch sau khi dùng kháng nguyên bề mặt HBV (HBsAg), là cơ sở của tiêm chủng chống VG B. Sự tồn tại anti-HBs liên quan chặt chẽ với đáp ứng anti-HBs đỉnh của người được tiêm vacxin. Nồng độ kháng thể giảm xuống khá nhanh trong một số năm đầu sau tiêm chủng hơn là những năm sau đó.

• Người được tiêm chủng không có anti-HBs phát hiện được nhiều năm sau đợt tiêm chủng ban đầu có một đáp ứng nhớ lại khá mạnh. Sau khi tiêm chủng nhắc lại, nồng độ anti-HBs tăng lên đáng kể trong vòng 3-5 ngày. Khi nhiễm HBV tự nhiên, sau một thời kỳ ủ bệnh từ 4 đến 12 tuần, hoạt hóa nhanh chóng tế bào lympho T ký ức ngăn ngừa hoặc giảm thiểu mức độ nhiễm virut trầm trọng. Tuy có nguy cơ rất nhỏ, thời gian chậm trễ giữa nhiễm virut và kích thích tế bào lympho ký ức có thể làm tế bào gan nhiễm virut, nhưng không có trường hợp nào được công bố về người được tiêm chủng có nhiễm virut đột phá lành tính tạm thời (như dương với anti-HBc nhưng âm với HBsAg) đã phát triển bệnh gan mạn tính do hậu quả trực tiếp của nhiễm HBV. Các nghiên cứu về các cộng đồng có nguy cơ phơi nhiễm với HBV cao được tiêm chủng củng cố giả thuyết cho rằng trí nhớ miễn dịch tạo sự bảo vệ kéo dài chống lại nhiễm virut tái nhiễm có biểu hiện về mặt lâm sàng. Nghiên cứu ở 171 trẻ em Đài Loan được tiêm chủng vào lúc sơ sinh với đủ 3 liều, 140 được theo dõi trong 5 năm và 83% có nồng độ anti-HBs trên 10 mIU/ml. Tỷ lệ nhiễm HBV hàng năm ở trẻ HBsAg(-) là 2%, được suy ra do tái xuất hiện anti-HBc (tất cả trẻ em có anti-HBc của mẹ vào lúc bắt đầu nghiên cứu), nhưng không có trường hợp nào phát triển tình trạng HBsAg(+).

• Ký ức miễn dịch đặc hiệu HBsAg tồn tại trong tuần hoàn ngoại vi ngay cả khi người được tiêm chủng đã mất kháng thể. Theo dõi 465 công nhân bệnh viện đã được tiêm chủng, gần 30% có nồng độ anti-HBs dưới 10 mIU/ml cho đến 15 năm sau lần tiêm chủng ban đầu. Những người có anti-HBs không phát hiện được (<10 mIU/ml) được xét nghiệm để biết họ có được mẫn cảm sơ bộ về mặt miễn dịch bởi ELISA đốm tế bào B (B-cell spot ELISA) (phát hiện các kháng thể và các yếu tố điều hòa được sản xuất bởi các tế bào lympho) hoặc họ có đáp ứng ký ức sau khi dùng liều nhắc lại. Tất cả cá thể đều có bằng chứng của sự mẫn cảm miễn dịch ban đầu. Thời gian lưu giữ ký ức miễn dịch còn cần được tìm hiểu thêm và các nghiên cứu theo dõi các nhóm được tiêm chủng sống trong môi trường nguy cơ cao còn đang tiếp tục. Tuy nhiên, các kết quả công bố cho đến nay cho thấy thời gian này tối thiểu là 10 năm, có thể lâu hơn nữa. Thí dụ, một khảo sát 10 năm sau tiêm chủng ở 1.630 người sống trong một cộng đồng nhiễm HBV tần suất cao phát hiện chỉ có 13 (0,8%) người phát triển anti-HBc tuy không có trường hợp tái nhiễm virut nào có ý nghĩa về mặt lâm sàng

• Sau tiêm chủng lần đầu vacxin phòng VG B, có một tỷ lệ nhất định số người không đáp ứng miễn dịch hoặc đáp ứng rất yếu. Tỷ lệ chính xác của nhóm này phụ thuộc vào mức qui định ngưỡng đáp ứng là 10 mIU/ml hay là 100 mIU/ml tùy từng quốc gia (ví dụ ở Anh là 100 mIU/ml mới được coi là ngưỡng có đáp ứng tối thiểu). Tuy nhiên, số liệu từ một số nghiên cứu đưa ra con số trung bình 5%-10% những người khỏe mạnh được tiêm chủng VG B (kể cả vacxin huyết tương và vacxin tái tổ hợp) đã không hoặc đáp ứng yếu với liều tiêm qui ước. Những người không đáp ứng vẫn có khả năng nhiễm với HBV. Nhiều yếu tố tác động bất lợi đến đáp ứng kháng thể đối với HBsAg bao gồm nơi và đường tiêm, giới tính, tuổi cao, khối lượng cơ thể (quá mập), ức chế miễn dịch, khiếm khuyết miễn dịch. Tuy nhiên, các cơ chế về không đáp ứng với thành phần S của HBsAg ở người chưa được giải thích rõ. Bằng chứng về sự liên quan giữa các alen HLA-DR khác nhau và tính đáp ứng kém đặc hiệu trong nhiều cộng đồng chủng tộc khác nhau đang được tích lũy. Việc dùng thêm các liều vacxin cho những người không đáp ứng hoặc đáp ứng thấp có thể tạo ra một đáp ứng kháng thể và mẫn cảm miễn dịch ban đầu trong một số trường hợp. Chiaramonte và cs cho rằng người không đáp ứng biểu kiến này có thể đã phát triển miễn dịch qua trung gian tế bào mà không có đáp ứng thể dịch trong quá trình tiêm chủng lần đầu và đáp ứng thể dịch chỉ phát triển sau khi tiêm chủng nhắc lại. Tuy nhiên, kiểu đáp ứng đặc biệt này cần được khảo sát thêm, nỗ lực hiện nay là dùng các liều tiêm chủng thêm để đảm bảo những người không đạt nồng độ anti-HBs tối thiểu sau liệu trình ban đầu, cuối cùng cũng đạt được.

• Có 3 lựa chọn liên quan đến việc tiêm nhắc lại nhằm duy trì kết quả tiêm chủng bền vững.

* Tin cậy vào ký ức miễn dịch hơn là những liều nhắc lại nhằm bảo vệ chống lại nhiễm virut đột phá có ý nghĩa về mặt lâm sàng

* Dự phòng tiêm chủng nhắc lại thường xuyên cho tất cả những người được tiêm chủng mà không đánh giá tình trạng anti-HBs

* Xét nghiệm anti-HBs một tháng sau khi tiêm chủng lần đầu hoặc tiêm chủng nhắc lại và dùng một liều nhắc lại hoặc thêm một liều nhắc lại nữa trước khi nồng độ anti-HBs bảo vệ tối thiểu đạt được.

• Chỉ định tiêm nhắc lại đối với một số nhóm nguy cơ cao hơn trong nhiễm HBV trong xã hội:

* Không cần thiết có liều tiêm nhắc lại, trừ những trường hợp phơi nhiễm đặc biệt: NVCSSK, người tiêm chích ma túy, người có hành vi tình dục nguy cơ cao, khác du lịch tới vùng dịch HBV lưu hành cao, người tiếp xúc gần gũi với người mang HBsAg và người di cư HBsAg(+).

* Đối với BN bị thương tổn miễn dịch, một số tác giả ủng hộ việc dùng các liều nhắc lại nhằm duy trì nồng độ anti-HBs trên 10 mIU/ml ở những người tổn thương

miễn dịch, như được khuyến cáo đối với các bệnh nhân thẩm tách máu do Ủy ban tư vấn về thực hành tiêm chủng của Mỹ. Các liều chủng thêm hoặc liều gấp đôi được khuyến cáo cho những người không đáp ứng. Các cố gắng nên thực hiện việc sử dụng vacxin vào thời điểm đáp ứng miễn dịch của bệnh nhân có khả năng lên tối đa, thí dụ như trước khi bắt đầu thẩm tách máu. Vì kháng thể có khả năng tồn tại với thời gian ở các bệnh nhân tổn thương miễn dịch ít hơn các bệnh nhân có thẩm quyền miễn dịch, việc xét nghiệm sau tiêm chủng mỗi 6 đến 12 tháng được khuyến cáo.

* Đối với người trong trại tâm thần, sự bảo vệ lâu dài ở nhóm người này đã được báo cáo. Người lớn đã nhận một đợt tiêm chủng ban đầu 11 năm trước đó (liệu trình 0, 1, 6 tháng hoặc 0, 1, 6, 12 tháng nếu không đạt đến nồng độ 100 mIU/ml) được cho 1 liều nhắc lại sau 5 năm. Một đáp ứng nhanh chóng và mạnh mẽ đối với liều nhắc lại cho thấy ký ức miễn dịch còn nguyên vẹn, và khi chấm dứt nghiên cứu theo dõi kéo dài 11 năm không có nhiễm trùng đột phá có ý nghĩa nào. Các phát hiện này cho thấy bảo vệ lâu dài khá tốt và không cần các liều nhắc thêm. Vì nguy cơ tuyền nhiễm theo chiều ngang trong các trại tâm thần, nhân viên tiếp xúc chặt chẽ với những người này cần được tiêm chủng ban đầu như với các NVCSSK khác.

4. CÁC LOẠI VACXIN VG B KHÁC

Hiện nay đã có nhiều loại vacxin phòng VG B, nhưng phổ biến nhất là các vacxin thế hệ thứ hai được sản xuất bằng công nghệ tái tổ hợp dùng tế bào nấm men từ năm 1986; các vacxin thế hệ thứ nhất có nguồn gốc từ huyết tương sản xuất từ năm 1981 ngày nay chỉ còn dùng ở một số nước. Ngoài ra còn nhiều loại vacxin VG B khác hiện còn đang thử nghiệm.

Bảng 16-4. Các loại thuốc tiêm chủng được phép lưu hành trên thị trường quốc tế.

Tên thương mại	Nguồn gốc	Nhà sản xuất	Nước cho phép
ENGERIX B	Men	SmithKline Beecham	Hoa Kỳ, EU, Viễn Đông
RECOMBIVAX HB	Men	Merck	và một số nước khác
H-B VAX II			Hoa Kỳ, EU, Nhật,
BIMMUGEN	Men	Kaketsuken	và một số nước khác
EICHI-BI-WAI	Men	Green Cross	Nhật, Viễn Đông
HEPRECOMB	Men	Berna	Nhật
GENHEVACB	Tế bào loài có	Pasteur Mérieux	Thụy sĩ, Colombia
r-HB VACCINE	vú	Mitsubishi	Pháp, Argentina
HEVAC B	Tế bào loài có	Pasteur Mérieux	Nhật
HB VACCINE MIDORI	vú	Green Cross (Nhật)	Viễn Đông, EU
HEPAVAX B	Huyết tương	Green Cross	Nhật
HB VACCINE HOKKEN	Huyết tương	Kitasato	Viễn Đông
HEPACCINE B	Huyết tương	Cheil Sugar	Nhật
	Huyết tương		Viễn Đông
	Huyết tương		

4.1. CÁC VACXIN POLYPEPTIT

Các vacxin polypeptit VG B chứa các quyết định kháng nguyên VG B đặc hiệu của peptit I không glycosyl hóa chính của kháng nguyên bề mặt có trọng lượng phân tử từ 22.000 đến 24.000 và dạng glycosyl hóa của nó, một polypeptit có trong lượng phân tử thay đổi từ 22.000 đến 24.000 đã được chuẩn bị trong dạng chuỗi phân tử (micellar form). Các polypeptit riêng biệt của kháng nguyên bề mặt có tính sinh miễn dịch và các polypeptit tinh khiết trọng lượng phân tử 24.000 (được gọi là p24) và 27.000 (gp27) là các kháng nguyên có hiệu lực. Các thử nghiệm lâm sàng của vacxin polypeptit chuỗi phân tử đã được tiến hành.

4.2. SỰ SẢN XUẤT VACXIN VG B BẰNG CÁC KỸ THUẬT RDNA

Các kỹ thuật DNA tái tổ hợp đã được dùng để biểu hiện kháng nguyên bề mặt và kháng nguyên lõi của VG B trong các tế bào có nhân nguyên thủy (prokaryotic) như E. coli và B. subtilis và trong các tế bào có nhân thực như các dòng LM chuột chuyển gen, HeLa, COS, CHO (buồng trứng chuột đất vàng Trung Quốc) và các tế bào men (S. cerevisiae).

Các vacxin VG B men tái tổ hợp được đánh giá chặt chẽ qua các thử nghiệm lâm sàng. Các kết quả cho thấy vacxin này an toàn, sinh kháng thể và không có các tác dụng phụ (trừ một ít các phản ứng tại chỗ trong một số người được chủng), tính sinh miễn dịch nhìn chung tương tự với tính sinh miễn dịch của vacxin có nguồn gốc từ huyết tương. Các vacxin VG B men tái tổ hợp hiện nay được dùng trong nhiều nước. Một vacxin trên cơ sở HBsAg sản xuất trên tế bào ở loài có vú (CHO) được dùng ở Trung Quốc.

Hiện nay, các nhà nghiên cứu đang quan tâm về sự xuất hiện các đột biến HBV không được trung hòa bởi anti-HBs có nguồn gốc do tiêm chủng. Lan truyền theo chiều ngang của các virut này chưa được báo cáo nhưng có thể xảy ra. Nếu số lượng các đột biến có giới hạn, có thể chấp nhận các đột biến này trong việc thiết kế một công thức vacxin VG B trong tương lai. Hình như đột biến ảnh hưởng trên phần dư 145 aa (glycin đến arginin) thường gặp nhất, nhưng các đột biến với các thay đổi khác đang được nghiên cứu.

Một phát triển đầy hứa hẹn khác trong lĩnh vực các vacxin tái tổ hợp là kỹ nghệ di truyền thực vật mang gen virut. Trong những năm gần đây, các gen virut đã được đặt vào trong một vài loại trái cây hoặc rau cải với hi vọng là ăn các sản phẩm thực vật này sẽ tạo nên miễn dịch theo kiểu ít tốn kém nhất. Tuy còn trong giai đoạn phát triển ban đầu, phương pháp này có nhiều hứa hẹn sử dụng ở các nước đang phát triển.

4.3. CÁC VACXIN VG B CHỨA CÁC BIỂU VỊ PRE-S

Một bất lợi của các vacxin có nguồn gốc từ huyết tương và các vacxin tái tổ hợp VG B là chỉ chứa protein chính của HBsAg (không có các chuỗi mã pre-S). Xác định

một phạm vi miễn dịch trội trong vùng pre-S2 của HBsAg và quan sát thấy chuột không đáp ứng miễn dịch đối với protein chính của kháng thể tạo nên bởi HBsAg với một peptit tổng hợp tương ứng cho biểu vị này kích thích sự quan tâm việc hòa nhập các chuỗi mã pre-S vào vacxin VG B. đó là vacxin VG B thế hệ thứ ba. Itoh và cs chứng minh một peptit tổng hợp gồm 19 aa của vùng pre-S2, khi nối với hemocyanin loài hà lỗ khóa (keyhole limpet), gây một đáp ứng bảo vệ khi tiêm cho hắc tinh tinh. Các thể trung bình (pre-S2 + S) và lớn (pre-S2 +pre-S2-S) của HBsAg đã được sản sinh trong men dùng lần lượt các gen khởi đầu cơ bản và cảm ứng. Chế phẩm trước đã được đánh giá về tính an toàn và tính sinh miễn dịch. Một vacxin chứa cả 3 thể (lớn, trung bình, và chính) của HBsAg, được tổng hợp trong tế bào CHO, đã được thử nghiệm ở Singapore cho thấy an toàn và sinh miễn dịch với một đáp ứng kháng thể nhanh ở 96% người nhận.

Zuckerman và cs đã đánh giá tính sinh miễn dịch của một vacxin chứa các thành phần S, pre-S1 và pre-S2 của HBsAg sản xuất trong một dòng tế bào loài có vú, dòng tế bào chuột C127, trên một nhóm 86 nhân viên y tế không đáp ứng tồn tại. Một tổng số 55/86 người (64%) chuyển huyết thanh sau liều duy nhất của vacxin với một tỷ lệ toàn bộ 66% (57/86) 4 tháng sau liều nhắc lại. Một liều duy nhất 20 µg của vacxin được chứng minh là có cùng hiệu quả như với hai liều 20 µg hoặc 40 µg, về mặt chuyển huyết thanh, huyết thanh bảo vệ, hoặc nồng độ trung bình nhân (chuyển huyết thanh và huyết thanh bảo vệ được xác định qua một nồng độ kháng thể lần lượt là > 10 mIU/ml và > 100 mIU/ml, ngược với chuẩn kháng thể quốc tế).

Một vacxin chứa cả 3 thành phần S, tiền S1 và tiền S2 đang được thử nghiệm tiền lâm sàng, có tên là **Hepagene** (Medeva, London, UK). Hepagene là loại vacxin VG B đầu tiên chỉ cần dùng 2 liều trong vòng 1 tháng, sẽ đáp ứng tốt cho những người có nguy cơ phơi nhiễm như nhân viên y tế, người đi du lịch...không phải chờ đợi lâu (6 tháng) như các vacxin thế hệ thứ hai.

4.4. CÁC VACXIN VIRUT LAI

Các vacxin virut sống dùng virut đậu bò (vaccinia) tái tổ hợp đã được thiết kế cho vacxin VG B, cũng cho herpes simplex, bệnh dại và một số virut khác. DNA virut ngoại lai được đưa vào bộ gen virut vaccinia bằng cấu trúc của các gen dị chủng (chimeric) và tái tổ hợp tương đồng trong các tế bào, qua kích cỡ lớn của bộ gen của virut vaccinia (185.000 bp) mở đầu cho sự xen đoạn gen *in vitro*. Một gen dị chủng gồm các chuỗi mã gen khởi đầu của virut vaccinia gắn kết vào chuỗi mã mã hóa cho protein lạ nằm bên sườn bởi DNA virut vaccinia trong một vật truyền plasmit.

Virut vaccinia tái nhân dòng chứa các chuỗi mã HBsAg đã được dùng thành công trong kích thích miễn dịch các động vật thí nghiệm. Hiện nay, không có dấu

hiệu thử nghiệm nào được chấp nhận về tính giảm độc hoặc tính độc của virut vaccinia cho người, trong vật chủ trực tiếp nhiễm virut hoặc sau nhiều lần cấy chuyền trong cùng một loài. Các thay đổi trong bộ gen vaccinia kèm theo với sự chọn lọc các tái tổ hợp có thể thay đổi tính độc của virut. Các thay đổi trong biên độ vật chủ hoặc tính hướng kích thích mô của virut vaccinia có thể xảy ra như một hậu quả của biến đổi di truyền và các điều này có thể được tạo ra qua các thay đổi trong vỏ ngoài virut như một hậu quả hòa nhập của các sản phẩm gen virut lạ gắn vào virut vaccinia.

Các lợi ích của vacxin virut vaccinia tái tổ hợp bao gồm giá thành thấp, dễ sử dụng, tính ổn định của vacxin, tồn tại lâu dài và tính khả thi của các kháng nguyên đa giá. Các phản ứng phụ đã biết với các vacxin virut vaccinia được ghi nhận đầy đủ, và tỷ lệ mắc và mức độ trầm trọng của chúng phải cần được cân nhắc cẩn thận với các tác dụng phụ của các vacxin đang có mà một vacxin tái tổ hợp mới sẽ thay thế. Cũng có các báo cáo về sự lan truyền của các chủng virut vaccinia hiện nay đối với các động vật thực nghiệm khi tiếp xúc. Ngoài virut vaccinia, các virut tái tổ hợp khác như các vật truyền đang được khám phá, trong đó có vacxin adenovirut đường uống, đã được dùng khoảng 20 năm nay.

4.5. VACXIN HBV DNA TRẦN BIẾN NẠP VÀO SALMONELLA TYPHIMURIUM

Vacxin VG B được thiết kế bằng cách đặt một vacxin DNA trần mang HBsAg vào trong *Salmonella typhimurium*. Chuột uống vacxin này sẽ có đáp ứng tế bào mạnh nhưng đáp ứng thể dịch khá yếu khi so với vacxin HBsAg tái tổ hợp, làm vacxin này trở thành ứng viên tốt như một vacxin điều trị cho người mang HBV mạn. Đáp ứng miễn dịch thể dịch tương đối ít quan trọng trong thải trừ HBV khỏi tế bào gan, nhưng sự hiện diện của nó có thể gây các tác dụng có hại như bệnh huyết thanh và tình trạng ứ đọng phức hợp miễn dịch ở những người VG B mạn.

4.6. CÁC VACXIN VG B DÙNG CÁC HẠT LAI

4.6.1. Các protein vỏ ngoài lai

Các phát triển gần đây bao gồm việc sử dụng các protein vỏ ngoài của virut VG B (HBsAg) dưới dạng hạt bằng việc sản xuất các protein HBV trong tế bào loài có vú. Các xen đoạn cùng pha (in-phase insertions) của virut khác (virut poliomyelitis kiểu I) có chiều dài và chuỗi mã thay đổi được tạo thành trong các vùng gen S khác nhau của HBV. Các protein vỏ ngoài mang kháng nguyên bề mặt và xen đoạn được lắp ráp với lipit tế bào trong các tế bào loài có vú nuôi cấy sau chuyển nhiễm. Peptit trung hòa poliovirut bị xen đoạn được phô bày trên bề mặt của các hạt vỏ ngoài lai và tạo nên các kháng thể trung hòa chống lại poliovirut ở chuột đã tiêm chủng thực nghiệm. Phương pháp này cũng có thể được dùng cho nghiên cứu hoạt tính sinh học của các peptit khác hòa nhập vào bề mặt của một phức hợp đa phân tử được tạo

thành. Sự sản sinh và bài tiết các hạt vỏ ngoài lai qua các dòng tế bào đã xác định có thể cung cấp một phương pháp hiệu quả cho sự sản xuất các vacxin mới.

4.6.2. Các hạt lõi lai

Một loại vật truyền khá lý tưởng khác cho các vacxin người và cả trong thú y là các hạt lõi của HBV. Lợi ích của cấu trúc lõi như một hạt bao gồm khả năng kích thích sinh kháng thể với hiệu quả độ 100 lần cao hơn hạt kháng nguyên bề mặt và một khả năng làm tăng chức năng tế bào T giúp đỡ. Tính khả thi của phương pháp này được chứng minh gần đây với các peptit tổng hợp và sinh tổng hợp của virut gây bệnh lở mồm long móng sau khi dung hợp vào lõi HBV.

4.7. CÁC VACXIN VG B ĐƯỢC TỔNG HỢP VỀ MẶT HÓA HỌC

Sự phát triển các vacxin polypeptit tổng hợp hóa học cho thấy có nhiều lợi ích trong việc đạt tới mục tiêu cuối cùng trong sản xuất các chất sinh miễn dịch đồng dạng về mặt hóa học, an toàn và rẻ tiền để thay thế nhiều vacxin đang dùng hiện nay thường chứa một lượng lớn các quyết định kháng nguyên, các protein vi sinh không thích hợp và các chất khác thêm vào chất sinh kháng nguyên cần cảm ứng một kháng thể bảo vệ. Bào chế các kháng thể chống lại các protein virut bằng cách dùng các mảnh peptit tổng hợp hóa học bắt chước các chuỗi mã aa virut hiện nay là một phương pháp thay thế có khả năng và hấp dẫn trong dự phòng miễn dịch.

Bắt chước thành công các quyết định HBsAg bằng cách dùng các peptit tổng hợp hóa học trong các dạng thẳng và vòng đã được báo cáo bởi nhiều nhóm nghiên cứu. Các peptit đã được tổng hợp giữ lại chức năng sinh học và cấu trúc thứ cấp thích hợp, dù chúng có một đồng dạng chuỗi mã hạn chế với peptit tự nhiên hoặc nhỏ hơn.

Nhiều nghiên cứu khác cũng xác định các peptit gối lên nhau được chọn lọc tương ứng với biểu vị thích hợp của HBsAg có thể được dùng như các vacxin tổng hợp khi kết hợp với các phụ gia: kháng huyết thanh đối với các peptit này phản ứng chéo với các kháng nguyên bề mặt tự nhiên và miễn dịch bảo vệ được chứng minh trong các nghiên cứu thực nghiệm hạn chế.

Tăng cường tính miễn dịch của vùng pre-S của HBsAg đã được thực nghiệm ở chuột bằng cách dùng các phần dư aa tổng hợp bằng phương pháp hóa học. Đáp ứng miễn dịch đối với vùng pre-S2 được chứng minh điều hòa bởi các gen gắn kết H-2, khác biệt với các gen điều hoà đáp ứng đối với vùng S. Điều này cho thấy miễn dịch của chủng chuột không đáp ứng với các hạt chứa cả S và pre-S2 có thể làm hỏng tính không đáp ứng. Gần đây, một chuỗi mã protein trung gian gắn kết HBV vào tế bào ung thư gan người đã được xác định. Một chất tương tự peptit tổng hợp, được nhận biết qua các thụ thể tế bào và các kháng thể virut, gợi ra các kháng thể phản ứng với virut. Một chế phẩm như thế có thể tạo ra các kháng thể bảo vệ bằng cách phong tỏa sự gắn kết của virut vào tế bào.

Thiết kế các protein có cấu trúc bậc ba chính xác và có hoạt tính chức năng là cực kỳ khó khăn do không thể dự đoán cấu trúc bậc ba của một protein từ chuỗi mã aa duy nhất của chúng. Phương pháp X quang tinh thể học và các đồ họa vi tính tương tác là các phương tiện cần thiết và sẵn có. Bước đầu tiên là có được một protein khá tinh khiết kết tinh được và có tính tán xạ. Sau đó, mật độ điện tử của tinh thể có thể được tính toán và phương pháp X quang này cung cấp thông tin về các nguyên tử không phải hydrogen trong protein, qua đó có thể xây dựng một mô hình để làm phù hợp chuỗi mã aa đã biết thành cấu trúc này. Sau đó, mô hình có thể được làm tinh tế hơn bằng cách dùng các bộ xét nghiệm phối hợp để để cải tiến bản đồ mật độ. Nhiều kỹ thuật gần đây dùng các nguồn X quang synchrotron có thể cho phép thu thập thông tin cấu trúc từ protein trong dung dịch.

Các kỹ thuật cộng hưởng từ hạt nhân proton hai chiều hiện nay đưa ra các đỉnh đối với các proton đặc hiệu trong protein và các kết quả có thể được chuyển thành một bộ điều phối cho phân tử. Một phương pháp thay thế phát triển thuật toán toàn diện để bắt chước các cơ chế xác định cấu trúc protein cùng với việc thiết lập các thư viện cơ sở dữ liệu protein. Một phương pháp khác thiết kế các protein tổng hợp dựa trên các kiểu gấp tự nhiên của chuỗi xoắn α và tấm gấp α. Tuy nhiên, các nguyên tắc thiết kế protein mới còn đang được hoàn thiện, tuy đã có các tiến bộ quan trọng đang được tạo thành cấu trúc bậc hai của protein.

Nhiều báo cáo đã chứng minh sự biến đổi peptit dựa trên các dự đoán cấu trúc bậc hai và xây dựng mô hình hiện nay là khả thi. Các peptit được tổng hợp lấy lại chức năng sinh học và cấu trúc bậc hai thích hợp, dù chúng tương đồng chuỗi mã giới hạn với các peptit tự nhiên. Thí dụ, các nghiên cứu với các kích tố đã cho thấy có khả năng ổn định lần lượt bằng việc chu kỳ hóa phân tử với việc đưa vào một cầu nối disulfit hoặc thiết kế một peptit vòng. Bởi thế các peptit tổng hợp có thể được dùng như các vacxin, tuy các hỗn hợp của nhiều peptit có thể được cần đến. Một vài protein mang và tá chất gắn kết với các phân tử tổng hợp không dùng được ở người. Vì thế, điều cần thiết là tìm vật liệu an toàn có thể chấp nhận được cho các nối đồng hóa trị hoặc để tổng hợp các chuỗi mã không cần nối. Tuy nhiên, viễn cảnh của các vacxin tổng hợp hóa học đa giá chống lại các tác nhân vi sinh vẫn còn trong vòng nghiên cứu.

5. CÁC TRIỂN VỌNG TƯƠNG LAI

Để kiểm soát sự lan truyền HBV cần khắc phục một số yếu tố, bao gồm:

- Hạn chế sự thất bại trong việc thực thi hiệu quả tiêm chủng mở rộng.
- Cải tiến vacxin sao cho có tỷ lệ đáp ứng hiệu quả cao hơn ở những người đã sử dụng chế độ 3 liều.

- Giảm giá thành vacxin sao cho các vùng có dịch lưu hành cao có thể tiêm chủng phổ thông cho trẻ dưới một tuổi.

- Có biện pháp tăng khoảng thời gian bảo vệ kéo dài sao cho một thời khoảng thích hợp được xác định trước khi cần đến một liều nhắc lại.

Mục tiêu trực tiếp nhất trong tương lai là khởi đầu một chương trình kiểm soát HBV trên toàn thế giới qua tiêm chủng trẻ em phổ thông. Hiện nay, mục tiêu này được khuyến cáo trên toàn thế giới bởi ACIP ở Mỹ và WHO. Hiện tại, tiêm chủng thường qui HBV cho trẻ em hiện được tiến hành ở Mỹ và một số nước phát triển khác. Điều cần ghi nhận là trong khi Mỹ và vài nước châu Âu nơi có tiêm chủng thường qui với tần suất cao thì còn nhiều nước gồm cả các quốc gia châu Âu nơi tỷ lệ mắc HBV thấp, không có chương trình này. Ngoài ra, thật là khó tiếp cận những người có hành vi nguy cơ cao nhiễm HBV như tiêm chích xì ke cũng như những người buông thả về mặt tình dục. Bởi thế, sự lan truyền bệnh ở người lớn thật khó kiểm soát và không giảm một cách ý nghĩa. Ở các quốc gia có tần suất lưu hành trung bình và cao, việc khuyến cáo tiêm chủng phổ thông cho trẻ dưới một tuổi đã được thực hiện từ năm 1987. Tuy nhiên, tiêm chủng phổ thông khó hiệu quả do hệ phân phối thiếu kém và giá vacxin cao. Trong khi nhiều vacxin được dùng có giá dưới 2 US, chế độ dự phòng 3 liều của vacxin VG B có thể lên tới 100 US. Thế nên, mục tiêu tương lai bao gồm việc phát triển một chương trình sử dụng vacxin hiệu quả hơn, nhất là trong những vùng có dịch lưu hành cao như châu Á và châu Phi. Mặt khác, các vacxin phải được phát triển sao cho rẻ hơn, cho nhiều người hơn.

Ở Việt Nam, bắt đầu từ năm 1997 mới đưa vacxin VG B do Việt Nam sản xuất từ huyết tương chính thức vào chương trình tiêm chủng mở rộng cho trẻ em dưới 1 tuổi ở một số tỉnh. Con số trẻ được tiêm chủng VG B tính đến cuối 2001 khoảng 370.000 cháu, chiếm tỷ lệ 25% tổng số trẻ dưới 1 tuổi trong cả nước. Do dùng vacxin được sản xuất trong nước nên đã duy trì giá thành 3 liều vacxin chỉ bằng khoảng 1/5 so với vacxin nhập ngoại có cùng công hiệu. Trong tương lai, khi Việt Nam có chế phẩm vacxin VG B tái tổ hợp thì việc đưa 100% số trẻ < 1 tuổi vào chương trình tiêm chủng quốc gia sẽ trở thành hiện thực.

6. TÓM TẮT

Các vacxin HBV hiệu quả và an toàn hiện có được dùng chủ yếu ở các nước đã phát triển. Các vacxin này có khả năng làm giảm tình trạng nhiễm HBV trên toàn thế giới, tuy chưa đạt tương xứng với tiềm năng. Điều này cho thấy cần các biện pháp tiêm chủng phổ thông ở các trẻ dưới 1 tuổi và tiêm chủng ở cả các đối tượng có nguy cơ cao. Năm 1991, nhằm giảm tác động toàn cầu của bệnh nhiễm virut VG B, WHO đã khuyến cáo vacxin HBV nên hòa nhập vào chương trình tiêm chủng quốc gia, đến nay đã có nhiều tiến bộ với hơn 100 nước đã chấp nhận chiến lược tiêm chủng quốc gia hay từng vùng cho trẻ em hoặc thanh thiếu niên.

Phát triển các vacxin sinh miễn dịch và hiệu quả cũng sẽ tăng khả năng cung cấp miễn dịch bảo vệ rộng khắp hơn. Nhiều thực nghiệm đang được phát triển và hứa hẹn nhiều thành quả trong những năm sắp đến. Các phương pháp này và việc áp dụng toàn thế giới sẽ giảm thiểu truyền nhiễm HBV trong các thập kỷ sắp đến và qua đó, làm giảm số người mang HBV. Tuy bản chất mạn tính của HBV sẽ hạn chế khả năng trong việc loại trừ bệnh này, bằng việc bảo vệ phổ thông cộng đồng dân cư thế giới từ lúc sinh, mục tiêu này có thể thành hiện thực. Cuối cùng, các nỗ lực sức khỏe công cộng của việc tiêm chủng toàn thế giới sẽ loại bỏ HBV như một tác nhân gây bệnh quan trọng. Tuy nhiên, điều này sẽ phải cần nhiều năm để đạt tới.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. **Abram S. Benenson**. Sổ tay kiểm soát các bệnh truyền nhiễm (Tài liệu dịch từ nguyên bản Control of communicable Diseases Manual, 16th edition, NXB Y học, 1997, 521 - 42)
2. **Zuckerman JN; Harrison TJ; Zuckerman AJ**. Prevention. In Zuckerman AJ. Thomas HC, editors. Viral Hepatitis. 2nd ed. London. Churchill Livingstone; 1998: 245-52
3. **Specter S.** Hepatitis B Vaccines. In S. Specter editor. Viral hepatitis: Diagnosis, Therapy, and Prevention.Totowa, NJ. Humana Press Inc. 1999:377-91.
4. **Consensus statement on prevention and management of hepatitis B and hepatitis C in the Asia-Pacific region**. J of Gastroenterol and Hepatol. 2000 (Suppl); 15: 824-841.
5. **Chen DS**. Public health measures to control hepatitis B virus infection in the developing countries of the Asia-Pacific region. J of Gastroenterol and Hepatol. 2000; 15 (Suppl): E7-E10.
6. **Nguyễn Hữu Chí**. Tiêm chủng viêm gan B. Nhà xuất bản TP.HCM. 1999, tr 61.
7. **European consensus group on hepatitis B immunity**. Are booster immunisations needed for lifelong hepatitis B immunity?. Lancet 2000;355:561-65.
8. **Martin S**. First combination hepatitis A&B vaccine approved by FDA. http://dispatch.mail-list.com/archives/hbv_research/msg02400.html
9. **Zuckerman JN; Sabin C; Craig FM; Williams A; Zuckerman AJ**. Immune response to a new hepatitis B vaccine in healthcare workers who had not responded to standard vaccine: randomised double blind dose-response study. BMJ 1997, 1 February: 314-329.
10. **World's Only Combination Hepatitis A & B Vaccine Approved by FDA**. In Informed. Newsletter of the Hepatitis B Foundation, 31, Spring 2001:2.
11. **Hepagene**. Celltech R&D. http://www.celltechgroup.com/celltech_chiroscience/drug_development/hepagene.html.
12. **Woo PC; Wong L; Zheng B; Yuen K**. Unique immunogenicity of hepatitis B virus DNA vaccine presented by live-attenuated Salmonella typhimurium.
13. **Viện Vệ sinh Dịch tễ Trung ương**/Chương trình TCMR quốc gia. Tổng kết công tác TCMR năm 2000. Hà Nội, 12/2000.
14. **Trịnh Quân Huấn và cs**. Sổ tay hướng dẫn sử dụng vacxin. NXB Y học. Hà Nội, 2000, tr 77-86.
15. **DMID & NJAID**. The Jordan Report 2000. Hopkins University Press. 2000.

Chương 22

VIÊM GAN VIRUT D

Trang

1. CẤU TRÚC VÀ VIRUT HỌC PHÂN TỬ 581
1.1. Nguyên tắc phân loại và các kiểu gen 581
1.2.C ấu tạo hạt virut hoàn chỉnh (virion) 582
1.3. Bộ gen 582
1.4. Kháng nguyên VG Delta (HDAg) 586
1.5. Sao chép 589
1.6. Sự lắp giáp virut 593
1.7. Sự sao chép HDV trong nuôi cấy tế bào 594
2. DỊCH TỄ HỌC 595
2.1. Các kiểu dịch tễ 595
2.2. Các đường truyền nhiễm 596
2.2.1. Đường máu 596
2.2.2. Đường tình dục 596
2.2.3. Các đường truyền nhiễm khác 597
2.2.4. Nhiễm HDV ở người nhận gan ghép 597
2.3. Phân bố nhiễm HDV trên thế giới 597
2.3.1. Dịch tễ học HDV phụ thuộc vào dịch tễ học HBV 597
2.3.2. Phân bố nhiễm HDV trên thế giới 598
2.3.3. Tình hình nhiễm HDV tại Việt Nam 600
2.4. Kiểu lây nhiễm 600
2.5. Dịch tễ học phân tử 601
2.5.1. Kiểu gen HDV I 601
2.5.2. Kiểu gen HDV II 602
2.5.3. Kiểu gen HDV III 602
3. BỆNH SINH 602
3.1. Bệnh sinh qua sinh học phân tử 602
3.2 Bệnh sinh qua phân tích các kiểu gen 604
3.3. Nhiễm HDB liên quan với nhiễm các loại virut khác 605
4. CÁC ĐẶC TRƯNG LÂM SÀNG VÀ HẬU QUẢ 605
4.1. Các thể lâm sàng 605
4.1.1. Nhiễm HDV cấp 606
4.1.2. Nhiễm HDV mạn 607
4.2. Các yếu tố ảnh hưởng đến hậu quả của VG Delta 609
4.2.1. Sự hiện diện và mức độ sao chép HBV 609
4.2.2. Các yếu tố liên quan đến kiểu gen HDV 609
4.2.3. Yếu tố sao chép của HDV 610
4.2.4. Yếu tố miễn dịch 610
4.2.5. Các yếu tố liên quan đến HBV 610

4.2.6. Các yếu tố về nguồn nhiễm HDV *610*
4.3. Các thể bất thường của VG Delta *611*
4.3.1. VG Labrea, sốt đen và VG Santa Marta *611*
4.3.2. Thể kịch phát tạm thời tự nhiên *611*
4.3.3. Thể lành tính *611*
4.3.4.Các trường hợp VG delta mạn cơ hội *611*
5. CHẨN ĐOÁN **611**
5.1. Bệnh cảnh lâm sàng *613*
5.2. Kháng nguyên VG Delta *613*
5.3. HDAg trong huyết thanh *614*
5.4. Kháng thể đối với virut VG Delta *616*
5.5. RNA virut VG Delta *617*
5.5.1. Xét nghiệm HDV RNA bằng kỹ thuật lai và kỹ thuật thấm *617*
5.5.2. Xét nghiệm HDV RNA bằng PCR *618*
5.6. Các kháng thể liên quan đến nhiễm HDB *618*
5.7. Các xét nghiệm HBV *618*
5.7.1. Đánh giá tình trạng nhiễm HBV *618*
5.7.2. Xác định tính trội của hai virut *618*
5.7.3. Tái phát sau ghép gan *619*
6. BỆNH HỌC **619**
6.1. Đồng nhiễm và bội nhiễm HDV cấp tính *619*
6.2. VG Delta mạn *620*
7. SỰ TIẾN TRIỂN TỰ NHIÊN **620**
7.1. Đồng nhiễm *621*
7.2. Bội nhiễm *6211*
8. CÁC ĐỘNG VẬT THÍ NGHIỆM **622**
9. ĐIỀU TRỊ **623**
9.1. Điều trị VG D cấp *623*
9.2. Điều trị nội khoa VG D mạn *623*
9.2.1. Interferon *623*
9.2.1.1. Thử nghiệm lâm sàng với Interferon *623*
9.2.1.2. Tác dụng phụ của Interferon *625*
9.2.1.3. Các yếu tố tiên lượng của đáp ứng với Interferon *626*
9.2.1.4. Cơ chế của tác dụng Interferon *626*
9.2.2. Các điều trị khác *627*
9.2.3. Điều trị nội khoa hiện nay *628*
9.2.4. Các triển vọng tương lai *629*
9.3. Ghép gan *629*
9.3.1.Chỉ định *629*
9.3.2.Các thử nghiệm *630*
9.3.3. Tái nhiễm trong ghép gan *632*
10. DỰ PHÒNG **632**
11. TÓM TẮT **633**
TÀI LIỆU THAM KHẢO **633**

1. CẤU TRÚC VÀ VIRUT HỌC PHÂN TỬ

1.1. NGUYÊN TẮC PHÂN LOẠI VÀ CÁC KIỂU GEN

Virut VG D (HDV), còn gọi là virut delta, lần đầu tiên được phát hiện như là một kháng nguyên nhân (nuclear antigen) mới trong tế bào gan của BN nhiễm virut VG B (HBV) và thường liên quan đến bệnh VG cấp nặng hay VG mạn. Kháng nguyên được gọi là kháng nguyên delta (HDAg), lúc đầu được nghĩ là kháng nguyên do HBV mã hóa chưa được mô tả trước đây nhưng sau được xem là một tác nhân lây nhiễm mới, một virut chứa RNA có vỏ là kháng nguyên bề mặt của HBV (HBsAg). Sau đó, HDAg được chứng minh là thành phần bên trong của các hạt HDV và kháng thể chống lại protein cấu trúc virut được phát hiện ở BN nhiễm virut.

Nhiễm HDV được báo cáo khắp thế giới, với tần suất cao đặc biệt là ở khu vực Địa Trung Hải, Nam Mỹ, Trung Đông, Tây Phi và vài quần đảo Nam Thái Bình Dương. Lây nhiễm HDV với hai hình thức hoặc đồng nhiễm với HBV hoặc bội nhiễm (superinfection) ở người mang HBV. Tuy nhiễm HDV liên quan chặt chẽ với HBV song HDV rõ ràng thuộc về một nhóm virut riêng biệt. Hiện nay, HDV được cho là một giống chưa xếp loại. Việc phân loại deltavirut đang chờ xác định trong tương lai.

Virut VG D, thành viên duy nhất của giống Deltavirut, thuộc họ Deltaviridae. Đây là một virut RNA mạch âm phụ thuộc vào một virut DNA của họ Hepadnaviridae để phát tán nhưng không để sao chép RNA. Các hạt virion 35-37 nm là một hạt lai được tạo thành từ axit ribonucleic (HDV RNA) và kháng nguyên delta (HDAg) được bao bọc bởi kháng nguyên bề mặt (HBsAg) của HBV.

Nhiều thể phân lập HDV khác nhau đã được xác định chuỗi mã hoàn toàn hoặc từng phần với một đặc trưng thường gặp là tính dễ gấp vào cấu trúc hình que. Các chuỗi mã HDV RNA thay đổi theo chiều dài giữa 1.670 và 1.685 nucleotit. Dựa vào mối liên quan chuỗi mã, các thể phân lập HDV được gợi ý là có 3 kiểu gen.

- Kiểu gen I chủ yếu ở Bắc Mỹ và Ý, gồm đa số các thể phân lập được xác định chuỗi mã cho đến nay và gồm các thể phân lập có được từ nhiều vùng trên thế giới. Tính chất sinh bệnh của kiểu này rất không đồng nhất.

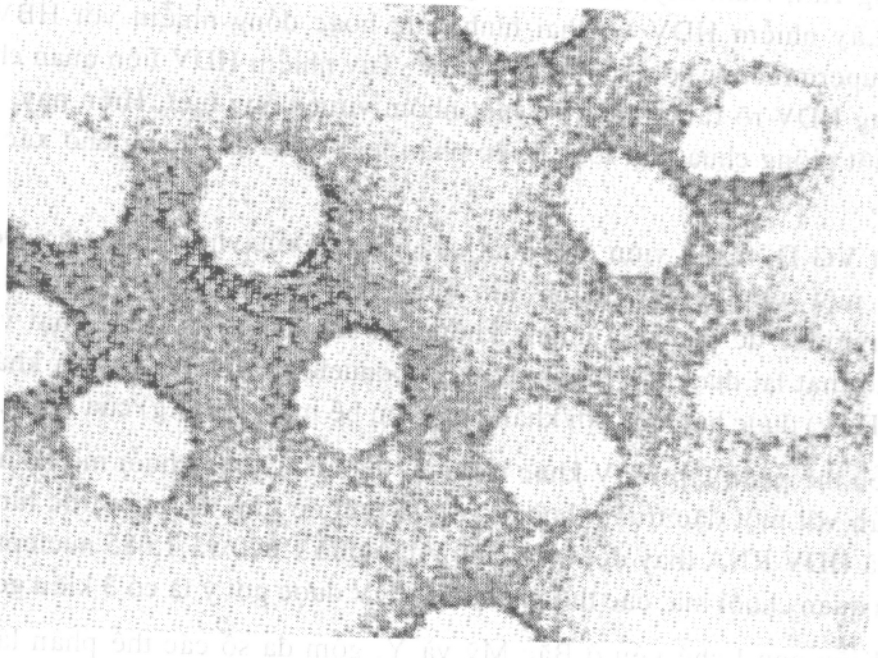
- Kiểu gen II là các thể phân lập phổ biến ở Đài Loan và có lẽ cũng ở Nhật Bản và có thể liên quan đến các bệnh tương đối nhẹ.

- Kiểu gen III gồm nhiều thể phân lập chỉ có riêng ở vùng phía bắc Nam Mỹ (Columbia, Venezuela, Peru). Cho đến nay, kiểu gen HDV III chỉ tương quan đến các bệnh nặng (một thể VG tối cấp khá đặc biệt).

Kiểu gen F của HBV, kiểu gen duy nhất được mô tả phổ biến ở châu Mỹ, kết hợp với HDV trong vùng dịch HDV địa phương này.

1.2. CẤU TẠO HẠT VIRUT HOÀN CHỈNH (VIRION)

HDV là một virut RNA nhỏ, chứa các hạt tròn, độ 36nm đường kính và với một tỷ trọng 1,25 g/cm^3 trong cesium clorua. Bên ngoài HDV là kháng nguyên bề mặt VG B (HBsAg) và lipit bao quanh bộ gen RNA và kháng nguyên delta (Hình 22-1). Tất cả 3 thành phần (S, M, L) của HBsAg đều có mặt trong hạt virut HDV hoàn chỉnh (Hình 22-2). Tuy nhiên, cơ cấu thành phần của 3 loại (S:M:L=95:5:1) khác với các hạt HBV gây nhiễm, có nhiều khả năng thuộc về các hạt HBV không gây nhiễm 22 nm. Bên trong là một nucleocapsit hình cầu có đường kính độ 19 nm và được giải phóng khỏi virut khi HDV được xử lý với chất tẩy không ion. Nucleocapsit này chứa HDV RNA và kháng nguyên delta. Kháng nguyên delta gồm có 2 loại protein (27 và 24 kDa) với các tỷ suất thay đổi. Có độ 70 phân tử HDAg cho mỗi phân tử RNA. Cấu trúc chính xác của nucleocapsit chưa được xác định.



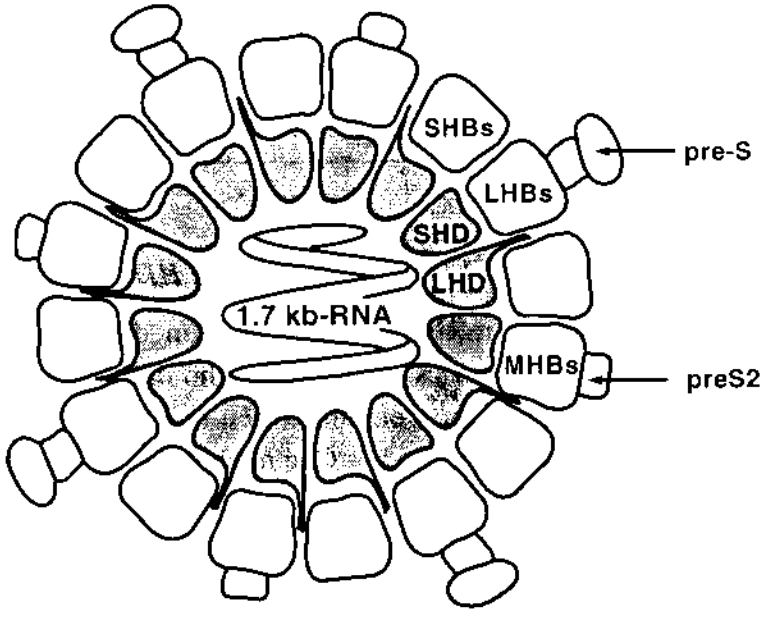
Hình 22-1. *Hình chụp qua kính hiển vi điện tử của HDV*

1.3. BỘ GEN

Bộ gen RNA dài độ 1.700 nucleotit (1,7kb), mạch đơn và vòng, với một dung lượng G+C cao (60%). Tương tự với RNA virut thực vật, bộ gen HDV tự bổ trợ và gấp thành một cấu trúc hình que không phân nhánh trong đó độ 70% của các nucleotit là các cặp bazơ. Các cặp bazơ được thấy rõ qua kính hiển vi điện tử, trong đó phân tử HDV RNA nguyên thể có vẻ là các "que đặc", nhưng khi bị làm biến chất sẽ chuyển thành các phân tử vòng. Trong các điều kiện tự nhiên, HDV RNA cơ bản tương đối ổn định.

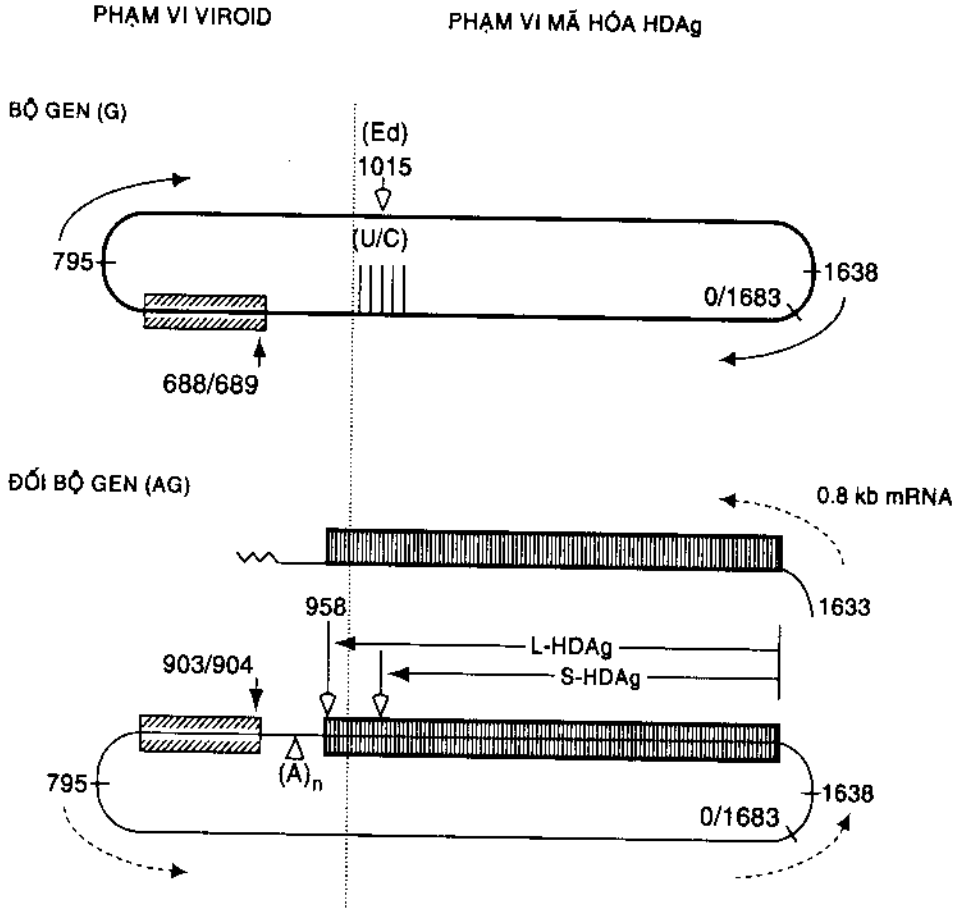
Ba loại RNA chính đã được tìm thấy trong các tế bào và những người nhiễm virut: (1) RNA đầu tiên là *RNA bộ gen 1,7 kb cực tính âm* chủ yếu ở trong virion. (2) RNA thứ nhì là *RNA đối bộ gen bổ trợ cực tính dương* hiện diện một số lượng lớn trong gan. (3) *RNA thứ ba ngắn hơn (0,8 kb)* có một số lượng nhỏ trong gan, và là mRNA polyadenyl hóa (hình 22-3).

Bên cạnh tính không đồng nhất của bộ gen ở các chủng HDV khác nhau, HDV RNA cũng có tính không đồng nhất vi thể (ví dụ: HDV RNA trong bất cứ một BN nào cũng gồm một cộng đồng các phân tử RNA với các biến dị chuỗi mã nhỏ), gọi là các á chủng (quasispecies). HDV RNA ở BN cũng tiến hóa liên tục về vi thể trong suốt diễn tiến lâm sàng của bệnh, với một tỷ lệ tiến hóa cao khoảng 3×10^{-2} đến 10^{-3} các thay thế cho mỗi nucleotit một năm trong vài trường hợp. Có nhiều vùng bảo tồn cao, tương ứng với các vùng chức năng quan trọng của HDV RNA hoặc protein mã hóa của nó là HDAg.



Hình 22-2. *Sơ đồ HDV.*

Bộ gen RNA vòng tự bổ trợ cao và tạo nên các que mạch kép. SHBs, MHBs, LHBs: là các protein nhỏ, trung bình và lớn của HBsAg; SHD, LHD: các protein HDV nhỏ và lớn. Tiền-S, tiền-S2, các vùng của protein HBs.



Hình 22-3. *Cấu trúc của HDV RNA.*

RNA đối bộ gen và mRNA 0,8 kb chỉ hiện diện trong các tế bào. Các số nucleotit dựa theo Makino và cs và tiêu biểu cho định hướng bộ gen trên các mạch bộ gen và đối bộ gen. RNA bộ gen được miêu tả theo chiều kim đồng hồ, trong khi đối bộ gen ngược chiều kim đồng hồ. Các nucleotit 688/689 và 903/904 là các điểm phân cắt ribozym cho lần lượt các RNA bộ gen và đối bộ gen. Các hình hộp được gạch sọc biểu thị vùng ribozyme. Nucleotit 1015 (Ed) chỉ rõ điểm hiệu chỉnh RNA (RNA editing site). $(A)_n$ biểu thị tín hiệu polyadenyl hóa. (Theo Lai).

Vì các mục tiêu cấu tạo chuỗi mã bộ gen, một điểm hạn chế Hind III hiện diện trong cDNA của HDV RNA hắc tinh tinh nguyên mẫu cấy chuyển được gọi là nucleotit 0. Vùng từ khoảng nucleotit 615 đến 950 cho thấy vài sự giống nhau chuỗi mã với một nhóm sinh bệnh thực vật được gọi là viroid và virusoid và được gọi là vùng giống viroid. Cũng giống với các tác nhân virut phụ của thực vật, HDV RNA có hai đặc trưng độc đáo chủ yếu cho sự sao chép dựa vào chiến lược sao chép kiểu vòng lăn: sự dịch mã bởi một RNA polymerase chủ và khả năng tự xúc tác (tự phân cắt và tự thắt) hiện diện trong mạch bộ gen và mạch đối bộ gen bổ trợ,

cần thiết cho việc chế biến của các sản phẩm phiên mã thẳng đối với các sản phẩm sao chép vòng.

Các đoạn RNA tự xúc tác đã được phân lập và được nghiên cứu *in vitro*. Các đoạn RNA này khác biệt, tuy các thành phần này tương tự về mặt chức năng đối với các ribozym "đầu búa" được mô tả trong các virut thực vật, cho thấy vùng xúc tác của HDV RNA biểu hiện một chủ đề ribozym khác biệt. Sự sinh đột biến và các số liệu phân tích sinh hóa ủng hộ mạnh mẽ cho một cấu trúc "nút giả" đối với HDV ribozym. Các hi vọng mới về một phương pháp điều trị khác biệt có thể bắt nguồn từ hoạt tính ribozym độc đáo của virut như một mục tiêu tiềm tàng của các tác nhân kháng virut.

Tương tự với vài virusoid RNA, vùng giống viroid biểu hiện các hoạt tính ribozym (ví dụ: các hoạt tính phân cắt tự xúc tác, trên mạch bộ gen và mạch antigenomic bổ trợ). Phân cắt xảy ra khi vắng mặt protein và cần các cation 2 hóa trị như Mg^{++}. Điểm phân cắt định vị giữa U và G tại nucleotit 688/689 (trong trình tự Makino và cs.). Chuỗi mã RNA cần cho hoạt tính ribozym nằm ở xấp xỉ 85 nucleotit tại mặt 3' của điểm phân cắt: chuỗi mã tại mặt 5' có vẻ ít quan trọng. Ribozym HDV được cho là có tối thiểu 3 cấu trúc thân-vòng và 1 cấu trúc nút giả. Điều kiện tất yếu của cấu trúc và chuỗi mã độc đáo của sự xúc tác HDV RNA cho thấy HDV RNA thuộc vào một lớp mới của ribozym, khác biệt với các ribozym đã biết khác như kiểu đầu búa hoặc kẹp tóc. Hoạt động xúc tác trên antigenomic-sense RNA (RNA chiều đối bộ gen) tách RNA tại nucleotit 903/904. Hoạt tính phân cắt đối bộ gen này được xếp đặt vào một vùng bổ trợ đối với ribozym bộ gen trong cấu trúc hình que HDV RNA được đề nghị và cho thấy các điều kiện tất yếu cấu trúc và chuỗi mã cũng giống với các điều kiện của ribozym bộ gen. Các hoạt tính của ribozym bộ gen và đối bộ gen cần cho sự sao chép HDV. Hoạt tính của ribozym *in vitro* có thể bị ức chế bởi aminoglycosit, tetracyclin, hoặc kháng sinh loại peptit, nhưng các tác động của các kháng sinh này trên ribozym HDV *in vivo* không được nghiên cứu. HDV RNA cũng chứa một hoạt tính chép mã tự xúc tác, các tính chất của hoạt tính này chưa được xác định rõ.

HDV RNA chứa một KĐM chức năng được định vị trên mạch đối bộ gen và mã hóa HDAg. KĐM này tồn tại 2 cỡ, một dạng nhỏ và một dạng lớn, trên các phân tử RNA khác nhau, với khả năng mã hóa lần lượt cho 195 và 214 aa. Sự khác biệt giữa 2 KĐM nằm ở một đột biến bazơ duy nhất tại vị trí 1015. Nucleotit này trên mạch đối bộ gen, hoặc là A dẫn đến một codon kết thúc VAG, hoặc G, cho UGG (Trp), cho phép đọc xuyên 19 acid amin phụ. Cả 2 dạng RNA tồn tại trong một BN VG delta. Thế hệ của đột biến này là hậu quả của hiệu chỉnh RNA và liên quan chặt chẽ với chiến lược sao chép của HDV. Nhiều KĐM phụ với nhiều kích cỡ hiện diện trên

các mạch của bộ gen và cả đối bộ gen của HDV RNA. Một trong những KĐM tiêu biểu cho một khung đọc khác với phần đầu tận C của vùng mã hóa HDAg. KĐM này được chứng minh mã hóa protein ở vài BN và súc vật nhiễm virut và trong một số tế bào nuôi cấy chứa HDV RNA sao chép. Đa số các KĐM khác không được bảo tồn trong các thể phân lập HDV khác nhau. Ý nghĩa chức năng của các KĐM hiện chưa được rõ.

HDV RNA có thể được chia thành 2 vùng chức năng. Một vùng giống viroid, chứa hoạt động ribozym trên cả 2 mạch bộ gen và đối bộ gen, liên quan về mặt tiến triển đối với viroid. Một chuỗi mã RNA khác chứa một KĐM chức năng mã hóa kháng nguyên delta. Khả năng mã hóa một protein không thấy trong RNA của viroid hay virusoid. Thế nên, HDV RNA có thể có nguồn gốc tái tổ hợp giữa một tác nhân giống viroid và một RNA tế bào. Thực vậy, một protein tế bào liên quan đến kháng nguyên delta gần đây được nhận dạng, củng cố cho giả thuyết phối hợp này.

1.4. KHÁNG NGUYÊN VG DELTA (HDAg)

HDV mã hóa một protein chức năng duy nhất là HDAg, được sản xuất từ 0,8 kb-mRNA. HDAg là một thành phần bên trong của virut HDV toàn vẹn. HDAg thường gặp trong huyết thanh hoặc gan của BN dưới 2 dạng 27.000 kDa (HDAg-p27) và 24.000 kDa (HDAg-p24), được gọi lần lượt là HDAg lớn (L-HDAg) và nhỏ (S-HDAg). Các dạng này không có tỷ lượng cố định như mong đợi đối với protein cấu trúc đều đặn. Như đã đề cập, có 2 dạng HDAg được dịch mã từ 2 loài RNA khác nhau bằng một đột biến điểm duy nhất. Hai dạng protein này giống nhau ngoại trừ HDAg lớn có 19 acid amin phụ tại đầu tận C.

Hai dạng HDAg có nguồn gốc cùng một khung đọc mở, được sinh ra trong chu kỳ sao chép của HDV vì quá trình hiệu chỉnh RNA sau phiên mã RNA đặc hiệu làm thay đổi năng lực mã hóa của bộ gen virut. HDV RNA được biến đổi như thể codon kết thúc đột biến vô nghĩa (amber) (UAG) đối với HDAg-S được chuyển đảo thành một codon tryptophan (UGG). Sự biến đổi xảy ra tại một adenosin ở vị trí 1012 ở RNA đối bộ gen. Hiệu chỉnh HDV RNA lúc đầu được ghi nhận trong các tế bào chuyển nhiễm, nhưng cũng xảy ra ở người, hắc tinh tinh và sóc đen nhiễm virut. Trong enzym vật chủ, RNA adenosin deaminase mạch kép (dsRAD) có trách nhiệm trong việc hiệu chỉnh xảy ra ở mạch đối bộ gen. Hiệu quả của quá trình hiệu chỉnh thay đổi trong các kiểu gen và các thể phân lập khác nhau được chứng minh bằng các mức độ khác nhau RNA virion trong huyết thanh. Hiệu chỉnh ở điểm này, được qui vào điểm amber/W, cần một cấu trúc cặp bazơ bảo tồn cao trong cấu trúc hình que không phân nhánh của HDV RNA. Các đột biến làm thay đổi cấu trúc này, hoặc bởi cắt đứt các cặp bazơ hoặc bằng sự thay đổi cặp A-C ghép đôi không xứng, dẫn đến các nghiên cứu về sinh đột biến điểm nhằm trắc nghiệm sự khiếm khuyết của

hiệu quả hiệu chỉnh, tạo nên *in vitro* sự thuyên giảm protein p-27 và sự sản xuất virion. HDAg-p24 đẩy mạnh sao chép HDV và được sản xuất bởi RNA gây nhiễm; HDAg-p27 ức chế sao chép và cần thiết cho sự lắp ráp virion. Qui mô hiệu chỉnh RNA, là một quá trình một chiều (các bộ gen hiệu chỉnh chỉ sản xuất HDAg-p27) có thể phản ánh một sự điều hòa và cân bằng tinh tế giữa sao chép và lắp ráp của các virion gây nhiễm. Các nghiên cứu phiên mã in vitro chứng minh rằng một phân tử RNA chiều bộ gen 199 nt chứa một vùng tiêu biểu cho một đầu của que HDV, ngược dòng của gen HDAg, có hoạt tính của gen khởi đầu *in vitro*. Một phân tích cấu trúc thứ phát do máy tính của gen khởi đầu HDV phát hiện một cấu trúc thứ phát RNA bậc cao có một vùng lồi ra ngoài hoặc vào trong và một cấu trúc thân vòng bảo tồn giữa các thể phân lập HDV nhóm I và II.

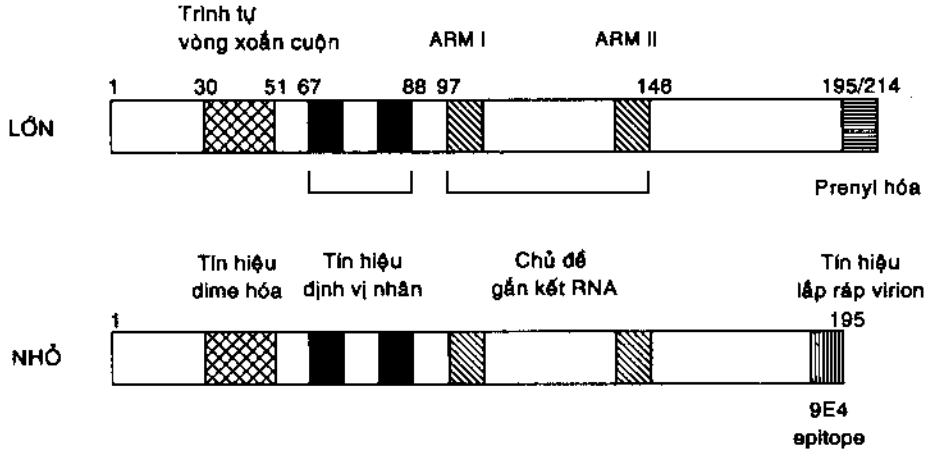
Hai phần ba đầu tận N của protein có tính kiềm cao, trong khi một phần ba của đầu tận C không mang điện tích. Cả 2 thể được phosphoryl hóa, với sự phosphoryl hóa xảy ra tại các gốc serin và HDAg lớn được phoshoryl hóa mạnh hơn. Phosphoryl hóa có thể được thực hiện với casein kinase II và protein kinase C và liên quan đến sự sao chép HDV RNA. HDAg là một protein gắn với RNA, có ái lực gắn kết đặc biệt cao với cấu trúc HDV RNA. HDAg-RNA gắn kết *in vitro* cần một cấu trúc HDV RNA đặc hiệu, như là các đầu tận của cấu trúc hình que HDV, nhưng không đòi hỏi một chuỗi mã HDV RNA đặc hiệu. Trong hạt virut toàn vẹn, HDAg gắn vào HDV RNA. Các tương tác HDAg-RNA này có thể có một vai trò trong sự hình thành cấu trúc của các hạt virion và trong sao chép HDV RNA. Trong tế bào nhiễm virut, HDAg chỉ nằm trong nhân, tuy các biến dị được gặp tích lũy ở nhân, tế bào chất, hoặc lan tỏa khắp nhân. Sự hiện diện của HDAg trong nhân phù hợp với vai trò chức năng của nó trong sao chép HDV RNA xảy ra trong nhân.

Nhiều vùng chức năng cần cho sự sao chép, lắp ráp, sinh sản và lan truyền virut trong gan của gen HDAg đã được mô tả. Có ít nhất có 4 vùng chức năng đã xác định (hình 22-4):

1. Vùng chủ đề gắn kết với RNA: định vị trong 1/3 giữa của HDAg. Vùng này gồm có hai quãng của chủ đề giàu arginin (ARM), được xác định đặc điểm bằng nhiều protein gắn với RNA, gồm cả *tat* và *rev* của HIV. Cả 2 chuỗi mã ARM và một chuỗi mã chêm (spacer) có chiều dài thích hợp cho sự gắn kết RNA đặc hiệu. Tính chất này cho thấy HDAg có thể đồng thời gắn kết vào 2 vùng của HDV RNA. HDAg có thể gắn kết vào cả mạch bộ gen và mạch đối bộ gen của HDV RNA và cả HDAg lớn và nhỏ gắn với hiệu quả bằng nhau. Một chủ đề gắn với RNA ẩn cũng được nhận dạng trong vùng N tận cùng của kháng nguyên delta.

2. Vùng tín hiệu định vị nhân: nằm ở phân nửa đầu tận N của protein. Vùng này chứa hai quãng aa kiềm tính, cả hai cần cho việc hướng dẫn HDAg vào nhân.

3. Vùng chuỗi mã xoắn cuộn: có mặt trong 1/3 đầu tận N của protein. Vùng này có trách nhiệm oligome hóa protein. HDAg lớn và nhỏ có thể tạo nên hoặc đồng lưỡng hợp hoặc dị lưỡng hợp. Oligome hóa của HDAg cần cho nhiều chức năng của HDAg lớn và nhỏ.



Hình 22-4. *Các vùng chức năng của kháng nguyên VG delta lớn và nhỏ*

4. Vùng prenyl hóa: chỉ gặp trong HDAg lớn (Ví dụ, 19 aa đầu tận C của HDAg lớn). Sự prenyl hóa thay đổi hình dáng của kháng nguyên delta, làm cho HDAg lớn mất một biểu vị đầu tận C (9E4), và có thể tương tác giữa HDAg lớn và HBsAg trong một bước then chốt trong lắp ráp HDV. Prenyl hóa cũng tăng cường khả năng của HDAg lớn nhằm ức chế sao chép HDV RNA. 19 aa cần và đủ như một tín hiệu lắp ráp hạt virut toàn vẹn. Điều kỳ lạ là chuỗi mã 19 aa tín hiệu prenyl hóa này cực kì phân li, ngoại trừ 4 aa cuối.

Tuy cấu trúc và đặc tính phân tử của HDAg lớn và nhỏ khá giống nhau, chúng có các chức năng khác biệt có ý nghĩa và gần như đối lập nhau (Bảng 22-1).

HDAg nhỏ cần cho sự sao chép HDV RNA. HDAg nhỏ tác động *in trans* và các khiếm khuyết bổ sung của HDV RNA không tổng hợp HDAg chức năng. Chức năng hoạt động *trans* này cần vùng gắn kết RNA và chuỗi mã xoắn cuộn, gợi ý rằng HDAg nhỏ tạo nên một oligome và gắn vào HDV RNA để dự phần vào sao chép RNA. Tuy nhiên, tổng hợp HDV RNA xảy ra ngay cả khi không có HDAg trong chất trích nhân không có tế bào, và sự thêm vào HDAg không làm tăng sao chép HDV RNA *in vitro*, cho thấy HDAg có thể không trực tiếp liên quan đến sao chép HDV RNA. HDAg nhỏ có thể coi như một vật vận chuyển HDV RNA vào trong nhân, mà không tham dự trực tiếp vào sự sao chép RNA. Tuy nhiên, có khả năng là HDAg nhỏ có một vai trò trực tiếp trong tổng hợp HDV RNA, tuy vai trò này chưa được rõ ràng.

HDAg lớn: HDAg lớn có thể ức chế sao chép HDV RNA và cần cho việc lắp ráp hoặc xuất đi các hạt virut toàn vẹn. Sự hiện diện của 19 aa đầu tận C có trách nhiệm

với cả hai chức năng này của HDAg. Hoạt tính ức chế của HDAg lớn cần đến chuỗi mã xoắn cuộn, nhưng không cần chuỗi mã đặc hiệu trong 19 aa đầu tận C, cho thấy HDAg lớn tác động bằng cách phức hợp với HDAg nhỏ để gây khó khăn cho sự sao chép HDV RNA qua một cơ chế ức chế âm tính trội.

Mặt khác, HDAg lớn và nhỏ góp chung vài chức năng thông thường, như ức chế polyadenyl hóa của HDV mRNA, ổn định HDV RNA và tăng cường hoạt động ribozym.

Bảng 22-1.So sánh các tính chất sinh hóa và hoạt tính sinh học của HDAg lớn và nhỏ.

Tiêu chí so sánh	Lớn	Nhỏ
Các gốc amino axit	214	195
Định vị nhân	+	+
Dimerization	+	+
Gắn kết RNA	+	+
Photphoryl hóa	+++	+
Isoprenyl hóa	+	-
Biểu vị đặc hiệu đầu tận C (9E4)	-	+
Chức năng trans đối với sự tổng hợp RNA	-	+
Ức chế tính trội trans trong sự tổng hợp RNA	+	-
Tương tác với HBsAg	+	-
Ức chế của sự polyadenyl hóa của HDV mRNA	+	+
Sự ổn định HDV RNA	+	+
Tăng cường hoạt tính ribozym	+	+

HDAg có thể tạo nên kháng thể ở BN nhiễm virut. Tuy nhiên, tế bào T gây độc tế bào (TBTGĐTB) đặc hiệu đối với HDAg chưa được xác nhận. Bản đồ biểu vị của HDAg đã được thực hiện hoặc dùng peptit tổng hợp hoặc thể cắt cụt của kháng nguyên biểu hiện trong tế bào nhân nguyên thủy. Nhiều biểu vị miễn dịch trội đã được xác định.

1.5. SAO CHÉP

Trong nhiễm virut tự nhiên, HDV chỉ gây nhiễm tế bào gan, không phát hiện gây nhiễm các tế bào khác ngoài gan. Cách HDV xâm nhập vào trong các tế bào đích hiện nay chưa rõ. Vì vỏ HDV mượn cả 3 loại protein của HBsAg, HDV có lẽ dùng các thụ thể tế bào tương tự như HBV. Một khi vào trong tế bào, HDV bỏ lại vỏ ngoài và do đó có thể tự sao chép mà không cần HBV.

Chu kỳ sao chép bắt đầu bằng sự gắn dính của virut vào màng các tế bào gan. Vì virion HDV được bọc bởi các protein vỏ ngoài của virut trợ giúp (HBV), có khả năng là HBV và HDV có một thụ thể chung trên màng các tế bào gan được nhận biết bởi vùng tiền-S1 của LHBs. Bên trong nguyên sinh chất, HDV được chuyển vào nhân nơi sự sao chép xảy ra. Vùng tín hiệu định vị nhân xác định trong gen HDAg hình như trung gian cho bước khởi đầu này, sau đó bộ gen virut được sao chép bởi RNA

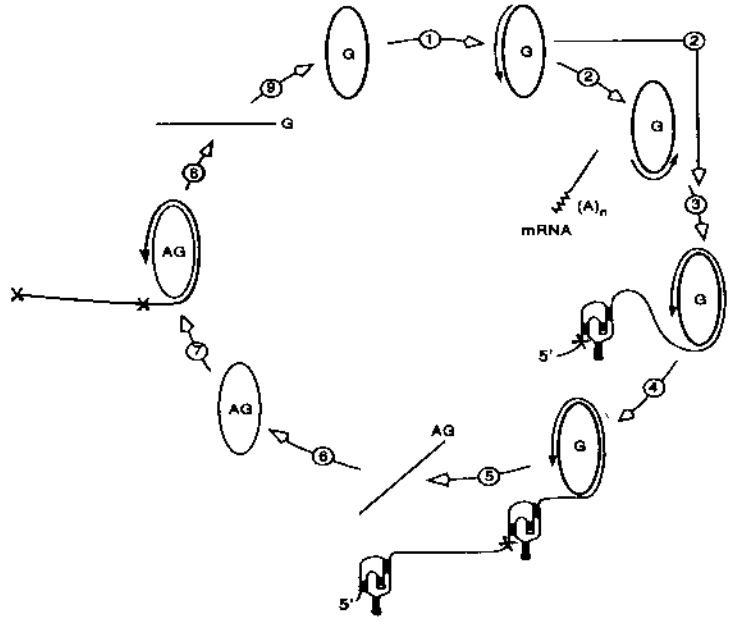
polymerase II phụ thuộc DNA (Poll II), sẽ tương tác với vùng đặc hiệu (RNA có 199 nt) của cấu trúc hình que, nơi mà gen khởi đầu RNA đã được xác định, cho phép phiên mã KĐM duy nhất của HDAg. Trong mô hình này, RNA bộ gen vòng được sao chép bởi Poll II nhằm sản xuất các sản phẩm phiên mã vòng multimer của RNA chiều đối bộ gen trải qua phân cắt tự xúc tác và thắt lại để sản xuất RNA đối bộ gen monomer vòng. Sau đó, RNA đối bộ gen dùng như một khuôn mẫu cho sao chép RNA bộ gen vòng bằng cách phiên mã và chế biến tương tự. Trong lúc đó, vùng của quá trình hiệu chỉnh điều hòa sản xuất L-HDAg. Thể lớn tác dụng như một chất ức chế âm tính trội của sự sao chép bộ gen và cũng là cần thiết cho sự đóng gói của HDV RNA vào trong các hạt virut. Cả LHBs và protein SHBs hiện diện trong các hạt Dane (HBV gây nhiễm) cần thiết cho sự kết vỏ của HDV; điều này xảy ra bằng cách nảy mầm vào lưới nội bào tương của bộ Golgi (Hình 22-5).

Sao chép HDV RNA xảy ra trong nhân tế bào, cả HDAg được phát hiện bằng miễn dịch huỳnh quang, và HDV RNA được phát hiện bằng lai in situ, định vị độc nhất ở nhân. Tuy HDV chỉ gây nhiễm tế bào gan in vivo, HDV RNA có thể sao chép trong nhiều loại tế bào, gồm tế bào gan, nguyên bào sợi, và dòng tế bào thận khỉ, qua chuyển nhiễm HDV cDNA vào các tế bào này. Đa số các hiểu biết về sao chép HDV có được nhờ phương pháp này. Phương pháp có một hạn chế là HDV RNA đã được chép lại từ khuôn DNA in vivo, một bước giả tạo không gặp trong sao chép HDV RNA tự nhiên. Các khác biệt đặc hiệu kiểu tế bào trong hiệu quả sao chép HDV RNA đã được quan sát với vài cấu trúc HDV cDNA.

Sự sao chép HDV RNA được cho là qua một cơ chế "vòng lăn" giống với cơ chế mô tả cho sự sao chép của viroid. Trong mô hình này, RNA đối bộ gen của nhiều chiều dài bộ gen lần đầu được tổng hợp, xảy ra do xử lý thành RNA cỡ monomer. Monomer RNA đối bộ gen được thắt để tạo thành một RNA vòng và được dùng cho một vòng thứ nhì của sao chép vòng lăn để sinh ra monomer RNA hướng bộ gen, nhờ đó hoàn tất chu trình sao chép. Mô hình này, được gọi là *cơ chế vòng lăn kép*, được xác nhận qua phát hiện ở gan hắc tinh tinh và sóc đen nhiễm HDV của HDV RNA hướng bộ gen và đối bộ gen của hai và ba lần chiều dài gen và sự phát hiện hoạt tính ribozym HDV, có trách nhiệm trong việc phân cắt HDV RNA nhiều chiều dài thành các phân tử kích cỡ bộ gen mà sau đó chuyển vào các bộ gen vòng qua quá trình tự thắt. Sự loại bỏ hoạt tính ribozym của mạch bộ gen hoặc đối bộ gen ức chế sao chép HDV RNA củng cố thêm mô hình sao chép vòng lăn kép. Các nghiên cứu này sớm chứng minh hoạt động ribozym của HDV RNA cần cho sao chép HDV RNA, tính đặc hiệu điểm phân cắt, chuỗi mã RNA và sự đòi hỏi cấu trúc đối với hoạt động ribozyme HDV trong tế bào thì giống với hoạt tính *in vitro* khi không có protein. Tuy nhiên, một khó khăn đối với mô hình đã ghi nhận ở trên, là ribozym HDV cần một cấu trúc bậc ba phức hợp không tương hợp với cấu trúc hình que của HDV RNA. Có lẽ các yếu tố tế bào tham dự vào việc phân cắt HDV RNA trong tế bào nhiễm virut qua việc làm cho dễ dàng cấu tạo của ribozym hoạt động; lần lượt

sự tự phân cắt có thể xảy ra chỉ trên sản phẩm phiên mã HDV RNA mới sinh, khi vùng ribozym được tổng hợp. Trong cách thứ hai, các chất trung gian của RNA của hai hoặc ba lần chiều dài bộ gen tìm thấy trong tế bào nhiễm virut sẽ là sản phẩm ngõ cụt của sao chép HDV RNA. Các nguồn gốc của sao chép trên cả bộ gen và RNA đối bộ gen chưa được xác định chắc chắn. Các nghiên cứu *in vitro* cho thấy tổng hợp RNA antigenomic-sense có thể khởi đầu từ điểm cuối của cấu trúc hình que của HDV RNA.

Một RNA 0,8-kb hướng đối bộ gen, ít phức tạp (60 phân tử cho mỗi tế bào so với 6.000 phân tử của RNA đối bộ gen và 300.000 phân tử của genomic RNA) đã được phát hiện trong gan của vài hắc tinh tinh hoặc sóc đen nhiễm virut. Loại RNA này chứa một chuỗi mã poly(A). Đầu cuối 5' của sản phẩm phiên mã bắt đầu tại vị trí 1631 hoặc 1632, gần đơn vị mã khởi đầu của KĐM cho HDAg. Đầu cuối 3' của sản phẩm phiên mã là 76 nucleotit xuôi dòng từ đơn vị mã kết thúc của HDAg và được đứng trước (15 nucleotit ngược dòng) bằng một tín hiệu polyadenyl hóa AAUAAA. RNA này che phủ toàn bộ KĐM cho HDAg và tiêu biểu cho mRNA mã hóa HDAg. Sự sao chép HDV RNA được cho là bắt đầu từ nucleotit 1631 và chấm dứt ở tín hiệu polyadenyl hóa, gây ra sự tổng hợp của các loại 0,8-kb RNA. RNA này được dùng dịch mã HDAg, lần lượt phục vụ như protein chống gen kết thúc, cho phép các vòng theo sau của sự tổng hợp RNA để vượt quá tín hiệu polyadenyl hóa. Kết quả là một HDV RNA đa phân được tổng hợp. Bởi thế, mRNA 0,8-kb được dự báo là chỉ được tổng hợp trong nhiễm virut ban đầu. Tuy nhiên, RNA 0,8-kb không được thấy phổ biến trong các hệ thực nghiệm trong đó sao chép HDV RNA xảy ra. Thế nên, ý nghĩa chức năng của chúng còn cần được xác định.



Hình 22-5. *Mô hình vòng lăn trong sao chép HDV RNA.*

Bước 1, sao chép RNA khởi đầu từ gần đỉnh của cấu trúc hình que, tạo sản phẩm phiên mã đối bộ gen.

Bước 2, RNA mới sinh được chế biến và polyadenyl hóa, sinh ra mRNA 0,8 kb. Bước này bị bỏ qua trong các vòng sao chép RNA sau.

Bước 3 và 4, polyadenyl hóa bị ức chế bởi HDAg, cho phép sao chép RNA để mở rộng thành sản phẩm RNA dài hơn. Cấu trúc ribozym được tạo thành trên RNA mới sinh, cho phép sự tự phân cắt xảy ra. Một mô hình ribozym đơn giản hóa được biểu thị.

Bước 5, Hai sự kiện tự phân cắt sinh ra một RNA đối bộ gen monomer thẳng.

Bước 6, sự tự thất hình thành một RNA vòng.

Bước 7- 9, sao chép vòng lăn của mạch bộ gen, bắt chước các bước từ 3 đến 6.

Bước 2', bước 2 bị bỏ qua trong đa số các vòng sao chép, đặc biệt khi có HDAg (Hsieh và Taylor). (Theo Lai).

Trong quá trình sao chép HDV RNA, một bảo tồn nucleotit đặc hiệu (U-C) xảy ra tại nucleotit 1015 của RNA hướng bộ gen, thay đổi codon kết thúc đối với HDAg nhỏ (trên mạch đối bộ gen) đối với một đơn vị mã tryptophan và mở rộng KĐM cho 19 aa phụ. Đột biến này tạo nên trong sự tổng hợp của HDAg lớn lần lượt ức chế sao chép HDV RNA khác và khởi đầu lắp ráp các hạt virut. Cơ chế của đột biến đặc hiệu (RNA hiệu chỉnh) còn chưa rõ ràng nhưng có vẻ cần một cấu trúc RNA hình que và các chuỗi mã nucleotit đặc hiệu bao quanh điểm hiệu chỉnh và vùng bổ trợ của nó. Đột biến xảy ra trên antiRNA hướng bộ gen, tạo ra một đột biến A-G, kết quả là một chuyển đảo U-C trong RNA hướng bộ gen, tuy các kết luận mâu thuẩn đã được trình bày trước đây bởi cùng các viện bào chế dùng các xét nghiệm tương tự. Sự hiệu chỉnh RNA này có vẻ được thực hiện qua một RNA-adenosine deaminase mạch kép. Tuy nhiên, enzym này có khả năng sinh ra một chuyển đảo A-G trong nhiều điểm của HDV RNA *in vitro*. Vì thế, đây còn một mức độ điều chỉnh khác phù hợp tính đặc hiệu của hiệu chỉnh RNA *in vivo*. Hơn nữa, việc xác định thời gian của hiệu chỉnh RNA là quan trọng đối với sinh học của HDV, khiến một lượng tối ưu HDV RNA được tổng hợp trong tế bào nhiễm virut. Các cơ chế chọn lọc điểm hiệu chỉnh và điều hòa tạm thời của hiệu chỉnh RNA chưa được rõ ràng. Trong tế bào nuôi cấy chuyển nhiễm với HDV cDNA, loại RNA được hiệu chỉnh thường có thể phát hiện 4 đến 5 ngày sau khởi đầu sao chép HDV RNA. Thế nên, điều được dự báo là HDAg nhỏ sẽ là protein virut trội trong nhiễm HDV ban đầu. Thực thế, trong sóc đen thực nghiệm, lượng HDAg lớn trong tế bào gan tăng trong quá trình nhiễm HDV cấp, nhưng giảm xuống khi nhiễm virut mạn. Tuy nhiên, ở BN VG delta, tỷ suất tương đối của HDAg lớn và nhỏ có vẻ thay đổi, không kể đến giai đoạn lâm

sàng của nhiễm virut. Trong mỗi BN VG delta được nghiên cứu, cả 2 loại RNA chứa HDAg-KĐM một lớn và một nhỏ đều có mặt. Tuy nhiên, sự hiệu chỉnh RNA không xảy ra trong vài hệ thực nghiệm, như chuột chuyển gen biểu hiện HDV RNA.

Khảo sát về men trong sao chép HDV RNA chưa được rõ ràng. Quan sát các tế bào chuyển nhiễm HDV cDNA mà sự sao chép HDV RNA bị ức chế bởi α-amanitin được gợi ý (như với viroid) đến sự dính líu của DNA phụ thuộc RNA polymerase II (pol II). Trong một hệ thống sao chép *in vitro*, sự sao chép HDV RNA bị ức chế bởi kháng thể đặc hiệu pol II. Tuy nhiên, phát hiện này chưa được lập lại. Vấn đề là tại sao RNA polymerase II hoặc các polymerase tế bào khác có thể dùng một khuôn RNA hơn là khuôn DNA bình thường. Có lẽ, HDAg có thể phức hợp với các yếu tố phiên mã tế bào và tương tác trực tiếp hoặc gián tiếp với pol II, qua đó thay đổi tính đặc hiệu của khuôn. Vì HDAg gắn vào HDV RNA, một phức hợp phiên mã gồm HDAg, pol II và các yếu tố phiên mã tế bào có thể nhận được phức hợp có HDV RNA và tiến hành sao chép RNA. Điều này giải thích sự cần thiết của HDAg trong tổng hợp HDV-RNA. Tuy nhiên, tổng hợp HDV-RNA không xảy ra khi vắng mặt HDV trong các dịch tan không chứa tế bào. Sự tổng hợp HDV RNA khi không có HDAg cho thấy một mức độ cơ bản của sao chép RNA và HDAg có thể huy động các chất hoạt hóa phiên mã để phức hợp với HDV RNA nhằm tăng cường sao chép RNA. Cấu trúc hình que của HDV-RNA được ghi nhận giống với DNA mạch kép. Tuy nhiên, pol II và các yếu tố phiên mã được thừa nhận là có thể nhận biết RNA mạch kép. Thực vậy, bản sao DNA mạch kép của vùng bao gồm nguồn sao chép cho HDV RNA mạch đối bộ gen có một hoạt tính gen khởi động cho sự phiên mã.

Tuy HDV RNA hình que, mạch kép, có thể được cho là tác động như một chất cảm ứng interferon mạnh, khả năng HDV sao chép hoạt động trong tế bào nhiễm virut cho thấy HDV RNA thoái biến do một chất cảm ứng interferon hoặc phát triển một đáp ứng với interferon. Thực vậy, dùng interferon-α hoặc γ đối với tế bào chuyển nhiễm HDV cDNA không ức chế sao chép HDV với sự hiện diện của các con đường hoạt hóa interferon bảo tồn chức năng khác gồm cả PKR protein kinase hoạt hóa RNA mạch kép. Phát hiện này đã được xác nhận trong một nghiên cứu khác, trong đó hoạt hóa PKR do HDV RNA không liên quan với sự ức chế tổng hợp protein.

1.6. SỰ LẮP GIÁP VIRUT

Các nghiên cứu đồng chuyển nhiễm dùng các thể khác nhau của gen HBsAg và plasmit mã hóa HDAg lớn hoặc nhỏ và HDV cDNA đã chứng minh rằng thể lớn của HDAg cần thiết cho sự lắp ráp hạt HDV. Một hạt giống virut có thể được tạo nên ngay cả không có HDV RNA, yêu cầu tối thiểu là có HDAg lớn và HBsAg. HDAg lớn đã được chứng minh là tự nó có thể gắn với HBsAg *in vitro*. Sự tương tác này cần sự prenyl hóa và aa đặc hiệu với 19 aa C tận cùng. Chuỗi 19 aa cần và đủ

cho việc lắp ráp virut . Mặt khác, chỉ HBsAg nhỏ cũng đủ cho lắp ráp hạt HDV, nhưng sự có mặt của polipeptit HBsAg lớn (đầu S1) trong hạt được lắp ráp cần thiết cho tính nhiễm virut của hạt HDV lắp ráp trong môi trường cấy tế bào gan loài linh trưởng nguyên thủy. Tuy HDAg nhỏ không cần cho sự lắp ráp hạt HDV, nó có thể được gói vào trong các hạt virut , có lẽ vì tương tác của chúng với HDAg lớn. Tỷ suất tương đối của HDAg lớn và nhỏ trong hạt HDV lấy từ huyết thanh nhiễm virut thay đổi từ 0,5 đến 10 hoặc cao hơn. Tỷ lệ cố định giữa các thể lớn và nhỏ của HDAg trong hạt virut không cần phải chặt chẽ. Có thể có một cộng đồng hạt virut chứa toàn hạt lớn hoặc nhỏ.

Trong tế bào, tương tác giữa HDAg và HBsAg không rõ ràng, vì HDAg chủ yếu hiện diện trong nhân, trong khi HBsAg chỉ ở trong tế bào chất. Người ta đã chứng minh rằng một thể đột biến HDAg với một khiếm khuyết tín hiệu định vị nhân có thể còn được gói vào trong các hạt virut, cho thấy tương tác xảy ra trong tế bào chất. HDAg lớn bị prenyl hóa có thể cho phép tương tác với một thành phần màng tế bào nằm trong HBsAg. Sự tương tác này có thể là điểm tạo nhân của sự lắp ráp virut. Một thành phần virion khác, như HDAg nhỏ và HDV RNA, được hoà nhập vào hạt virut qua sự tương tác của chúng với HDAg lớn trước hoặc sau khi cái thứ hai gắn vào HBsAg. Thí dụ, HDAg nhỏ hòa nhập vào virion nhiều khả năng là hậu quả của lưỡng phân hóa với HDAg lớn qua các chuỗi mã vòng xoắn cuộn. HDV RNA được gói có nhiều khả năng gắn kết vào HBAg lớn hoặc nhỏ. Tuy nhiên, dù HDAg lớn đủ để gói HDV RNA vào trong virion cũng cần HDAg nhỏ, cho thấy HDV RNA có thể gắn kết vào cả HDAg lớn và nhỏ trong virion. Chỉ có RNA hướng bộ gen được gói vào virion, tuy RNA hướng bộ gen gắn đồng đều vào HDAg *in vitro*. Cơ sở chọn lọc việc gói RNA chưa rõ ràng. Trong các hạt virut lắp ráp, HDAg đã được chứng minh phức hợp với HDV RNA. Cho đến nay, không có cấu trúc nucleocapsit riêng biệt nào được thấy bên trong hạt virut.

1.7. SỰ SAO CHÉP HDV TRONG NUÔI CẤY TẾ BÀO

Sự sao chép HDV trong nuôi cấy tế bào chưa thành công. Nuôi cấy tế bào gan nguyên thủy từ sóc đen và hắc tinh tinh được gây nhiễm với HDV, sinh ra một chu kỳ sao chép đơn giản trong một tỷ lệ nhỏ của tế bào. Dòng vô tính HDV cDNA hoặc cRNA một phần hoặc toàn phần đã được đưa vào trong các tế bào chuyển nhiễm. Tuy nhiên, chu kỳ gây nhiễm có vẻ bị hạn chế trong các tế bào gan nguyên thủy, và sự sao chép virut toàn bộ bị giới hạn vào các tế bào gan bị chuyển nhiễm với một hepadnavirut. Virion được tổng hợp *in vitro* phóng thích vào trong môi trường hoàn toàn có tính gây nhiễm. Ngược lại, trong các nghiên cứu *in vitro,* dòng cDNA của các thành phần RNA đặc hiệu đã giúp rất nhiều cho sự hiểu biết của chúng ta về cấu trúc bộ gen và sự sao chép virut. Phân tích sự sinh đột biến điểm trong RNA đối bộ gen đã làm sáng tỏ hiệu quả và sự điều hòa tinh tế của quá trình hiệu chính tế bào

trong việc sao chép và đóng gói các virion HDV. Các đột biến sinh ra bằng cách tạo các đột biến điểm, các xen đoạn nhỏ, hoặc các mất đoạn tại đỉnh của cấu trúc hình que đã cho thấy *in vitro* làm thế nào phần này của bộ gen có thể ảnh hưởng đến sao chép HDV bằng cách giảm hiệu quả sao chép ít hơn 100 đến 1000 lần khi so với kiểu hoang dại. Trong các nghiên cứu phiên mã *in vitro* xác nhận mạnh mẽ sự hiện diện của một gen khởi đầu ở đỉnh của que, ngược dòng với gen HDAg, có thể giúp chúng ta hiểu các gen khởi đầu hoạt động như thế nào.

2. DỊCH TỄ HỌC

Virut VG delta (HDV) lần đầu được phát hiện năm 1977 tại Ý do Rizzetto và cs, các nhà nghiên cứu đã phát hiện phương pháp nhuộm kháng nguyên VG delta (HDAg) trong nhân tế bào gan ở các mẫu sinh thiết của các BN miền nam Ý. Tuy nhiên, khi xét nghiệm kháng thể đối với HDV (anti-HDV) được phát triển và các mẫu huyết thanh dự trữ được xét nghiệm, thì thấy nhiễm HDV có mặt khắp thế giới.

HDV có thể đã có từ trước những năm 1970. Xét nghiệm các mẫu huyết thanh dự trữ cũ cho thấy anti-HDV hiện diện trong các mẫu huyết thanh được lấy trước năm 1971. Một mẫu globulin miễn dịch người bình thường bào chế ở Mỹ trong Thế Chiến thứ II được tìm thấy có phản ứng anti-HDV. Điều thú vị là các mẫu gan của các BN bị VG Santa Marta ở Nam Mỹ, thu thập từ năm 1937 đến 1977, khi nhuộm thấy có HDAg, xác nhận HDV đã gây bệnh cho người trong khoảng thời gian khá dài.

Rizzetto và cs. ước tính khoảng 15 triệu người nhiễm HDV trên khắp thế giới (ước tính độ 5% người mang HBsAg nhiễm HDV). Việc xác định số trường hợp VG cấp hoặc kịch phát liên quan đến nhiễm HDV rất khó khăn, vì tỷ lệ mắc thay đổi tùy theo lục địa, quốc gia, và vùng. Tại Mỹ, ước tính có 7.500 trường hợp đồng nhiễm hoặc bội nhiễm HDV cấp hàng năm. Có độ 70.000 người mang HDV, và trên 1.000 người chết do nhiễm HDV mạn hoặc kịch phát mỗi năm.

2.1. CÁC KIỂU DỊCH TỄ

Nhiễm HDV phát hiện ở những người mang HBsAg khắp thế giới với một mức độ nhiều hay ít khác nhau. Sự phân bố của HDV không đồng đều, và tần suất có thể thay đổi đáng kể ở các vùng hoặc cộng đồng ở cạnh nhau. Ba kiểu dịch tễ nhiễm HDV đã được xác định, bao gồm:

- *Kiểu lưu hành địa phương:* như xảy ra ở miền Nam Ý và Hy Lạp. Nhiễm HDV tỏ ra là dịch lưu hành ở một vài cộng đồng, đặc biệt ở các nước dọc theo biển Địa Trung Hải. Tại miền nam nước Ý, trên 23% người mang HBsAg có anti-HDV và ở Hy Lạp tỷ lệ này là trên 27%. Nhiều BN trong các vùng này hình như nhiễm HDV rất sớm trong cuộc đời, có lẽ ngay lúc nhỏ. Nam có khuynh hướng nhiễm nhiều hơn nữ giới. Con đường lan truyền HDV ở các cộng đồng hiện không được xác định chắc

chắn, vì có nhiều BN không có bất cứ một yếu tố nguy cơ nào như tiêm chích ma túy hoặc truyền máu.

- *Kiểu dịch:* các vụ dịch được mô tả ở lưu vực Amazon của Venezuela.
- *Kiểu nhiễm HDV ở những nhóm có nguy cơ cao:* như tiêm chích ma túy ở các nước phát triển.

2.2. CÁC ĐƯỜNG TRUYỀN NHIỄM

HDV được chứng minh có thể truyền nhiễm người cho người qua nhiều đường, song đường truyền chủ yếu là đường máu. Những đường truyền được liệt kê theo bảng 22-2 như sau:

Bảng 22-2. Các nguồn và đường truyền nhiễm của VG delta.

Tiêm chích ma túy đường tĩnh mạch
Trong gia đình
Truyền máu
Trong bệnh viện
Thẩm tích máu
Tiêm chích, tiêm phòng
Thiết bị trích máu ngón tay
Tiếp xúc tình dục (tình dục đồng tính hay dị tính)
Lan truyền đường máu không rõ ràng

2.2.1. Đường máu

HDV gây bệnh theo đường máu và vì thế có thể lây truyền qua các tiếp xúc với máu hoặc sản phẩm máu. Hiện nay, HDV hiếm khi bị lây nhiễm do truyền máu toàn phần (< 1/3.000 lần truyền máu) do đã sàng lọc HBsAg. Tuy nhiên, HDV có nguy cơ cao hơn ở những người bệnh ưa chảy máu có HBsAg(+) được điều trị với các yếu tố đông máu: trong một nhóm người bệnh ưa chảy máu HBsAg(+) ở Mỹ, 34% có anti-HDV và trong số này nhiều người đã có bằng chứng bệnh gan nặng. Hiếm hơn là các trường hợp thẩm tích máu. Trong các vùng dịch lưu hành, thường truyền qua đường máu không rõ ràng.

2.2.2. Đường tình dục

HDV có thể được lan truyền qua đường tình dục, tuy không chắc chắn như VG B. Một nghiên cứu gần đây ở Đài Loan đã xác định lây nhiễm HDV ở những người luyến ái khác giới qua so sánh phân tích chuỗi mã HDV RNA. Ở những người nam đồng tính nhiễm VG B, tỷ lệ nhiễm HDV khá thay đổi, từ 0 (Anh) đến 40% (Ý). Tuy nhiên, ở đa số các nước, tỷ lệ này dưới 10%. Trong nghiên cứu VG delta ở người nam đồng tính có nhiều người có bệnh sử chích ma túy là một yếu tố gây nhiễu.

Trong một nghiên cứu ở Pháp, 6/42 người đồng tính không tiêm chích ma túy có anti-HDV (14%), cho thấy bệnh có thể mắc qua đường tình dục. Tại Mỹ, nhiễm HDV hay gặp ở đàn ông đồng tính ở bờ biển phía Tây hơn là vùng Trung Tây hoặc bờ biển phía Đông. Tại Đài Loan, nhiễm HDV truyền theo đường tình dục được mô tả ở đàn ông có quan hệ tình dục với gái mại dâm. Trong những vùng dịch lưu hành như Ý, Hy Lạp, lây truyền theo đường tình dục không đủ để giải thích cho những trường hợp này, là những trường hợp mắc bệnh từ nhỏ nhưng cũng có thể là nguyên nhân của những trường hợp xảy ra muộn hơn.

2.2.3. Các đường truyền nhiễm khác

Các điều kiện vệ sinh kém và sống đông đúc làm dễ lan truyền virut. Tại miền nam nước Ý, sống chung với người mang HDV trong cùng gia đình cũng đã được xác nhận như một nguy cơ chủ yếu của truyền nhiễm HDV. Tục xiên đinh qua cơ thể và sự xăm mình đang tăng lên có thể là các kiểu truyền nhiễm mới ở thanh niên ngày nay.

2.2.4. Nhiễm HDV ở người nhận gan ghép

Một kiểu nhiễm HDV bất thường được ghi nhận ở các gan ghép. Trong kiểu truyền nhiễm này, sự sao chép sớm của HDV cùng với việc sao chép HBV tối thiểu (chỉ được phát hiện bằng các xét nghiệm PCR cực nhạy), về mặt lâm sàng bệnh còn yên lặng, không có bằng chứng sinh hóa hoặc mô học của tổn thương mẫu ghép cho đến khi nhiễm HBV được tái hoạt hóa với sự biểu hiện hoàn toàn của các dấu ấn di truyền và kháng nguyên. Sự kiện này làm tăng cường sao chép HDV, biến tình trạng nhiễm HDV tiềm tàng thành VG D toàn phát của mẫu ghép.

2.3. PHÂN BỐ NHIỄM HDV TRÊN THẾ GIỚI

HDV có thể gây ra các vụ dịch VG mạn và kịch phát tàn phá các nước nghèo ở miền bắc Nam Mỹ và châu Phi, Tuy nhiên, HDV gần như không có ở một số vùng châu Á có dịch lưu hành VG B với tần suất tương tự hoặc cao hơn. Nhiều kiểu dịch lưu hành có thể được xác định, Tuy nhiên, các khác biệt về dịch lưu hành HDV trên thế giới và mức độ trầm trọng bất thường của HDV ở các xứ nhiệt đới chưa được giải thích rõ.

2.3.1. Dịch tễ học HDV phụ thuộc vào dịch tễ học HBV

HDV phụ thuộc HBV và chỉ có thể gây nhiễm bằng đồng nhiễm với HBV hoặc bội nhiễm HDV trên người mang HBV. Do đó, dịch tễ học HDV thường song hành với dịch tễ học HBV. Các đường truyền nhiễm HDV cũng tương tự với HBV. Tuy nhiên, có sự khác biệt về mức độ quan trọng của từng đường lây truyền giữa HBV và HDV. Truyền nhiễm HDV chu sinh ít quan trọng, chủ yếu vì đa số các bà mẹ mang HBV nhiễm HDV không có tính gây nhiễm HBV cao (như anti HBe(+), và hiếm khi truyền HBV cho con. Truyền nhiễm qua đường tình dục của HDV có vẻ

kém hiệu quả hơn HBV do tần số HDV tương đối thấp ở các đàn ông đồng tính trên thế giới. Trong các nước kém phát triển truyền nhiễm qua phơi nhiễm máu trực tiếp hoặc gián tiếp và tiếp xúc tình dục khác giới có vẻ quan trọng nhất.

Trong những nước có tần suất nhiễm HBV mạn thấp, tần suất HDV thường thấp ở người mang HBV không triệu chứng (<10%) và ở các BN có bệnh gan do HBV (<25%). Nhiễm HDV trong các nước này hay gặp ở người tiêm ma túy và BN ưa chảy máu.

Trong những nước có tần suất nhiễm HBV trung bình và cao, tần suất nhiễm HDV khá thay đổi. Ở miền nam nước Ý và nhiều vùng ở Nga và Rumani, tần suất nhiễm HDV rất cao ở những người mang HBV không triệu chứng (>20%) và những người có bệnh gan mạn liên quan đến HBV (>60%). Các nước khác, bao gồm miền bắc Ý, Tây Ban Nha, Thổ Nhĩ Kỳ và Ai Cập có một tần suất nhiễm HDV trung bình ở những người mang HBV không triệu chứng (10-19%) và các BN bệnh gan mạn do HBV (30-50%).

***Bảng 22-3. Dịch tễ học của VG delta. Sự hiện diện của anti-HDV ở những người mang HBsAg mạn toàn thế giới* (theo Rizzetto và cs).**

Lục địa	Người mang HBsAg mạn được xét nghiệm	Anti-HDV(+)
Nam Mỹ	669	51 (7,6%)
Bắc Mỹ	940	112 (11,9%)
Châu Á	1651	179 (10,8%)
Châu Phi	167	1600 (10,4%)
Úc/ châu Đại Dương	144	9 (6,3%)
Châu Âu		
Đông Âu	1556	56 (3,6%)
Bắc Âu	587	73 (12,4%)
Nam Âu	2697	484 (17,9%)

Tuy nhiên, hầu hết miền đông nam châu Á và Trung Quốc, nơi tần suất nhiễm HBV rất cao, HDV lại ít gặp. Trong một số nước nam Mỹ ở lưu vực sông Amazon, các vụ dịch chu kỳ của HDV đã xảy ra ở người mang HBV trong các vùng tương đối cô lập. Bệnh liên quan đến HDV trong các vụ dịch này khá nặng, tiến triển nhanh đến VG kịch phát và các tỷ lệ trường hợp-tử vong là 10-20%. Nguyên nhân của quá trình không điển hình của nhiễm HDV trong các cộng đồng này hiện chưa rõ(Bảng 22-3).

2.3.2. Phân bố nhiễm HDV trên thế giới.

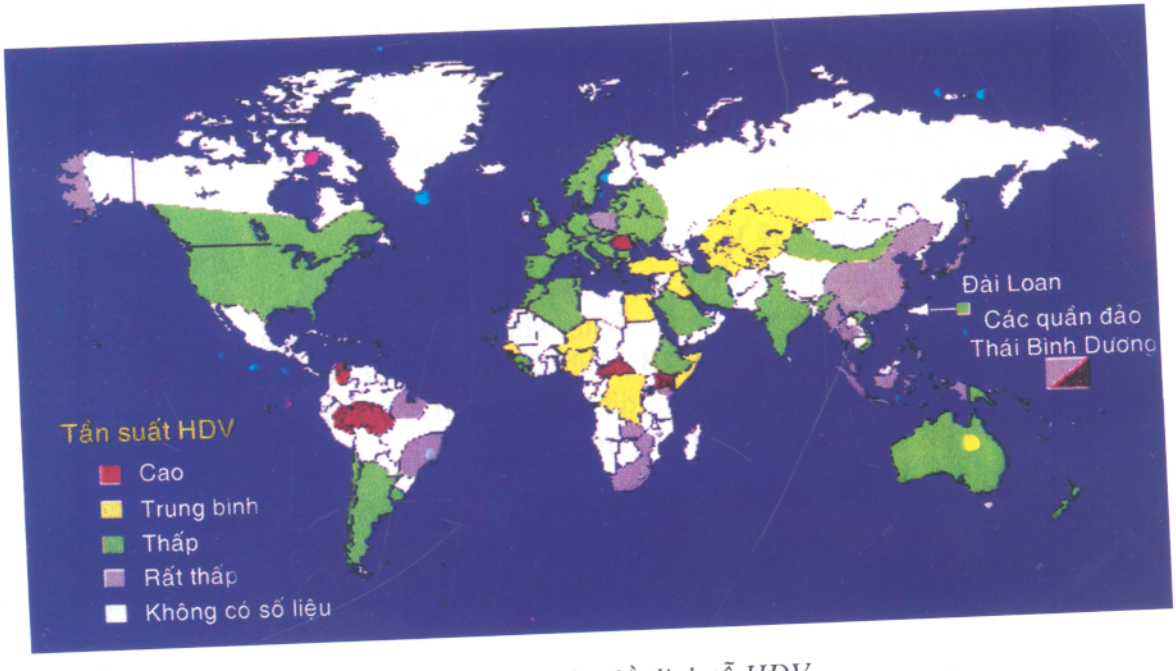
Vùng dịch lưu hành cao: thường là ở các nước nghèo và đông dân như phần phía bắc của Nam Mỹ và châu Phi (Cộng Hòa Trung Phi). Nhưng Rumani cũng được báo cáo có tần suất cao tương tự. Ở vùng này, bội nhiễm HDV ở người mang HBV là nguyên nhân chủ yếu của bệnh gan mạn. Bệnh thường gặp ở trẻ em và thanh niên tuổi từ 5-24 (Bảng 22-4).

Bảng 22-4. Các kiểu nhiễm HDV ở những nước kém phát triển.

Dịch lưu hành HDV	Tần suất HDV trong		Nhóm tuổi nhiễm	Các vụ dịch
	Người mang HBV không triệu chứng %	Bệnh gan mạn %		
Cao	> 20	> 60	5-40	Thường gặp
Trung bình	10-19	30-60	> 20	? Trong quá khứ
Thấp	3-9	10-25	> 20	Tiêm chích ma túy
Rất thấp	<3	< 10	> 20	Không

Vùng dịch lưu hành trung bình: thường ở các vùng rất khác nhau bao gồm một số vùng Trung Đông, châu Phi, một số quần đảo Thái Bình Dương và miền đất thuộc châu Á của Nga. Trong các vùng này, HDV là một nguyên nhân chủ yếu của bệnh gan mạn, nhưng bệnh thường xảy ra ở người lớn. Các vụ dịch ngày nay ít gặp nhưng đã có thể xảy ra trong quá khứ.

Vùng dịch lưu hành thấp: trong đó HDV là một nguyên nhân ở mức trung bình của bệnh gan mạn, là kiểu thường gặp nhất ở các nước đã phát triển, và trong các vùng này đáng chú ý bởi tần số cao ở người tiêm chích ma túy và các quan hệ tình dục của họ. Kiểu này xảy ra ở một vài nước đang phát triển ở châu Phi, châu Á và đã được nghiên cứu cẩn thận nhất ở Đài Loan, nơi mà sự xuất hiện HDV tăng nhanh ở những người tiêm chích ma túy và người mại dâm có thể là các dấu hiệu của một vấn đề HDV đang nổi lên ở vùng này.



Hình 22-6. *Bản đồ dịch tễ HDV.*

Vùng dịch lưu hành rất thấp: mức độ không đáng kể của nhiễm HDV ở nhiều nước ở châu Á (Trung Quốc, Mông Cổ, Thái Lan, Miến Điện, Malaysia, Indonesia, Nhật Bản, Philippines), các thổ dân châu Mỹ và Eskimo, một vài vùng châu Phi. Lý do của sự vắng mặt HDV hiện nay chưa rõ.

2.3.3. Tình hình nhiễm HDV tại Việt Nam

Nghiên cứu về VG D tại Việt Nam còn ít. Năm 1994, trong 76 BN VG cấp tại Viện nghiên cứu Lâm sàng các Bệnh nhiệt đới, Phạm Song và cs đã tìm thấy kháng thể toàn phần anti-HDV chiếm tỷ lệ 9,2%. Trong một nghiên cứu tại một huyện đồng bằng sông Cửu Long với tần suất HBsAg trong cộng đồng là 11±2%, trong đó người nhiễm HBsAg mạn là 9,7%. Những người mang HBsAg mạn được xét nghiệm kháng thể anti-HDV tại Học Viện Quân Y, kết quả cho thấy cộng đồng dân cư huyện Tân Châu có tỷ lệ mang dấu ấn anti-HDV là 4,6%.

2.4. KIỂU LÂY NHIỄM

Lây nhiễm HDV cũng được ghi nhận xảy ra dịch ở vài cộng đồng. Các vụ dịch riêng biệt đã được mô tả ở Yupca và Yanomani Indians của Venezuela. Các vụ dịch có quy mô nhỏ nhiễm HDV liên quan đến lây nhiễm trong bệnh viện, hoặc do thẩm tách máu hoặc trong quá trình điều trị hóa chất chống ung thư. Một vụ dịch VG delta được mô tả ở những người chích ma túy ở Worcester, Massachussetts với một hình ảnh đáng quan tâm của vụ dịch là vụ dịch VG delta thứ phát ở những người tiếp xúc tình dục với người nghiện ma túy.

Ở miền bắc châu Âu và Mỹ, nhiễm HDV tương đối ít gặp, trừ ở các nhóm nguy cơ cao như người chích ma túy và BN truyền máu nhiều lần (bệnh ưa chảy máu). Trong một nghiên cứu đa trung tâm ở châu Âu, từ 31 đến 75% người chích ma túy HBsAg(+) có dấu ấn nhiễm virut delta.Trong một nhóm 372 chích ma túy ở New York có 80 (22%) có anti-HDV.

Một vài vùng có thể có tỷ lệ nhiễm HDV thấp, thường ở nơi có tỷ lệ người mang HBsAg cao. Một thí dụ là Nam Phi nơi tỷ lệ người mang HBsAg ở người da đen có thể cao đến 15% trong vài vùng quê nhưng không có trường hợp nào nhiễm HDV được ghi nhận, Tuy nhiên, ở miền Bắc châu Phi, VG delta xảy ra nhiều hơn: ở Ethiopia, 6% của một nhóm lính quân dịch có anti-HDV và ở Cameroon 27% trong 110 người HBsAg(+) có anti-HDV trong huyết thanh.

Tần suất nhiễm HDV cao bất thường đã được ghi nhận ở Rumania. Nơi có đến 83% BN HBsAg(+) có anti-HDV. Lý do còn chưa rõ nhưng có thể liên quan đến việc dùng kim tiêm nhiễm khuẩn để tiêm và tiêm phòng và việc dùng máu toàn phần qua tiêm bắp.

Một vài quần đảo ở Thái Bình Dương cũng có một tỷ lệ nhiễm HDV bất thường.Trong 130 BN HBsAg(+) ở Kiribati (Một nước cộng hòa độc lập có 26 hòn

đảo) 90 (69%) có anti-HDV.Tuy bệnh gan ở những BN này chưa được xác định đặc điểm, nhưng không có bệnh sử VG cấp hoặc vàng da. Trên một hòn đảo Nauru kế cận, 23% người mang HBsAg được tìm thấy có anti-HDV.

Dịch tễ học của nhiễm HDV hình như thay đổi theo vùng. Tại Ý, nơi VG delta lần đầu tiên được mô tả, đã giảm thiểu đáng kể trong tần suất nhiễm HDV. Tuy lý do chính xác của điều này chưa rõ, tần suất nhiễm HDV phụ thuộc vào sự thuyên giảm chung trong nhiễm HBV, cũng như sự cải thiện các điều kiện xã hội kinh tế và kích cỡ gia đình nhỏ hơn. Tỷ lệ nhiễm HDV có vẻ được giảm xuống ở những người sống ở lưu vực Amazon sau chiến dịch chủng ngừa chống HBV có quy mô rộng. Tương tự, tỷ lệ HDV mới mắc đã giảm đáng kể trong một cộng đồng ở Hy Lạp, nơi đã dùng kim để tiêm và tiêm phòng chỉ sử dụng một lần. Tần suất nhiễm HDV ở những người chích ma túy ở Hồng Kông và Tây Ban Nha cũng giảm tương tự, có lẽ do sự quan tâm ngày càng tăng về các virut gây bệnh theo đường máu.

Vấn đề di cư có thể có tác động trên nhiễm HDV. Thí dụ, dân di cư từ các xứ sở thuộc Liên Xô cũ, cũng như Albania và Rumania có thể mang HDV theo họ. Nam Phi tương đối cô lập với những phần còn lại của châu Phi cho đến gần đây, nhưng với sự gia tăng du lịch và thương mại giữa các vùng này, những người mang HBsAg(+) ở miền nam châu Phi có nguy cơ trở thành nhiễm HDV. Tại Mỹ, gần đây việc đưa vào một chính sách chủng ngừa trẻ em toàn quốc phòng ngừa HBV có thể thành công trong việc giảm tỷ lệ HDV về sau.

Tóm lại, dịch tễ học nhiễm HDV thay đổi khó dự đoán được về tỷ lệ mắc và kiểu lây nhiễm từ vùng này đến vùng khác. Tần suất mắc VG delta có thể giảm do việc tiêm chủng phòng ngừa HBV và việc sử dụng các kĩ thuật vô trùng hiện đại. Tuy nhiên, sự di cư ồ ạt có thể tiếp tục đưa HDV vào gây nhiễm cho các cộng đồng dân cư trước đây chưa phơi nhiễm.

2.5. DỊCH TỄ HỌC PHÂN TỬ

Dịch tễ học phân tử của HDV đã trở thành một lãnh vực thú vị vì có thể giúp giải thích các đặc trưng thay đổi của nhiễm HDV dựa vào di truyền học. Phân tích gần đây chuỗi HDV RNA bằng khuếch đại PCR một vùng bán bảo tồn của RNA virion đã cho thấy có 3 kiểu gen HDV chủ yếu (ngoài ra có thể còn một kiểu thứ tư) với phân bố địa lý và dân số học khác nhau. Gần đây, bằng chứng xác nhận có sự tương quan giữa các kiểu gen và mức độ trầm trọng của bệnh.

2.5.1. Kiểu gen HDV I

Kiểu gen HDV I có khắp thế giới, nhưng phổ biến ở Bắc Mỹ và châu Âu. Trong một vùng bán bảo tồn của bộ gen HDV, kiểu gen I có ít nhất 85% giống nhau. Một vài chùm chuỗi mã đã cho thấy có khả năng hiện hữu 2 nhóm phụ (IA và IB) của

kiểu gen này. Điều thú vị là sự phân bố của nhóm phụ về mặt địa lý khá rõ ràng: 20 mẫu phân lập được tìm thấy ở Mỹ thuộc nhóm IB, và 6 mẫu phân lập được công bố ở Đông Á thuộc nhóm IA. Các kiểu hỗn hợp gặp trong các vùng có dịch lưu hành trước đây, như Ý và Hy Lạp, nơi mà cả hai nhóm phụ đều có mặt trong cộng đồng. Các số liệu cho thấy kiểu gen HDV I được đưa vào vùng Địa Trung Hải sớm và phổ biến hơn vào cộng đồng dân cư Mỹ và Đông Á. Các số liệu cũng cho thấy một phối hợp của kiểu gen IB với nhóm tiêm chích ma túy ở Ý.

2.5.2. Kiểu gen HDV II

Kiểu này chỉ thấy trong các mẫu phân lập ở Nhật Bản và Đài Loan. Tại Đài Loan, các mẫu phân lập HDV có phân tích tính đa hình về chiều dài của đoạn RNA, một kiểu gen mới (kiểu gen IV hoặc một kiểu phụ của kiểu gen II) đã được xác định.

2.5.3. Kiểu gen HDV III

Kiểu gen III chỉ có vùng phía bắc Nam Mỹ. Sự phối hợp di truyền này liên quan với các thể nặng của VG HDV cấp và kịch phát. Thú vị là kiểu HDV phân lập trong các vụ dịch là kiểu gen F của HBV phổ biến ở vùng này. Ý nghĩa của sự phối hợp hiện chưa rõ. Thành phần địa lý của phân bố kiểu gen HDV I, II và III nổi lên các vấn đề về khả năng phải chăng các kiểu gen hoặc các kiểu phụ mới có thể hiện diện trong các vùng nhiễm HDV chưa được phát hiện trong sự phối hợp với virut hổ trợ là HBV. Trong vùng mã hoá kháng nguyên, đa số sự phân ly chuỗi mã đặc hiệu kiểu gen được tìm thấy ở đầu tận C của HDAg-p27. Đầu tận C của HDAg thể lớn liên quan trong sự hình thành virion và ức chế sao chép. Các biến dị quan trọng giữa các cấu trúc của các điểm hiệu chỉnh RNA của các kiểu gen khác nhau cho thấy các tác động trên tính hiệu quả hoặc các cơ chế hiệu chỉnh. Cũng thế, các quan sát này cho thấy khả năng của các biến dị tinh tế trong chiến lược sao chép virut nhằm phù hợp với các thích nghi khác nhau của HDV đối với các chủng HBV địa phương chiếm ưu thế ở các cộng đồng dân cư khác nhau.

3. BỆNH SINH

3.1. BỆNH SINH QUA SINH HỌC PHÂN TỬ

Sinh học phân tử HDV ngày nay đã cung cấp các bằng chứng về bệnh sinh virut và biểu hiện lâm sàng của nhiễm HDV. Từ sự hiểu biết này, một dự báo là HDV chỉ lan truyền và tái nhiễm sau khi sao chép HDV RNA (mã hóa đối với HDAg nhỏ) đã trải qua hiệu chỉnh (edit) RNA để sinh ra HDAg lớn. Một khi HDAg lớn được sản xuất, sự sao chép HDV RNA sau đó bị ức chế. Tuy nhiên, khi hạt virut được phóng thích, lượng dự trữ tích lũy của HDAg lớn trong tế bào có thể giảm nhanh hơn HDAg nhỏ, vì thế cho phép sao chép HDV RNA tiến hành lần nữa. Tuy động học của sao chép và phóng thích virut trong gan nhiễm virut chưa được biết chính xác, người ta

đã dự báo một cân bằng động học giữa sự ức chế sao chép RNA và phóng thích hạt virut. Do đó, tỷ suất giữa 2 thể HDAg vào lúc cân bằng có thể là then chốt trong việc xác định mức độ trầm trọng của các tổn thương và tiến trình tự nhiên của bệnh. Tuy nhiên, sự kết hợp giữa tỷ suất các HDAg này và tình trạng lâm sàng của VG delta đến nay vẫn chưa có bằng chứng rõ ràng.

Sinh bệnh học HDV có thể được xác định qua vài vùng gen của HDV RNA, nhưng dù tính không đồng nhất chuỗi mã ở các thể phân lập HDV khác nhau, không có tương quan rõ ràng giữa các biến đổi gen đặc hiệu và bệnh sinh của virut. Tuy nhiên, các thể phân lập liên quan với độc tính virut cao và thấp lần lượt đã được mô tả ở Nam Mỹ và đảo Archangelou của Hy Lạp và được cho là liên quan đến sự khác biệt bộ gen. Một cơ chế của bệnh sinh HDV là sao chép HDV RNA có thể gây rối loạn chức năng tế bào. Một quãng chuỗi mã HDV RNA đã được ghi nhận sinh ra tính đồng nhất với 7S RNA tế bào, được bao gồm trong dịch mã và chuyên chở protein: tuy nhiên, không có bằng chứng cho thấy sự dịch mã của protein tế bào chịu ảnh hưởng của nhiễm HDV. Hơn nữa, sao chép HDV RNA cần đến bộ máy phiên mã tế bào và qua đó phiên mã của gen tế bào có thể bị ức chế. Khả năng này đã được minh chứng trong việc ức chế sao chép HDV và biểu hiện gen qua đồng nhiễm với HDV. HDAg, đặc biệt là HDAg nhỏ thay nhau gây độc tế bào khi nó biểu hiện trong tế bào với nồng độ cao. Tuy nhiên, cơ chế bệnh sinh này không thể thực hiện trong nhiễm virut tự nhiên, căn cứ trên các quan sát chuột chuyển gen biểu hiện HDAg, các dòng tế bào biểu hiện HDAg và nhiễm HDV của môi trường nuôi cấy tế bào gan nguyên thủy, những nơi này không thấy có độc tính tế bào. Tái nhiễm HDV ở BN có gan ghép thường không có triệu chứng cho đến khi HBV tái kích hoạt, cho thấy tự thân HDV không thể sinh bệnh và cần HBV để biểu hiện bệnh. Một khả năng khác là bệnh sinh của HDV do bệnh miễn dịch qua lympho T gây độc tế bào. Khả năng này và sự hiểu biết qua tiêm phòng thực nghiệm ở sóc đen với HDAg gây nhiễm HDV kịch phát còn cần được nghiên cứu thêm.

Xem xét vai trò trung tâm của hiệu chỉnh RNA và của các tính chất khác biệt của 2 thể HDAg trong chu trình tăng trưởng của virut, các nghiên cứu đã được thực hiện để đánh giá vai trò của hiệu quả hiệu chỉnh RNA trong hậu quả nhiễm virut cấp và trên mức độ trầm trọng của nhiễm virut mạn. Thực nghiệm trên sóc đen nhiễm truyền và theo dõi tuần tự thấy rằng hiệu quả hiệu chỉnh liên quan đến các yếu tố vật chủ (cũng như các yếu tố virut) và có thể xác định diễn tiến của nhiễm virut. Nhiều yếu tố virut và tế bào rõ ràng có thể dự phần vào tính sinh bệnh do HDV. Làm sáng tỏ các yếu tố này là cần thiết cho những hiểu biết sâu hơn về sinh học phân tử của virut.

Kiểu bệnh HDV kết hợp với nhiễm HDV mạn thay đổi theo bệnh cảnh dịch tễ khác nhau. Các thể HDV tương đối lành tính của bệnh gan và người mang không

triệu chứng đã được mô tả trong những vùng mà HDV là dịch lưu hành, như ở Geek Island of Rhodes, các hòn đảo America Samoa, Okinawa và miền nam nước Ý. Trong các vùng mà HDV không là dịch lưu hành (Bắc Âu và Bắc Mỹ), hậu quả của VG D nặng nề hơn; đa số các BN là những người tiêm chích ma túy. Ở miền nam châu Mỹ, nơi nhiễm HDV là dịch lưu hành (Venezuela, Columbia, Peru), bệnh HDV thường nặng hơn với các quá trình bán kịch phát và kịch phát được mô tả trong một số cộng đồng. Để giải thích các kiểu khác biệt nhiễm HDV này, nhiều yếu tố đã được đưa ra, như phát hiện các đa dạng di truyền theo vùng địa lý và các tương tác của virut.

3.2. BỆNH SINH QUA PHÂN TÍCH CÁC KIỂU GEN

Phân tích kiểu gen HDV để giải thích mức độ trầm trọng khác nhau của bệnh gan kết hợp với nhiễm HDV chỉ được thực hiện gần đây. Để chứng minh vai trò trực tiếp của HDV và biến dị di truyền của chúng trong việc gây ra tổn thương gan, cần chứng minh mối liên quan chặt chẽ giữa các kiểu gen HDV và bệnh.

Kiểu gen HDV I, phổ biến ở Ý và Bắc Mỹ, hình như không đồng nhất. Phân tích chủng loại của 46 mẫu HDV từ các người Ý mang mạn đã cho thấy thuộc vào 2 nhóm phụ chính (IA và IB), nhưng kết luận không rõ ràng về nguồn gốc mức độ trầm trọng của bệnh HDV. Kiểu phân tích chủng loại giúp hy vọng tìm kiếm sự lan truyền HDV giữa những người tiêm chích ma túy và trong các gia đình. Phương pháp phân tích tương tự được dùng để chứng minh sự lan truyền nhiễm HDV giữa các cặp vợ chồng mang HDV.

Kiểu gen II HDV, chỉ được phân lập ở Nhật, gây một thể nhiễm HDV nhẹ, ở quần đảo Irabu, Okinawa, Nhật Bản. Trong vùng này, nhiễm HBV và HDV là dịch lưu hành. Một nghiên cứu lớn gần đây trong cộng đồng cho thấy trong 2.207 người được xét nghiệm có 210 (9,5%) HBsAg(+). Kháng thể anti-HDV được phát hiện trong 47/210 (22,4%) và 21/43 anti-HDV(+) có HDV RNA(+) qua xét nghiệm PCR. Điều thú vị là các đối tượng có kháng thể anti-HDV này được chuyển đến bệnh viện để đánh giá lâm sàng và hiếm khi có thay đổi sinh hóa hoặc tổn thương mô học của bệnh gan. Cần phân tích các biến dị di truyền để xác định mối liên quan giữa kiểu gen và mức độ trầm trọng của bệnh.

Kiểu gen III. Trong VG D, chỉ có kiểu gen III hình như tương quan với các trường hợp VG delta cấp tính nặng hoặc kịch phát như các trường hợp xảy ra trong các cộng đồng ở các vùng phía bắc Nam Mỹ. Một phân tích virut học gần đây của các chủng HDV và HBV thực hiện ở một trong các vụ dịch xảy ra trong năm 1992-93 trong những nhóm quân đóng tại 4 tiền đồn rừng nhiệt đới ở Peru, đã chứng minh thể phân lập HDV độc nhất thuộc kiểu gen III, và thể phân lập HBV thuộc kiểu gen F. Các phát hiện này giúp giải thích sự góp phần trực tiếp của HDV vào mức độ

trầm trọng đặc biệt của bệnh gan và các biến đổi đặc hiệu về bệnh học gan (ứ mật vi nang không có viêm-hoại tử) qua một cơ chế tổn thương gan.

3.3. NHIỄM HDB LIÊN QUAN VỚI NHIỄM CÁC LOẠI VIRUT KHÁC

Sự góp phần của nhiễm HBV vào bệnh HDV vẫn còn là vấn đề hấp dẫn nhất. HDV ức chế sao chép HBV được chứng minh bằng sự sao chép HBV DNA tốc độ thấp trong các người mang HDV mạn. Tuy nhiên, với xét nghiệm PCR đối với HBV DNA, HBV được chứng minh tồn tại và phát triển nhanh trong các BN VG HDV hoạt động khi HDV tiến gần đến sự sao chép đầy đủ. Tái nhiễm HDV trong ghép gan đã được dùng xét nghiệm PCR nhạy để đo lường HDV và HBV, để làm rõ sự giao thoa trong gan và huyết thanh giữa hai tác nhân này, cũng như các biểu hiện huyết thanh học được thực hiện liên tiếp trước khi VG D cấp tính xảy ra trong mẫu ghép.

Nhiễm nhiều virut (HBV, HDV, HCV và HIV) thường gặp ở người nghiện ma túy. Ngược lại, truyền nhiễm qua đường tình dục của HDV và HCV tương đối yếu, vì đồng nhiễm HBV và hai virut HDV, HCV chỉ được thấy chủ yếu ở các BN tiêm chích ma túy.

Trong nhiễm nhiều loại virut, sự cạnh tranh là hiện tượng thường gặp, đồng nhiễm HDV/HBV là một điển hình đầu tiên của sự ức chế virut. Trong trường hợp này, HBsAg không được phát hiện trong huyết thanh và mức độ HBV DNA giảm xuống. Trong các BN đồng nhiễm HBV/HCV hoặc HDV/HCV, có sự ức chế rõ ràng tình trạng virut huyết HCV xảy ra. Ức chế sao chép HCV có thể được giải thích bằng sự phát bệnh nhẹ của VG HCV sau ghép gan. Những người tiêm chích ma túy cũng có nguy cơ cao nhiễm HIV. Trong một nghiên cứu 88 người chích ma túy nhiễm HBV ở New York, nhiễm HDV và HIV lần lượt là 67% và 58%. Tuy nhiên, HDV kết hợp với bệnh gan nặng hơn, nhưng không làm nặng thêm khi nhiễm HIV đồng thời. Ngược lại, trong một báo cáo gần đây của Caredda và cs về một nghiên cứu thực hiện ở Milan, nơi một vụ dịch HDV xảy ra trong những năm 1980 ở những người tiêm ma túy trong vùng đô thị này. Đa số những người tiêm chích ma túy nhiễm HDV có nhiễm HIV. So sánh giữa các BN HIV/HDV(+) và các BN chỉ nhiễm HIV cho thấy rằng BN đồng nhiễm HIV/HDV có mức độ virut huyết cao và có nguy cơ cao trong việc phát triển VG mạn nặng hơn là những người không nhiễm HIV.

4. CÁC ĐẶC TRƯNG LÂM SÀNG VÀ HẬU QUẢ

4.1. CÁC THỂ LÂM SÀNG

Hai thể VG delta cấp tùy thuộc vào BN trước đó có nhiễm HBV hay chưa. Thuật ngữ đồng nhiễm được dùng khi HDV và HBV mắc phải cùng một lúc và bội nhiễm được dùng trong trường hợp nhiễm HDV ở BN VG B mạn (Bảng 22-5). Hai thể bệnh khá tương phản. Các đặc trưng lâm sàng và sinh hóa của VG delta cấp không thể

phân biệt với các thể VG khác, và chẩn đoán thường phải dựa vào các xét nghiệm huyết thanh thích hợp.

4.1.1. Nhiễm HDV cấp

VG delta cấp có khynh hướng nặng hơn VG B đơn thuần và dễ có khả năng gây ra VG kịch phát. Trong một vụ dịch VG liên quan đến người chích ma túy trong một cộng đồng ở Mỹ, 91% BN VG kịch phát có anti-HDV trong huyết thanh, trong khi chỉ có 45% BN các trường hợp không kịch phát có anti-HDV. Trong phần lớn các trường hợp BN đồng nhiễm delta, bệnh tự giới hạn (bảng 22-6).

Bảng 22-5. Hai dạng VG delta cấp (Theo Hoofnagle).

Đặc trưng	Đồng nhiễm	Bội nhiễm
Nhiễm HBV	Cấp tính	Mạn
Nhiễm HDV	Cấp tính	Từ cấp đến mạn
Tỷ lệ tử vong	1-2%	1-5%
Tỷ lệ mạn	2-7%	70-95%
HBsAg trong huyết thanh	+, tạm thời	+, thường tồn tại
IgM anti-HBc	+	-
Anti-HDV	Tạm thời, nồng độ thấp	+, tồn tại, tăng lên
IgM anti-HDV	+, tạm thời	+, thường tồn tại
HDV RNA/ huyết thanh	+, tồn tại	+, tồn tại

ALT huyết thanh trở về bình thường và các dấu ấn của virut huyết (HBsAg, HBV DNA, HDV RNA, IgM anti-HDV) biến mất khỏi huyết thanh từ 2-10 tuần, tuy IgG anti-HDV có thể tồn tại nhiều năm sau. Một đặc trưng thường gặp của đồng nhiễm là kiểu hai pha, với hai đỉnh ALT riêng biệt phản ánh tổn thương gây ra lần lượt bởi mỗi virut. Đỉnh thứ hai thường sau khi bệnh khởi đầu 2 đến 4 tuần. Tái phát liên quan đến đỉnh thứ hai của ALT có thể có mức độ trầm trọng cao và đôi khi có tổn thương gan nặng đủ gây ra suy gan bán cấp hoặc kịch phát. Caredda và cs thấy một bệnh hai pha xảy ra ở 29% các BN đồng nhiễm delta, so với 13% chỉ nhiễm HBV đơn thuần. Các đợt tái phát nặng trong quá trình kịch phát được ghi nhận ở 20% BN bởi Govindarajan và cs là những người đã ghi nhận trong phần lớn các BN, sự gia tăng đáng kể ALT và thời gian prothrombin xảy ra đồng thời với đỉnh thứ hai.

Bảng 22-6. Tính trầm trọng của VG delta cấp tính; Tỷ lệ của VG cấp HBsAg(+) có anti-HDV.

Tác giả	Số xét nghiệm	Anti-HDV (%)	
		Lành tính, tự giới hạn	Kịch phát
Smedile và cs	643	19	39
Govindarajan và cs	189	4	34
Lettau và cs	107	45	91

Tình trạng mạn sau đồng nhiễm delta xảy ra khoảng 10% BN. Tuy nhiên, những BN này có thể có bệnh gan diễn tiến nhanh, với vài người phát triển xơ gan trong một thời gian tương đối ngắn. Trái với đồng nhiễm delta, VG delta cấp sau một bội nhiễm thường trở nên mạn, có thể vì nhiễm HBV mạn sẵn có trong BN này. Với bội nhiễm delta, anti-HDV (cả IgM và toàn phần) có khuynh hướng tăng nhanh và đạt mức độ cao hơn BN đồng nhiễm delta. Trong một nghiên cứu mô tả hậu quả lâm sàng của BN VG delta cấp ở Tây Ban Nha, Buti và cs ghi nhận rằng 1/42 BN đồng nhiễm delta phát triển VG kịch phát so với 3/17 bội nhiễm VG delta. Về phần 38 BN bội nhiễm delta ở Đài Loan, 24 được ghi nhận có VG kéo dài, 5 (20%) phát triển xơ gan, và hai chết sau 4 năm theo dõi. Bội nhiễm delta cấp xảy ra ở BN có xơ gan trước đây liên quan đến nhiễm HBV có thể thúc đẩy nhanh đến tình trạng mất bù gan và dẫn đến tử vong.

Suốt quá trình bội nhiễm delta, sao chép HBV có khuynh hướng bị ức chế, có lẽ liên quan đến một tương tác cạnh tranh giữa hai virut. Tương tác này còn ít được hiểu biết. Sự ức chế có khuynh hướng tạm thời, nhưng kháng nguyên e của VG B (HBeAg) biến mất lâu dài được ghi nhận ở một vài trường hợp. Điều thú vị là bội nhiễm delta cấp đôi khi gây thải trừ lâu dài HBsAg khỏi huyết thanh và bệnh gan hồi phục hoàn toàn.

4.1.2. Nhiễm HDV mạn

VG delta mạn thường phát triển sau bội nhiễm delta cấp. Các BN có thể có các đặc trưng không đặc hiệu của bệnh gan mạn như mệt mỏi, uể oải toàn thân, tuy phần nhiều không có triệu chứng cho đến khi phát triển các triệu chứng của bệnh gan tiến triển như báng bụng, vàng da, hoặc xuất huyết do vỡ giãn tĩnh mạch thực quản. Ở các BN không triệu chứng, chẩn đoán được thực hiện tình cờ trong lúc khám thường qui cho bảo hiểm, hay cho mục đích khác. BN có HBsAg huyết thanh thường không bị nghi ngờ có VG delta trừ khi chẩn đoán này được nghĩ đến một cách chủ động và hệ thống (thường qua xét nghiệm anti-HDV trong huyết thanh).

BN VG delta mạn có bệnh gan nặng hoặc tiến triển được ghi nhận trên sinh thiết gan. Trong một nghiên cứu ở Ý, trên các vật liệu sinh thiết gan từ 203 BN liên tiếp có bệnh gan mạn với HBsAg(+), những người có các dấu ấn nhiễm HDV có bệnh gan nặng hơn những người không có (30% đối với 12%). Tuổi của BN có xơ gan HDAg(+) thường trẻ hơn những người xơ gan HDAg(-) một cách có ý nghĩa, cho thấy VG delta có một diễn tiến tương đối nhanh hơn.

Trong một nghiên cứu của Arico và cs, anti-HDV được phát hiện trong 112/2.487 (5%) người khỏe mạnh được phát hiện tình cờ có HBsAg trong huyết thanh. Những BN có anti-HDV(+) này có chức năng gan bị tổn thương nhiều hơn (38% so với 9%) và sự thay đổi mô học trên sinh thiết gan có ý nghĩa (61% so với 19%) hơn những

người khác trong nhóm. Sự hiện diện của anti-HDV trong huyết thanh ở những người mang HBsAg bề ngoài khỏe mạnh có nguy cơ bệnh gan nền 4 lần cao hơn những người chỉ mang HBsAg bình thường. Do đó, những người mang HBsAg có anti-HDV(+) cần phải chỉ định làm sinh thiết gan để chẩn đoán.

Hadler và cs. trong một nghiên cứu thuần tập 216 người Yupca Indian mang HBV ở Venezuela trong 5 năm từ 1983-1988. Các tác giả thấy BN nhiễm HDV mạn có nguy cơ cao phát triển bệnh gan mạn; 56% những người nhiễm HDV có bệnh gan mạn từ trung bình đến nặng vào cuối kỳ nghiên cứu so với 0% ở những người mang HBV không nhiễm HDV và tử vong cao hơn (6,9% so với 1,4%) khi so với người mang HBV không có HDV.

Rizzetto và cs. trong một nghiên cứu thuần tập VG delta mạn trong nhiều năm, thấy đa số BN có VG mạn hoạt động hoặc xơ gan trên sinh thiết gan lần đầu. Khi theo dõi, một thành phần BN đáng kể phát triển xơ gan dưới 5 năm. Gần một phần ba BN đã hình thành xơ gan chết trong khoảng thời gian theo dõi. Các tác giả cũng ghi nhận việc điều trị bằng thuốc ức chế miễn dịch hình như không có tác động ích lợi nào trên BN.

VG delta mạn ở trẻ em có vẻ cùng một tiến trình giống như người lớn. Farci và cs. giám sát 34 trẻ VG delta mạn từ 2 đến 7 năm. Trong suốt thời gian theo dõi, VG xấu đi trong 38% các trường hợp và cải thiện chỉ có 9%. Ngược lại, trong một nghiên cứu thuần tập gồm 236 BN VG B mạn không có HDV chỉ có 7% bệnh gan xấu đi và 55% hồi phục. Như Rizzetto và cs, các tác giả này cũng ghi nhận bệnh không đáp ứng với điều trị ức chế miễn dịch. Bortolotti và cs báo cáo một diễn tiến lâu dài của VG delta mạn trong một nghiên cứu thuần tập 23 trẻ em Ý, tuổi từ 3 đến 15, nhiễm VG D mạn, được theo dõi từ 5 đến 12 năm để đánh giá hậu quả lâu dài của bệnh: 83% trẻ có VG mạn hoạt động lúc khám lần đầu, có xơ gan trong 26%; các đặc trưng lâm sàng và sinh hóa của bệnh tương đối ổn định trong phần lớn các BN trong quá trình theo dõi, gồm cả 12 trẻ được điều trị với interferon; chỉ có 14% BN có bằng chứng mô học tiến triển trong lúc theo dõi.

Nhiễm HBV mạn là một yếu tố nguy cơ quan trọng trong sự phát triển ung thư tế bào gan (UTTBG). Sự kết hợp tương tự đã được nghĩ đến với nhiễm HDV mạn, nhưng chưa được chứng minh rõ. Trong một nghiên cứu gần đây ở Ý, nhiều thành phần tương tự của BN xơ gan có hay không UTTBG được tìm thấy có các dấu ấn huyết thanh của nhiễm HDV. Trong một số vùng trên thế giới nơi UTTBG do HBV thường xảy ra (như miền Nam Phi Châu và Đài Loan), rất ít gặp các trường hợp UTTBG liên quan đến VG delta. Điều này gợi ý rằng HDV có thể tác động như một yếu tố kích thích gián tiếp bằng cách làm bệnh gan nặng hơn và xơ gan phát triển thêm. Các thay đổi hoại tử viêm tồn tại liên quan đến sự tái sinh gan có thể làm tăng cường phát triển UTTBG trong một số BN. Oliveri và cs đã thông báo BN bội nhiễm

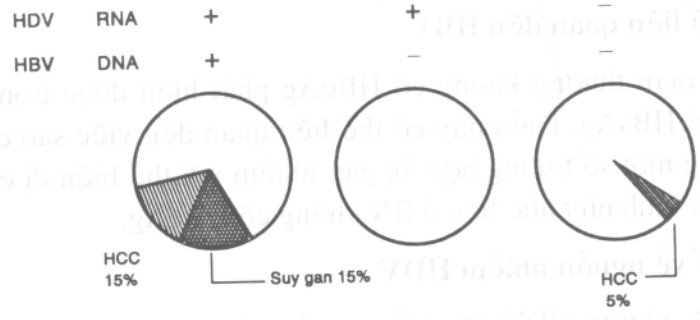
HBsAg và HDV tiến triển đến xơ gan hoạt động và UTTBG tại lứa tuổi sớm hơn ở BN chỉ có HBsAg. Tuổi trung bình phát triển UTTBG là 56 tuổi đối với BN VG B hoặc C mạn so với 48 tuổi ở BN nhiễm cả HBV và HDV, có hoặc không HCV. Trong sóc đen, sự hiện diện nhiễm HDV hình như không ngăn ngừa hoặc gia tăng phát triển UTTBG. HDAg thường không được phát hiện trong mô UTTBG ở BN VG delta mạn và UTTBG, trong khi HDAg có thể gặp trong gan không có khối u.

4.2. CÁC YẾU TỐ ẢNH HƯỞNG ĐẾN HẬU QUẢ CỦA VG DELTA

Tuy VG delta mạn có khuynh hướng diễn tiến nặng hơn nhiễm HBV đơn thuần, có rất nhiều thay đổi trong hậu quả của nhiễm HDV ở nhiều vùng khác nhau trên thế giới. Nhiễm HDV có khuynh hướng diễn tiến nặng hơn ở một vài vùng trên thế giới, nhất là ở một vài vùng Nam Mỹ. Sự không đồng nhất về lâm sàng hiện nay chưa được hiểu rõ. Nhiều yếu tố đã được xem là quan trọng trong xác định hậu quả của nhiễm HDV:

4.2.1. Sự hiện diện và mức độ sao chép HBV

Ở các BN có quá trình sao chép HBV (HBV DNA trong huyết thanh được phát hiện được bằng phương pháp lai thấm điểm), khuynh hướng bệnh gan mạn trầm trọng và diễn biến đến bệnh gan giai đoạn cuối nhanh hơn. Lý do chưa rõ, nhưng có thể liên quan đến cái gọi là "chức năng hỗ trợ" của HBV, có thể cho phép gia tăng mức độ sao chép HDV (Hình 22-7).



***Hình 22-7**. Tác dụng của sao chép HBV trên hậu quả của nhiễm VG delta mạn.*

Các BN có bằng chứng của sao chép virut VG B có vẻ có khả năng phát triển xơ gan, suy gan, ung thư tế bào gan (Theo Smedile và cs).

4.2.2. Các yếu tố liên quan đến kiểu gen HDV

Ba kiểu gen của HDV đã được mô tả (kiểu I-III). Wu và cs. thấy kiểu gen HDV II thường ít liên quan với VG kịch phát trong giai đoạn cấp và trong bệnh mạn thì nhẹ hơn khi so với kiểu I. Kiểu gen III cho đến nay chỉ gặp ở miền bắc Nam Mỹ nơi

HDV là dịch lưu hành và nhiễm virut cấp liên quan với các vụ dịch VG có bệnh suất và tử suất cao. Các dữ liệu này gợi ý rằng các yếu tố liên quan đến kiểu gen virut có thể quyết định bệnh sinh của virut.

4.2.3. Yếu tố sao chép của HDV

Cơ chế nhiễm HDV gây tổn thương gan còn chưa rõ ràng. Nhiễm HDV tự thân hình như không gây bệnh tế bào trực tiếp ở loài vật thí nghiệm và trong tình trạng sau ghép. Tuy nhiên, BN nhiễm HDV mạn có mức sao chép HDV bên trong tế bào rất cao, và có lẽ con đường biến dưỡng tế bào bình thường qua sao chép virut trong tế bào gan có thể gây tổn thương tế bào. Một giả thuyết thú vị trên cơ sở quan sát mạch RNA đối bộ gen của bộ gen HDV có một mức đồng dạng nucleotit cao với RNA 7S ribosom, cho thấy rằng việc bắt cặp HDV RNA đối bộ gen vào 7S RNA để hình thành thể dây quấn đôi có thể xảy ra với sự phân cắt ribozym của 7S RNA và sự xáo trộn cấu trúc và chức năng của lưới nội chất.

4.2.4. Yếu tố miễn dịch

Vai trò của hệ thống miễn dịch trong bệnh sinh của VG delta chưa được khẳng định. Các khoảng cửa bị xâm nhiễm các tế bào viêm mạn ở BN VG delta mạn cho thấy hệ thống miễn dịch có một vai trò nào đó, tuy nhiên điều trị coticoit hình như không có hiệu quả trên tiến triển của bệnh. Nhiều tự kháng thể có trong huyết thanh của BN VG delta mạn. Vai trò của các tự kháng thể gây tổn thương gan hiện chưa được biết rõ.

4.2.5. Các yếu tố liên quan đến HBV

BN VG delta mạn thường không có HBeAg phát hiện được trong huyết thanh, tuy hầu hết đều có HBsAg. Điều này có thể liên quan đến việc sao chép HBV mức độ thấp hoặc, trong một số trường hợp, bị gây nhiễm với thể biến dị e-âm của HBV. Diễn tiến VG delta hình như nhẹ hơn ở BN không có HBeAg.

4.2.6. Các yếu tố về nguồn nhiễm HDV

Phải chăng BN nhiễm HDV từ nhiều nguồn khác nhau sẽ cho nhiều hậu quả khác nhau. Điều này khó xác định. Vì thế, ở Ý và Hy Lạp, đa số BN không có bệnh sử chích ma túy hoặc truyền máu và VG của họ được nghĩ là do lây nhiễm trong gia đình. Tuy nhiều BN ở những vùng này có bệnh nặng, có lẽ họ có nhiều khả năng là người lành mang HDV hơn là những người nhiễm HDV do chích ma túy và có thể vì họ lại phơi nhiễm thêm với một tác nhân lây bệnh theo đường máu khác như HIV và HCV. Vai trò của nhiễm HCV ở các BN VG D mạn cũng chưa được khảo sát chặt chẽ. Tuy nhiên, BN nhiễm HIV và VG delta không có vẻ có bệnh gan trầm trọng, các BN này có mức độ sao chép HBV cao và mức độ kháng thể delta thấp hơn những BN không nhiễm HIV. Monno và cs. trong nghiên cứu về BN VG delta có hoặc không nhiễm HIV, thấy không có sự khác biệt có ý nghĩa về mô học gan ở 2

nhóm. Họ cũng ghi nhận sự hiện diện của HDAg trong gan tương tự như ở các BN nhiễm HIV bất kể đến số CD4 của họ.

4.3. CÁC THỂ BẤT THƯỜNG CỦA VG DELTA

4.3.1. VG Labrea, sốt đen và VG Santa Marta

Một thể bất thường của vàng da với sự khởi bệnh đột ngột với sốt, nôn mửa và suy gan kịch phát đã được mô tả ở miền bắc Nam Mỹ, đặc biệt là lưu vực Amazon. Thể VG này được qui cho là VG Labrea, sốt đen và VG Santa Marta. Một phân tích hồi cứu các mẫu sinh thiết gan thu thập từ những BN cho thấy hầu hết có bằng chứng VG delta. Những trường hợp này có nhiều đặc trưng mô học bao gồm thoái hóa mỡ vi nang và hoại tử bạch cầu ái toan. Các đặc trưng nặng bất thường của thể VG delta này chưa được hiểu rõ.

4.3.2. Thể kịch phát tạm thời tự nhiên

Sự kịch phát tạm thời tự nhiên của VG delta đã được ghi nhận ở một số BN. Tuy có thể giải thích trong một vài trường hợp qua sự kịch phát của nhiễm HBV, một vài BN hình như có tình trạng kịch phát tự nhiên về mức độ sao chép HDV, kèm theo gia tăng ALT. Một kiểu tương tự có thể được ghi nhận, tuy thường gặp hơn, ở BN VG C mạn. Sự bất thường đó chưa được biết nhưng có thể liên quan với các đợt hoại tử trầm trọng gây ra trong tổn thương gan tiến triển.

4.3.3. Thể lành tính

Một thể lành tính bất thường nhiễm HDV được ghi nhận trong một cộng đồng trên đảo Rhodes, Hy Lạp trong 71 BN VG delta mạn có xét nghiệm ALT hoặc sinh thiết gan, 59% không triệu chứng với ALT bình thường. Trong BN có sinh thiết gan, mô bệnh học chỉ phát hiện VG mạn tồn tại. Lý do của biến dị này và phân bố địa lí của nó chưa rõ.

4.3.4. Các trường hợp VG delta mạn cơ hội

Các trường hợp VG delta mạn cơ hội xảy ra với các dấu ấn huyết thanh bất thường. Một số người bệnh ưa chảy máu nhiễm HIV và không có anti-HDV trong huyết thanh được ghi nhận có HDV RNA trong huyết thanh. Các BN cơ hội có thể có HDAg trong gan mà không có anti-HDV trong huyết thanh. Trong sóc đen, một diễn biến bất thường được ghi nhận ở con vật mang HBV và được nhiễm truyền với HDV nhưng không phát triển anti-HDV. Tuy nhiên, HDV RNA sau đó được tìm thấy trong gan bằng phương pháp phân tích thấm tách Northern.

5. CHẨN ĐOÁN

Chẩn đoán nhiễm HDV là quan trọng vì nhiều lý do. Nếu biết nhiễm HDV ở một BN nhiễm HBV giúp tiên lượng chính xác hơn vì các BN nhiễm HDV cấp có

nhiều khả năng phát triển VG nặng hoặc kịch phát và các BN nhiễm HDV mạn có nhiều khả năng tiến đến xơ gan và suy gan. Một lý do khác để xác định là nhiễm HDV làm đáp ứng của BN đối với điều trị kháng virut khác biệt với các BN VG B mạn đơn thuần. VG delta mạn có thể đáp ứng với interferon-α (IFN-α) với ALT và HDV RNA thuyên giảm tạm thời. Ngược lại, độ 30% đến 40% nhiễm HBV đơn thuần có sự bùng phát tạm thời VG trong quá trình điều trị IFN-α, sau đó mất HDV DNA và kháng nguyên e VG B (HBeAg) khỏi huyết thanh. Cuối cùng, ở BN suy gan giai đoạn cuối cần được đánh giá để ghép gan, có thể cần biết phải chăng họ đã nhiễm HDV, các BN như thế thường khá tốt sau ghép. Nhiễm HBV có vẻ tái phát ít hơn sau ghép gan ở BN đồng nhiễm với HDV hơn là ở BN chỉ nhiễm đơn thuần HBV (Bảng 22-7).

Bảng 22-7. Các xét nghiệm chẩn đoán nhiễm virut VG delta.

Dấu ấn	Phương pháp phát hiện	Bình luận
HDAg trong gan	Nhuộm miễn dịch	Chẩn đoán "tiêu chuẩn vàng"
HDAg huyết thanh	Thấm tách western, RIA	Chỉ dùng nghiên cứu. Có ích trong VG delta cấp.
HDV RNA huyết thanh	Thấm tách Northern	Dấu ấn nhạy cảm nhất
HDV RNA trong gan	Thấm tách Northern Lai in situ	Chỉ dùng nghiên cứu Chỉ dùng nghiên cứu
Anti-HDV toàn phần	EIA hoặc RIA	Có tính cách chẩn đoán, nếu được phát hiện
Anti-HDV IgM	EIA hoặc RIA	Cấp tính > mạn

Trong chẩn đoán nhiễm HDV, cần phân biệt BN nhiễm cấp và mạn. Ở các BN nhiễm HDV cấp, cần phân biệt đồng nhiễm với bội nhiễm delta trong các BN nhiễm HBV, vì bệnh cảnh có thể thay đổi nhiều ở hai thể bệnh này. Một loạt các xét nghiệm huyết thanh và mô học được dùng trong chẩn đoán nhiễm HDV (Bảng 22-8). Thực hiện một chẩn đoán thường liên quan đến xét nghiệm nhiều dấu ấn để xác định kiểu và giai đoạn nhiễm delta.

Bảng 22-8. Tóm tắt các xét nghiệm chẩn đoán đối với nhiễm HDV.

Xét nghiệm	VG cấp tính		VG delta mạn
	Đồng nhiễm	Bội nhiễm	
HBsAg	Thường dương	Dương	Dương
HDAg	Tạm thời	Tạm thời/kéo dài	Có
Anti-HDV (toàn phần)	Tạm thời, nồng độ thấp	Nồng độ tăng lên	Nồng độ cao
Anti-HDV (IgM)	Tạm thời, nồng độ thấp	Nồng độ tăng lên	Có
HDV RNA	Tạm thời	Tạm thời/kéo dài	Có
IgM anti-HBc	Dương	Âm	Âm

5.1. BỆNH CẢNH LÂM SÀNG

Chẩn đoán nhiễm HDV trên bệnh cảnh lâm sàng đơn thuần có thể gặp nhiều khó khăn. Các BN có thể có bệnh cảnh điển hình của VG cấp (vàng da niêm, uể oải, biếng ăn) hoặc có thể tiềm tàng cho đến khi xảy ra xơ gan và bệnh gan giai đoạn cuối. Ở BN đồng nhiễm delta cấp, một kiểu 2 pha của bệnh đã được ghi nhận với gia tăng ALT huyết thanh lần hai. Các hình ảnh dịch tễ học của BN có thể dẫn đến sự nghi ngờ về VG delta như người chích ma túy hoặc BN sống ở vùng dịch lưu hành.

Tất cả BN có bằng chứng nhiễm HBV (HBsAg hoặc kháng thể IgM đối với HBcAg) phải được xét nghiệm tìm HDV. Ngay cả khi có xét nghiệm kháng thể âm, nếu vẫn còn nghi ngờ nhiễm HDV, cần phải xét nghiệm lần hai.

5.2. KHÁNG NGUYÊN VG DELTA

Tiêu chuẩn vàng của chẩn đoán nhiễm HDV là sự phát hiện HDAg trong gan bằng phương pháp nhuộm miễn dịch; các phương pháp chẩn đoán nhiễm HDV khác luôn được so sánh với HDAg của gan. Sự quan sát nhuộm nhân bằng miễn dịch huỳnh quang lúc đầu dẫn đến việc phát hiện tác nhân delta và phương pháp này còn là một trong các xét nghiệm nhạy, đặc hiệu, và có giá trị chắc chắn nhất đối với nhiễm HDV. HDAg được phát hiện bằng phương pháp nhuộm miễn dịch, dùng phương pháp miễn dịch huỳnh quang (cần mô gan đông lạnh) hoặc kĩ thuật miễn dịch peroxidase (có thể được làm bằng vật liệu đông lạnh hoặc cố định). Trong đa số các viện bào chế, nguồn kháng thể đối với HDAg được dùng cho nhuộm miễn dịch là huyết tương hoặc huyết thanh người. BN nhiễm HDV mạn có nồng độ cao anti-HDV trong huyết thanh, phản ứng một cách đặc hiệu với HDAg trong nhân của tế bào gan. Vì các BN này cũng có anti-HBc trong huyết thanh, có thể phát hiện HBcAg nhân và vì thế lầm lẫn với HDAg nhân. Huyết thanh phải được pha loãng đủ để phản ứng anti-HBc biến mất (thường ở độ pha loãng >1/200), nhưng phản ứng đối với HDAg còn (ở độ pha loãng >1/1000000).

Mẫu mô phản ứng với globulin miễn dịch bào chế từ huyết thanh có nồng độ anti-HDV cao. Kháng thể gắn kết có thể được đánh dấu với fluorescein (miễn dịch huỳnh quang trực tiếp), hoặc nó có thể được phát hiện bằng cách dùng gián tiếp (IgG kháng huyết thanh người) được đánh dấu với peroxidase. Với việc dùng các chất phản ứng này, HDAg được phát hiện bằng cách nhuộm nhân trong các tế bào gan. Số lượng nhân nhuộm có thể cho biết về mức độ sao chép HDV bên trong gan. Lượng HDAg hình như giảm theo thời gian và tăng lên theo mức độ trầm trọng của bệnh. Thế nên, ở BN nhiễm HDV mạn chỉ có các tế bào gan có thể nhuộm dương tính và toàn bộ phải được khám nghiệm cẩn thận trước khi kết luận là HDAg(-). Ngược lại. BN có VG delta cấp hoặc nhiễm HDV tái phát sau ghép gan thường có 50% tế bào gan được nhuộm, cho thấy mức độ sao chép HDV cao. Nhuộm HDAg

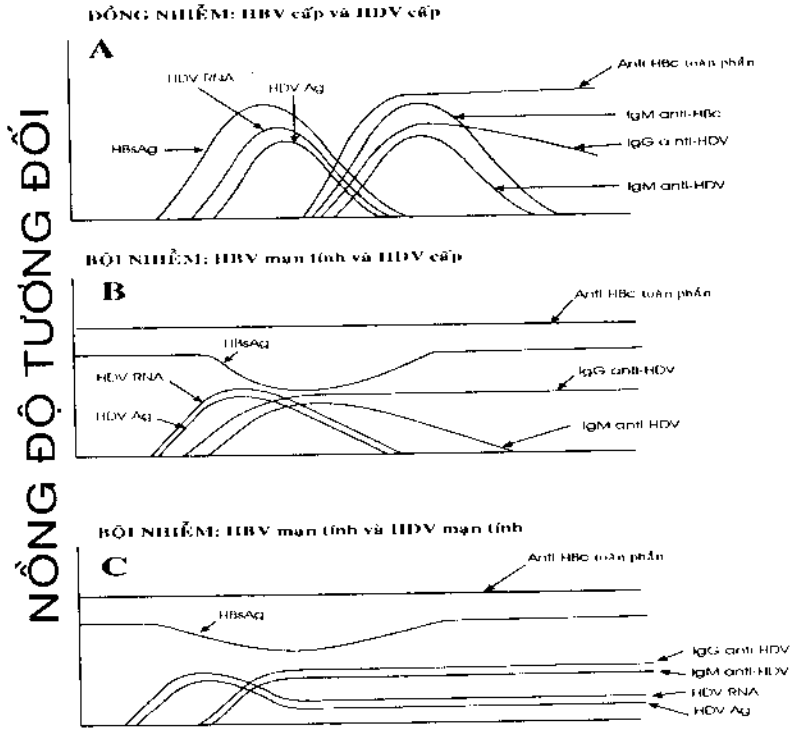
nguyên sinh chất có thể được phát hiện trong các tế bào gan ở vài trường hợp. Trong hệ thử nghiệm HDAg, có thể phát hiện ở các tế bào khác chuyển nhiễm với HDV. Tuy nhiên, HDAg không tìm thấy ở các tế bào ngoài nhu mô gan ở BN nhiễm virut.

Gần đây HDAg đã được tái tổ hợp, nên anti-HDV đã được phát triển bằng gây nhiễm súc vật với HDAg tái tổ hợp. Nhờ đó, huyết thanh súc vật cung cấp một nguồn ổn định anti-HDV cho phương pháp nhuộm miễn dịch và có thể tránh một số vấn đề liên quan đến việc dùng huyết thanh người để tiến trình phản ứng (như là các giới hạn trong cung cấp, thao tác với những vật liệu có khả năng nhiễm virut, liên quan đến sự hiện diện của các globulin miễn dịch dính với mô gan). Hiện nay, huyết thanh súc vật chứa nồng độ cao anti-HDV nhìn chung có thể dùng được và vì các kỹ thuật dùng để phát hiện HDAg trong gan thường được dùng ở trong các viện điều chế bệnh học giải phẫu, hầu hết các viện bào chế đều có khả năng nhuộm thường qui mẫu sinh thiết gan HDAg.

5.3. HDAg TRONG HUYẾT THANH

Ngoài sự hiện diện trong gan, HDAg cũng được phát hiện trong huyết thanh người nhiễm virut, tuy việc xác định HDAg huyết thanh còn nhiều khó khăn kỹ thuật. HDAg được phát hiện chắc chắn bằng phân tích thấm western ở huyết thanh BN nhiễm HDV cấp lẫn mạn. Vì xét nghiệm này, hạt HDV được vo viên bằng siêu li tâm qua sucrose và sau đó đưa vào điện di gel acrylamit. Protein trong gel được thấm tách vào màng nitrocellulose hoặc nylon và HDAg gắn kết vào các màng này có thể được phát hiện bằng cách dùng anti-HDV đánh dấu với đồng vị phóng xạ, peroxidase hoặc vài chất phản ứng thích hợp khác. Dùng phương pháp này, Buti và cs thấy HDAg trong huyết thanh của 71% BN nhiễm HDV mạn.

Dùng phân tích thấm western, hai thể HDAg được phát hiện trong huyết thanh, với kích cỡ 24 và 26 kDa. Sự sản xuất 2 protein này liên quan đến đột biến tự nhiên xảy ra trong gen mã hóa HDAg. Sự sản xuất với sự thay đổi thành phần của chúng là một yếu tố quan trọng trong điều hòa sao chép HDV. Nhưng phương pháp thấm tách western còn cồng kềnh, khó khăn kỹ thuật và cần dùng chất đồng vị phóng xạ. Vì thế, các phương tiện khác đã được nghĩ đến để phát hiện HDAg trong huyết thanh, như xét nghiệm miễn dịch pha rắn (xét nghiệm miễn dịch phóng xạ, RIA; hoặc xét nghiệm miễn dịch gắn men, EIA) và được phát triển rộng rãi. Kết quả của các xét nghiệm này khá lộn xộn. Một nghiên cứu ở Mỹ thấy chỉ có 26% BN VG delta cấp có HDAg phát hiện được dùng EIA bán trên thương trường, trong khi một nghiên cứu tương tự từ Ireland thấy HDAg có thể được phát hiện ở tất cả BN VG delta cấp. Các nhà nghiên cứu ở Tây Ban Nha đánh giá một xét nghiệm tương tự và thấy kháng nguyên huyết delta trong 88% BN VG delta cấp được nghiên cứu (hình 22-8).



Hình 22-8. *Các kiểu huyết thanh học trong nhiễm HDV cấp*

Các kết quả trái ngược nhau này có thể liên quan đến việc chọn thời gian lấy mẫu máu. Phương pháp và cho kết quả nhanh của chẩn đoán cũng có thể ảnh hưởng đến độ nhạy của xét nghiệm. Thế nên HDAg, chỉ hiện diện từ một đến 2 tuần trong giai đoạn nhiễm HDV cấp và sau đó trở nên khó phát hiện. Ngoài ra, các kết quả trái ngược còn do khác biệt về độ nhạy của các xét nghiệm được dùng. Số lượng HDAg hiện diện trong huyết thanh cũng có thể thay đổi với thời. gian và giai đoạn nhiễm HDV. Tóm lại, BN nhiễm VG delta mạn thường không có HDAg trong huyết thanh được phát hiện bằng EIA hoặc RIA. Hiện nay, dù xét nghiệm miễn dịch pha rắn đã được phát triển, xét nghiệm này vẫn chưa được dùng rộng rãi để chẩn đoán nhiễm HDV.

Độ nhạy tăng lên của phân tích thấm western so với xét nghiệm miễn dịch pha rắn trong phát hiện HDAg có thể là tác động cạnh tranh của anti-HDV trong huyết thanh. HDAg là một protein tan trong nước lưu thông trong một dạng riêng được đóng gói bằng cái áo HBsAg. Nếu hạt này bị vỡ, trong quá trình xử lý với EIA hoặc RIA, có khả năng là HDAg hòa tan tạo nên phức hợp với anti-HDV trong huyết thanh. Các phức hợp này có thể kết tủa làm HDAg khó phát hiện được. Gắn kết anti-HDV có thể ngừa phản ứng với anti-HDV trong xét nghiệm. Trong xét nghiệm thấm western, hạt HDV được lấy ra khỏi huyết thanh bằng siêu li tâm và bị biến tính trước khi điện di gel, nhờ đó ngăn ngừa hình thành phức hợp HDAg-anti-HDV.

5.4. KHÁNG THỂ ĐỐI VỚI VIRUT VG DELTA

Sự hiện diện anti-HDV trong huyết thanh cũng đặc hiệu và tin cậy trong chẩn đoán HDV. Mặt khác, các nghiên cứu dịch tễ HDV qui mô lớn cần phải xét nghiệm một số lớn các mẫu huyết thanh tìm anti-HDV. Anti-HDV có thể được phát hiện khá tin cậy bằng xét nghiệm miễn dịch pha rắn, gồm RIA và EIA. Nhiều xét nghiệm anti-HDV có sẵn trên thị trường. Các xét nghiệm này thường phát hiện kháng thể IgG lẫn IgM của HDV, tuy kháng thể IgM có thể được phát hiện riêng biệt và có thể có lợi về mặt chẩn đoán.

Anti-HDV phát hiện được trong hơn 90% các trường hợp từ 1 đến 2 tháng sau nhiễm HDV cấp. Sau đó, các thay đổi kháng thể và nồng độ tùy thuộc kiểu nhiễm HDV:

Ở các BN đồng nhiễm delta cấp, trong đó nhiễm HDV thường tạm thời, nồng độ anti-HDV có thể khá thấp (dưới 1/100), hoặc không phát hiện được. Ở các BN như thế, nồng độ anti-HDV có thể dễ phát hiện hơn ở các mẫu huyết thanh sau, và vì thế nhiều mẫu liên tiếp cần được xét nghiệm sau một số tuần để xác định một chẩn đoán được nghi ngờ VG delta. Trong các trường hợp này, anti-HDV còn được phát hiện sau bệnh cấp tính, nhưng không chắc chắn là nó tồn tại bao lâu.

Ở các BN bội nhiễm delta cấp, ngược lại, nhiễm HDV thường sẽ mạn tính ở BN đã nhiễm HBV mạn: anti-HDV có khuynh hướng xuất hiện sớm và nồng độ cao hơn. Kiểu này tiến triển nhanh đến VG delta mạn, trong đó nồng độ anti-HDV cao có thể được phát hiện. Nồng độ anti-HDV toàn bộ có thể vượt quá 1/1.000.000 ở BN VG delta mạn và nồng độ lớn hơn 1/1.000 phải nghĩ đến VG delta. Sinh thiết gan với nhuộm HDAg chỉ cần cho đánh giá mức độ trầm trọng của tổn thương gan liên quan đến nhiễm HDV hoặc trong các trường hợp mà chẩn đoán còn nghi ngờ.

IgM anti-HDV tương quan với mức độ sao chép HDV. Thế nên, trong giai đoạn VG delta cấp, khi mức độ sao chép virut cao, nồng độ IgM anti-HDV có thể cao. Khi VG giảm xuống, nồng độ anti-HDV có thể giảm. IgM anti-HDV hiện diện tạm thời trong hơn 90% các trường hợp đồng nhiễm delta cấp và khi được phát hiện cùng với sự gia tăng nồng độ anti-HDV toàn phần giúp xác định chẩn đoán. IgM anti-HDV có thể tồn tại cho đến giai đoạn mạn tính và có thể còn phát hiện khi nào HDV còn sao chép. Vì thế, IgM anti-HDV là một dấu ấn có ích trong theo dõi điều trị kháng virut, nồng độ IgM anti-HDV giảm xuống khi sao chép HDV bị ức chế với tác nhân như interferon-α.

Một xét nghiệm sàng lọc anti-HDV có thể có ích nhưng không thể tin cậy hoàn toàn, như trong trường hợp BN ức chế miễn dịch không thể gia tăng đáp ứng kháng thể đủ để phát hiện,. Ở BN đồng nhiễm delta cấp có đáp ứng kháng thể khá mạnh, anti-HDV có thể được phát hiện ngay cả sau khi sạch HBsAg trong huyết thanh.

5.5. RNA VIRUT VG DELTA

5.5.1. Xét nghiệm HDV RNA bằng kỹ thuật lai và kỹ thuật thấm

HDV RNA có thể được phát hiện trong huyết thanh của BN nhiễm HDV và HDV RNA tạo nên cơ sở cho một xét nghiệm chẩn đoán. Lúc đầu, hạt virut được vo viên từ huyết thanh bằng siêu li tâm. RNA sau đó được trích từ vật liệu vo viên này. HDV RNA có thể được phát hiện đặc biệt bằng các kỹ thuật lai phân tử. RNA được tách ra có thể được đặt lên màng nitrocellulose hay nylon để lai thấm điểm hoặc đưa vào điện di gel agarose và sau đó chuyển vào một màng để lai tiếp.

Sau đó, các màng được lai dùng bộ dò đánh dấu phóng xạ đặc hiệu cho HDV RNA và biểu hiện trên phim. HDV RNA có thể được phát hiện qua các điểm trên phim chụp phóng xạ tự ghi hoặc qua các dải tương ứng đối với chiều dài 1.700 bp bằng phương pháp lai thấm Northern. Các xét nghiệm HDV RNA ban đầu chỉ dùng một phần nhỏ bộ gen HDV làm thành một bộ dò, nên xét nghiệm có độ nhạy tương đối hạn chế. Về sau, bộ dò RNA nguyên vẹn được dùng phát hiện HDV RNA và do đó, có độ nhạy cao hơn.

HDV RNA phát hiện ở huyết thanh BN nhiễm virut có cực tính âm. Tuy nhiên, trong gan, nơi HDV sao chép, HDV RNA mạch âm và cả mạch dương có thể được phát hiện bằng phương pháp lai phân tử. HDV RNA trong gan có thể được phát hiện trong các mẫu sinh thiết gan bằng phương pháp lai thấm Northern hoặc lai *in situ*. HDV RNA có thể được phát hiện trong tế bào chất của tế bào gan nhuộm HDAg. Lai *in situ* hình như không nhạy cảm nhiều cũng không có lợi ích chẩn đoán nào trên phương pháp nhuộm miễn dịch qui ước đối với HDAg và không thể có bất cứ vai trò nào trong chẩn đoán thường qui của nhiễm HDV mạn.

Xét nghiệm HDV RNA dùng trong chẩn đoán

- *Ở BN nhiễm HDV cấp*, HDV RNA có thể được phát hiện khoảng 64% các trường hợp trong tuần đầu của bệnh. Sau đó, nếu virut huyết HDV tồn tại, các BN này sẽ tiến triển đến VG delta mạn.
- *Ở BN nhiễm HDV mạn*, HDV RNA phát hiện được trên 80% trong huyết thanh bằng phương pháp lai thấm điểm hoặc thấm Northern. Lượng HDV RNA lưu thông có thể được định lượng bằng cách so tín hiệu lai với lượng HDV cDNA hoặc RNA đã biết. Phương pháp này cùng với thử nghiệm gây nhiễm hắc tinh tinh, các BN nhiễm HDV mạn có thể có tình trạng virut huyết cao, thường được tính trên 10^{12} virion mỗi ml huyết thanh.

Xét nghiệm HDV RNA dùng giám sát điều trị

Ngoài việc dùng trong chẩn đoán, nồng độ HDV RNA huyết thanh có thể được dùng để giám sát tác động điều trị kháng virut. Khi điều trị với interferon-α, HDV RNA trở nên không phát hiện được ở BN đáp ứng với ALT giảm xuống mức bình

thường. Khi ngưng điều trị interferon, bệnh thường có thể tái phát và ALT tăng cao và HDV RNA lại phát hiện được.

5.5.2. Xét nghiệm HDV RNA bằng PCR

Gần đây, các xét nghiệm đã được phát triển để phát hiện HDV RNA bằng cách dùng phương pháp PCR nhạy. Khả năng của kỹ thuật PCR phát hiện HDV RNA có thể bị hạn chế bởi mức độ cao của tính bổ trợ cặp bazơ bên trong bộ gen virut, nhưng một vài tác giả báo cáo có thể phát hiện ít nhất 10 bộ gen của HDV RNA. Với cách dùng PCR, hơn 90% BN virut delta mạn có HDV RNA phát hiện được trong huyết thanh so với chỉ độ 70% dùng phương pháp lai thấm điểm qui ước.

5.6. CÁC KHÁNG THỂ LIÊN QUAN ĐẾN NHIỄM HDB

Ở BN HDV mạn, tự kháng thể với nhiều kiểu huyết thanh đã được phát hiện. Các kháng thể này bao gồm các kháng thể đối với vi thể của tế bào gan và thận, lớp tế bào cơ bản và tế bào thượng bì tuyến hung. Các tự kháng thể vi thể này là điều thú vị đặc biệt, vì chúng cũng có thể được phát hiện trong VG mạn hoạt động tự miễn kiểu II, không liên quan đến nhiễm virut. Crivelli và cs khảo sát huyết thanh của 81 BN HDV mạn và phát hiện 13% có phản ứng với tế bào chất của các tế bào gan và thận (ở người và súc vật), nhưng có thể không bị phong tỏa bằng huyết thanh của BN VG tự miễn kiểu II, gợi ý đến một kháng thể khác (anti-LKM3). Uridin diphosphat glucuronosyl tranferase đã được chứng minh là các kháng nguyên mà kháng thể anti-LKM3 phản ứng. Tuy enzym này cần trong biến dưỡng của thuốc và chức năng sinh cảnh lạ, ý nghĩa của các tự kháng thể còn chưa chắc chắn. Cho đến nay, không có vai trò nào của các tự kháng thể được chứng minh trong bệnh sinh nhiễm HDV mạn.

5.7. CÁC XÉT NGHIỆM HBV

5.7.1. Đánh giá tình trạng nhiễm HBV

Vì nhiễm HDV luôn luôn xảy ra trong sự kết hợp với HBV, việc đánh giá tình trạng nhiễm HBV là một phần quan trọng trong chẩn đoán VG delta. Trên thực tế, tất cả BN nhiễm HDV có HBsAg trong huyết thanh. Một ngoại lệ duy nhất có thể xảy ra là BN có VG cấp hoặc kịch phát thải trừ HBsAg khá nhanh trong huyết thanh. Trong giai đoạn đầu VG cấp, khoảng 10-15% BN không thể có HBsAg phát hiện được trong huyết thanh. Sự hiện diện của kháng thể IgM đối với HBcAg (IgM anti-HBc) trong huyết thanh có thể đủ để chẩn đoán VG B cấp trong nhóm BN này. IgM anti-HBc được phát hiện trong đồng nhiễm HDV cấp thường không liên quan với bội nhiễm delta cấp hoặc VG delta mạn.

5.7.2. Xác định tính trội của hai virut

BN nhiễm HDV mạn có HBsAg phát hiện được trong huyết thanh, nhưng các dấu ấn của sự sao chép HBV hoạt động (HBV DNA và HBeAg) thường không có, có

thể vì HDV ức chế sao chép HBV. Kháng thể IgM anti-HBc mức độ thấp không thể được xét nghiệm bằng các xét nghiệm thường qui thông thường có thể cho thấy tình trạng sao chép HBV tiếp diễn ở các BN VG delta mạn. Đánh giá mức độ IgM anti-HBc và IgM anti-HDV có thể giúp xác định hai thể virut nào có tính trội trong một BN đặc biệt.

5.7.3. Tái phát sau ghép gan

BN với HDV tái phát sau ghép gan có thể có HDAg phát hiện được trong gan ghép khá sớm, 1 đến 2 tuần sau phẫu thuật. Phải nhiều tuần hoặc nhiều tháng sau khi HBsAg phát hiện được trong huyết thanh và gan, HBcAg mới phát hiện được trong gan.

Tóm lại, chọn các xét nghiệm phù hợp trong chẩn đoán nhiễm HDV phải được thực hiện trong bệnh cảnh của BN. Thế nên, BN VG B cấp xét nghiệm âm tính đối với anti-HDV, phải được xét nghiệm lại nếu còn nghi ngờ. BN có VG mạn ổn định, anti-HDV(-) trong một mẫu huyết thanh độc nhất, sẽ loại trừ một chẩn đoán VG delta mạn. Các xét nghiệm HDAg và IgM anti-HDV trong huyết thanh có thể là những xét nghiệm phụ, khi các xét nghiệm này được dùng. Xét nghiệm tốt nhất để xác định nhiễm HDV là nhuộm HDAg ở các mẫu sinh thiết gan. Các kỹ thuật này tương đối đơn giản và được dùng rộng rãi. Tuy HDV RNA là phương pháp nhạy nhất đối với nhiễm HDV, nhưng tính khả dụng của xét nghiệm này kém nên ít dùng trong nghiên cứu. Tương tự, sự phát hiện HDAg trong huyết thanh bằng thấm western và HDV RNA trong gan bằng phương pháp lai *in situ* hiện cũng chỉ được dùng như một phương tiện nghiên cứu.

6. BỆNH HỌC

6.1. ĐỒNG NHIỄM VÀ BỘI NHIỄM HDV CẤP TÍNH

Mô học gan trong HDV đồng nhiễm và bội nhiễm cấp không thể phân biệt với mô học trong các trường hợp VG virut khác, tuy có một vài đặc điểm mô học trong các mẫu gan ở các BN nhiễm HDV nhưng các đặc điểm này không đặc hiệu. Sinh thiết gan chỉ giúp chẩn đoán xác định HDV trong gan khi dùng phương pháp nhuộm miễn dịch. BN VG delta cấp thường không phải sinh thiết gan. Tuy nhiên, các nghiên cứu mô học cũng được thực hiện từ các bệnh phẩm của BN chết vì VG delta kịch phát. VG D kịch phát ở các nước phương tây được xác định bằng sự xẹp chất đệm lan tỏa với sự biến mất các tế bào gan ngoại trừ các tế bào tái sinh trong một cấu trúc giả tiểu quản; các dải khoảng cửa chỉ thâm nhiễm trung bình với các tế bào lympho.

Trong các vụ dịch ở miền Bắc Nam Mỹ và ở Yupca Indians của miền tây Venezuala, bội nhiễm HDV gây bệnh cảnh nghiêm trọng trong các cộng đồng có tỷ lệ người mang HBsAg cao với các đặc trưng mô học đặc biệt. Các mẫu gan cho thấy

ứ mỡ giọt nhỏ lan tỏa với một ít hoại tử cũng như thâm nhiễm tế bào lympho khoảng cửa; các tế bào viêm liên tiểu thùy chủ yếu là các đại thực bào chứa các hạt nhỏ không glycogen PAS dương tính. Các tế bào này được gọi là các "tế bào phôi dâu" lần đầu được mô tả trong dịch sốt Labrea vùng sông Amazon; các tế bào chứa kháng nguyên HDV. Sự ứ mỡ vi thể do HDV cũng đã được mô tả trong các trường hợp VG D khác ở Brazil, Venezuela, và Colombia và gần đây được quan sát ở sóc đen gây nhiễm thực nghiệm đã chết sau VG D cấp. Cơ chế làm cơ sở cho sự biến hình tế bào này thì chưa rõ; có lẽ các nội bào quan tế bào quá tải với các sản phẩm gen virut (độ 300.000 bản sao HDV RNA mỗi tế bào) có thể gây tích trữ mỡ hoặc phospholipit điển hình cho kiểu tổn thương tế bào này. Các đám tế bào gan co lại có nguyên sinh chất rất ưa axit, trong đó nhân bị mất đi hoặc nhân bị kết đặc thường gặp trong VG D. Các tế bào này có hình dáng bên ngoài không đều và đôi khi mang hình thể góc cạnh hoặc hình thoi. Các tế bào này là điển hình của sự chết tế bào hàng loạt, một dạng thoái biến thấy trong tất cả các loại VG virut, được cho là một biểu hiện của hoại tử tế bào qua trung gian miễn dịch.

6.2. VG DELTA MẠN

Các thay đổi ở các BN VG delta mạn là các thay đổi chung của VG mạn nhưng có khuynh hướng nặng hơn và có nhiều khả năng bị VG mạn hoạt động hoặc xơ gan. Đa số BN có HDAg trong gan được phát hiện bằng phương pháp nhuộm miễn dịch, tuy thường chỉ nhuộm được một ít tế bào (bảng 22-9). Số lượng tế bào chứa HDAg có thể giảm theo thời gian và mức trầm trọng của bệnh gan tăng lên.

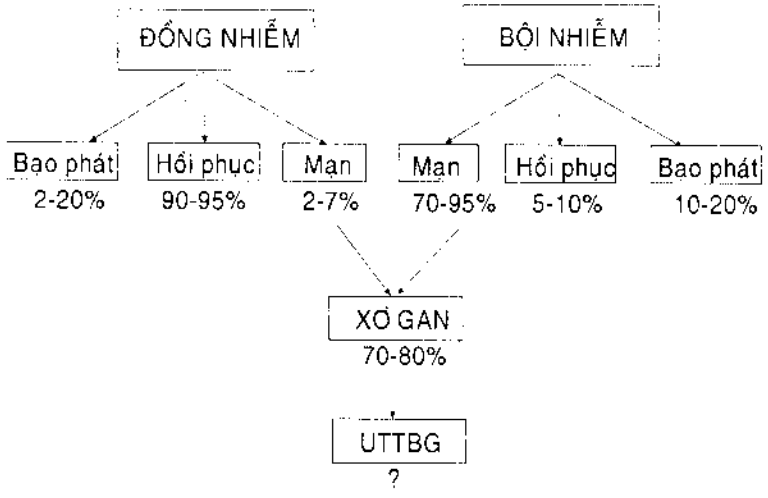
Bảng 22-9. Tỷ lệ các BN có VG B mạn (HBsAg(+)) có các dấu ấn của nhiễm delta (HDAg trong gan và anti-HDV trong huyết thanh) theo tính trầm trọng mô học của VG.

Tham khảo	Tổng số ca	Chẩn đoán mô học				
		BT/VGKĐH	VGM TTT	VGT TMT	VGM THĐ	Xơ gan
Colombo và cs	192	0	14	0	32	52
Weller và cs	71	0	0	0	11	31
Govindarajan và cs	80	0	4	0	32	28
Sagnelli và cs	203	0	14	36	46	30

Viết tắt: BT, bình thường. VGKĐH, VG không đặc hiệu. VGMTTT, VG mạn tồn tại. VGTTMT, VG tiểu thùy mạn. VGMTHĐ, VG
mạn hoạt động.

7. SỰ TIẾN TRIỂN TỰ NHIÊN

VG delta gây ra bởi nhiễm virut kép gồm virut VG delta (HDV) và virut VG B (HBV). Khi HDV lần đầu được phát hiện, nhiễm HDV thường liên quan đến bệnh gan nặng hoặc tiến triển. Tuy thế, sự tiến triển tự nhiên của nhiễm HDV gần đây được chứng minh khá đa dạng, từ VG cấp kịch phát đến tình trạng người mang khỏe mạnh (Hình 22-9)



Hình 22-9. *Sơ đồ của hậu quả của đồng nhiễm hoặc bội nhiễm với virut VG delta.*

7.1. ĐỒNG NHIỄM

Là hậu quả của sự mắc phải đồng thời của cả HBV và HDV trong một cá thể trước đây không bị nhiễm HBV. Kiểu này gây nên hậu quả điển hình của một VG cấp được xác định đặc điểm bởi sự hiện diện của tình trạng virut huyết (HDV RNA và HBV DNA kéo dài trong một ít ngày) và các dấu ấn huyết thanh của nhiễm virut nguyên phát (IgM anti-HBc, kháng thể IgM chống lại kháng nguyên lõi của HBV; và IgM anti-HDV, kháng thể IgM đối với kháng nguyên delta). Trong gan, HDAg và kháng nguyên lõi có thể được biểu hiện đồng thời hoặc nối tiếp nhau.

- Trong đa số các trường hợp, đồng nhiễm virut cấp là bệnh tự giới hạn, nhưng cũng có thể tiến triển đến VG kịch phát. Mặt bằng huyết thanh của các trường hợp đồng nhiễm không có triệu chứng chỉ được biết do sự gia tăng chậm của IgM và IgG anti-HDV.

- Trong bệnh nặng, virut huyết có trước khi phát hiện HDAg và HBcAg đầu tiên trong gan, ngay sau khi chuyển huyết thanh đầu tiên đối với IgM và sau đó đối với IgG anti-HDV. IgM giảm sau vài tuần, IgG sau vài tháng, không để lại bằng chứng huyết thanh học của nhiễm HDV trước đây.

7.2. BỘI NHIỄM

VG D cấp bội nhiễm thường là nặng với các triệu chứng vàng da và rối loạn chức năng gan. Hậu quả của VG cấp bội nhiễm có thể là kịch phát hoặc bán cấp với bệnh gan nền gây nên bởi HBV điều biến mức độ trầm trọng của bệnh. Trong bội nhiễm, virut huyết ban đầu là một phát hiện thường gặp theo sau một phản ứng kháng thể nhanh IgM hoặc IgG. Khi bội nhiễm đã thuyên giảm, kháng thể IgM giảm sau vài tuần và IgG tồn tại trong 1-2 năm. Cả hai kháng thể có nồng độ tăng cao và tồn tại lâu trong bội nhiễm tiến triển đến mạn.

Hiện nay, nhiễm HDV mới tiếp tục bị mắc phải bởi hai cơ chế này. Tuy nhiên, bội nhiễm hình như chiếm ưu thế hơn đồng nhiễm vì số lượng người mang HBV mạn có nguy cơ nhiễm HDV khắp thế giới. Trong một nghiên cứu gần đây ở miền bắc Ấn Độ, đồng nhiễm cao hơn đáng kể trong VG cấp (80%). trong khi bội nhiễm chủ yếu trong VG mạn (66,7%).

8. CÁC ĐỘNG VẬT THÍ NGHIỆM

Tuy chưa phát hiện nhiễm HDV tự nhiên ở loài vật, một vài loài đã được gây nhiễm thực nghiệm và các động vật thực nghiệm này được dùng để nghiên cứu sinh học nhiễm HDV. Vật chủ của nhiễm HDV bao gồm người và các con vật thực nghiệm (hắc tinh tinh, sóc đen và vịt) mang các hepadnavirut liên quan đến HBV (HBV, WHV, DHV). Gây nhiễm thực nghiệm đã tái sản xuất các kiểu truyền nhiễm, đồng nhiễm và bội nhiễm trong truyền nhiễm HDV người. Một đặc trưng thường gặp của nhiễm HDV thực nghiệm là ức chế các virut trợ giúp (helper virus) HBV, được chứng minh bằng sự giảm xuống của HBsAg và HBV DNA trong huyết thanh và gan. Cấy chuyền liên tiếp HDV ở hắc tinh tinh và sóc đen làm thời kỳ ủ bệnh ngắn đi và mức độ trầm trọng của VG D cấp tăng lên. Nhiễm virut cũng đã được khởi đầu bằng cách tiêm trực tiếp vào gan các dòng vô tính cDNA có khả năng sinh các virion gây nhiễm. Chuột chuyển gen, không nhiễm HBV được dùng để nghiên cứu tác động của tự HDV khi vắng mặt virut trợ giúp. Các thể trung gian sao chép của HDV và HDAg trong gan được chứng minh trong các loài gặm nhấm được tiêm.

Các loạt thí nghiệm đầu tiên xác định kháng nguyên delta liên quan với một tác nhân truyền nhiễm khác biệt với HBV được thực hiện ở hắc tinh tinh. Rizzetto và cs chứng minh rằng hắc tinh tinh được miễn dịch đối với HBV không thể gây nhiễm với delta, nhưng nếu các con vật này dễ mắc hoặc đã mắc HBV thì có thể bị nhiễm bệnh. Trong các nghiên cứu này, điều được ghi nhận đầu tiên là bội nhiễm HDV hình như có hiệu quả ức chế sao chép HBV. Một vài con vật gây nhiễm trước đây không bệnh gan, được gây nhiễm HBV mạn, phát triển tổn thương gan có ý nghĩa sau gây nhiễm HDV. Trong giai đoạn cấp của nhiễm delta, việc xảy ra tổn thương gan liên quan chặt chẽ với sự xuất hiện HDAg, gợi ý một hiệu quả bệnh sinh trực tiếp của HDV tại tế bào gan. Nhiễm HDV thường tồn tại mạn tính ở hắc tinh tinh, tuy tình trạng nhiễm HDV mạn không có vẻ liên quan đến tổn thương gan. Trong một thí nghiệm thú vị, Negro và cs thử nghiệm tái thử thách hắc tinh tinh mang HBV mạn với HDV và thấy rằng HDV RNA tái xuất hiện trong huyết thanh, cho thấy chúng có thể bị tái nhiễm hoặc có lẽ có nhiễm HDV tiềm tàng được tái hoạt hóa.

Súc vật gây nhiễm với hepadnavirut khác hơn là VG B cũng được nhiễm truyền với HDV. Vịt mang HBV vịt không dễ nhiễm delta, sóc đen gây nhiễm VG sóc đen chắc chắn trở nên nhiễm với HDV và sóc đen là động vật thực nghiệm rất có ích trong nghiên cứu HDV. Hắc tinh tinh khó xử lý và nuôi giữ tốn kém nên rất ít dùng. Ngược lại, sóc đen dễ dùng và dễ nuôi giữ hơn. Gây nhiễm HDV cho sóc đen làm

xuất hiện các đặc trưng sinh học và bệnh học giống với các đặc trưng thấy ở người và sóc đen có thể là một động vật thực nghiệm được dùng để xét nghiệm thuốc kháng virut và vacxin mới và có thể dùng khảo sát về bệnh sinh các thể phân lập mới của HDV .

9. ĐIỀU TRỊ

Nhiễm HDV là một trong những bệnh gan do virut khó điều trị nhất. Cấu trúc bất thường và chu trình sao chép khác thường của HDV, không phụ thuộc vào bất cứ hoạt tính polymerase nào đã biết do virut gây ra nhưng phụ thuộc vào chức năng ribozym của nó, làm tác nhân gây bệnh này trở nên khó khăn cho điều trị kháng virut.

9.1. ĐIỀU TRỊ VG D CẤP

VG cấp cần theo dõi các thông số lâm sàng và sinh hóa của chức năng gan giúp sớm phát hiện diễn tiến VG kịch phát. Nếu VG kịch phát xảy ra, ghép gan đúng vị trí là điều trị được chọn lựa vì không có điều trị nội khoa nào cho đến nay cho thấy có hiệu quả trong việc cứu sống BN.

Trysidium phosphonoformat (foscarnet) được dùng để điều trị 3 BN VG HBV/HDV kịch phát, cả 3 đều hồi phục. Foscarnet là một chất ức chế DNA polymerase và nhờ đó, có khả năng ngăn cản sao chép HDV. Thế nhưng, các nghiên cứu *in vitro* cho thấy foscarnet gia tăng hơn là ức chế sao chép HDV. Trong các trường hợp này, VG kịch phát hồi phục có lẽ do may rủi hơn là do tác dụng điều trị của foscarnet. Hiện nay, foscarnet không còn được dùng nữa trong bệnh cảnh lâm sàng này.

9.2. ĐIỀU TRỊ NỘI KHOA VG D MẠN

Đồng nhiễm với một RNA (HDV) và một DNA (HBV) virut gây ra VG B mạn khó điều trị hơn là VG B mạn đơn thuần. Cũng như VG B, vào đầu những năm 1980, các kết quả điều trị không khả quan với các thuốc ức chế hoặc kích thích miễn dịch. Vào giữa những năm 1980, các thử nghiệm lâm sàng thăm dò cho thấy interferon-α (IFN-α) có thể ức chế sao chép HDV và kiểm soát bệnh gan trong một vài nhóm BN. Tuy nhiên tác dụng này thường không kéo dài đến cuối điều trị IFN.

9.2.1. Interferon

9.2.1.1. Thử nghiệm lâm sàng với Interferon

Vào cuối những năm 1980, nhiều thử nghiệm lâm sàng được thực hiện dựa vào giả định rằng điều trị IFN kéo dài sẽ gây thuyên giảm kéo dài và có khả năng tiệt căn nhiễm virut. Các thử nghiệm này cho thấy đáp ứng không chắc chắn, dựa trên cơ sở ALT trở lại bình thường và trên sự thải trừ HDV RNA huyết thanh, xảy ra tại các thời điểm khác nhau từ lúc bắt đầu điều trị và đôi khi xảy ra sau khi ngưng IFN. Tỷ số của đáp ứng tỷ lệ với liều IFN; BN được điều trị với 9 triệu đơn vị (MU) đáp ứng

tốt hơn BN điều trị với 3 MU. Bằng chứng virut học và sinh hóa của tình trạng tái phát thường xảy ra khi IFN giảm xuống còn 3 MU/m^2 sau một đợt điều trị 4 tháng với 5 MU/m^2. Điều trị hàng ngày với liều 5 MU giảm gánh của các tác dụng phụ nhưng cũng có khả năng hồi phục. Các đáp ứng kéo dài ít gặp và đôi khi không hoàn toàn, sự phân đôi giữa sự tồn tại của ALT bình thường và sự tái phát virut huyết HDV. Các đáp ứng sinh hóa và virut học kéo dài đồng thời thường kèm theo sự thải trừ HBsAg trong huyết thanh và chuyển huyết thanh thành anti-HBs (bảng 22-10 và 22-11).

Bảng 22-10. Các thử nhiệm lâm sàng có đối chứng trong điều trị VG HDV mạn với IFN.

Tác giả	Số BN	Thời biểu IFN	Cuối điều trị		Cuối theo dõi	
			HDV RNA(-)	ALT bình thường	HDV RNA(-)	ALT bình thường
Rosina và cs	12	α-2b tái tổ hợp 3 lần/tuần, 5 MU/m^2 x 3 tháng	4 (33%)	4 (33%)	1 (8%)	1 (8%)
	12	Không điều trị	2 (17%)	0 (0%)	2 (17%)	0 (o%)
Rosina và cs	31	α-2b tái tổ hợp 3 lần/tuần, 5 MU/m^2 x 4 tháng 3 MU/m^2 x 8 tháng	14 (45%)	8 (25%)	14 (45%)	1 (3%)
	30	Không điều trị	8 (27%)	0 (0%)	10 (33%)	0 (0%)
Farci và cs	14	α-2a tái tổ hợp 3 lần/tuần, 9 MU x 12 tháng	10 (71%)	10 (71%)	0 (0%)	5 (36%)
	14	α-2a tái tổ hợp 3 lần/tuần, 3 MU x 12 tháng	5 (36%)	4 (28%)	0 (0%)	0 (0%)
	14	Không điều trị	1 (7%)		0 (0%)	0 (0%)
Gaudin và cs	11	α-2b tái tổ hợp 3 lần/tuần, 5 MU/m^2 x 4 tháng	7 (66%)	1 (7%)	1 (9%)	1 (9%)
	11	3 MU/m^2 x 8 tháng Không điều trị		7 (66%)		
Cotonat và cs	12	α-2a tái tổ hợp 3 lần/tuần, 18 MU x 6 tháng 9 MU x 1 tháng 6 MU x 1 tháng 3 MU x 4 tháng	4 (36%)	2 (18%)	Không có số liệu	Không có số liệu
Borghesio,cs	14	α-2a tái tổ hợp hàng ngày, 3 MU x 12 tháng	3 (19%)	1 (7%)	0 (0%)	0 (0%)
	5	Lymphoblastoid 3 lần/tuần 10 MU đến ALT bình thường được 12 tháng	Không có số liệu	0 (0%)	Không có số liệu	Không có số liệu
Puoti và cs	4	Lymphoblastoid hàng ngày 5 MU đến ALT bình thường được 12 tháng	Không có số liệu	2 (50%)	Không có số liệu	Không có số liệu
	12 anti-HIV(+)	α-2b tái tổ hợp 3 lần/tuần, 10 MU x 6 tháng 6 MU x 6 tháng	Không có số liệu	2 (16%)	Không có số liệu	1 (8%)
	20 anti-HIV(-)	3 MU x 12 tháng	Không có số liệu	4 (20%)	Không có số liệu	2 (10%)

Viết tắt: dt, kháng thể HIV(+); at, kháng thể HIV(-).

Các thời biểu và sự kết hợp IFN khá phức tạp với các thuốc kháng virut khác (như acyclovir) đã không thành công hơn và tái hoạt hóa xuất hiện trở lại trong quá trình theo dõi. Khảo sát mô học cho thấy tổn thương gan và kháng nguyên VG D (HDAg) giảm đáng kể ở BN đáp ứng với IFN.

Bảng 22-11. Thử nhiệm lâm sàng không đối chứng trong điều trị VG HDV mạn với IFN.

Tham khảo	Số BN	Thời biểu IFN	Cuối điều trị		Cuối theo dõi	
			HDV RNA(-)	ALT bình thường	HDV RNA(-)	ALT bình thường
Farci và cs	5	Lymphoblastoid 3 lần/tuần 2,5-7,5 MU/m^2 x 2-12 tuần	4 (80%)	0 (0%)	4 (80%)	0 (0%)
Buti và cs	4	α-2a tái tổ hợp 3 lần/tuần, 9 MU x 6 tháng	3 (75%)	3 (75%)	Không có số liệu	Không có số liệu
Taillan và cs	8	α-2b tái tổ hợp 3 lần/tuần, 5 MU x 6 tháng	không có số liệu	2 (25%) 8 (25%)	Không có số liệu	Không có số liệu
Di Bisceglie và cs	12	α-2b tái tổ hợp hàng ngày, 5 MU x 4-36 tháng	5 (42%)	0 (0%)	Không có số liệu	Không có số liệu
Marinucci và cs	8	α-2a tái tổ hợp 3 lần/tuần, 6 MU x 12 tháng ngưng x 1 tháng 1 MU x 12 tháng	3 (37%)	1 (12%)	1 (12%)	1 (12%)
Craxi và cs	10	α-2b tái tổ hợp 3 lần/tuần, 5 MU/m^2 x 4 tháng 3 MU/m^2 x 8 tháng	7 (70%)	Không có số liệu	2 (20%)	Không có số liệu
Berk và cs	10	Lymphoblastoid 5 MU/ngàyx4tháng Acyclovir 2g/ngày x 2 tuần x2 chu kỳ	Không có số liệu	5 (50%)	Không có số liệu	2 (20%)
Marzaro và cs	7	Lymphoblastoid 3 lần/tuần 5 MU/m^2 x 4 tháng 3 MU/m^2 x 8 tháng	5 (71%)	5 (71%)	3 (43%)	3 (43%)
Lau và cs	6	α-2b tái tổ hợp 10 MU x 5 ngày, hàng ngày 10 MU x 1tháng, 3 lần/tuần 5 MU x 2 tháng, 3 lần/tuần	Không có số liệu	4 (66%)	Không có số liệu	Không có số liệu
Rumi và cs	25	3 MU x 9 tháng, 3 lần/tuần α-2b tái tổ hợp 3 lần/tuần, 6 MU x 24 tháng	Không có số liệu	6 (24%)	Không có số liệu	2 (8%)

9.2.1.2. Tác dụng phụ của Interferon

Các tác dụng phụ báo cáo trong các thử nghiệm trước đây đều cho là do IFN. Các triệu chứng giống cúm, mệt mỏi và mất cân được thấy ở hầu hết các BN và mức độ của phản ứng thường tỷ lệ với liều IFN và với tuổi BN. Đôi khi cũng liên quan đến bệnh sử tiêm chích ma túy trước đây. Các BN tiêm chích ma túy thường ít tuân thủ điều trị và việc dùng cách quảng IFN làm tăng các tác dụng phụ và làm nặng hơn các tác dụng này. Một BN đã tự tử vào tháng điều trị thứ 11, và một BN khác có ý tự tử ngay sau khi ngưng điều trị. Các BN thường cũng có thể trở nên trầm cảm và

có ý tự tử nếu được điều trị với liều cao với khoảng thời gian kéo dài. Một thử nghiệm đa trung tâm ở Ý so sánh việc điều trị lâu dài IFN lymphoblastoid 10 MU, 3 lần một tuần và 5 MU hàng ngày, một BN trong lô 10 MU tự tử 15 ngày sau khi ngưng điều trị; 3 BN khác, một thuộc lô 10 MU và 2 thuộc lô 5 MU, cần ngưng điều trị vì trầm cảm nặng. 7 (29%) của 25 BN HDV được điều trị do Rumi và cs đã ngưng một chu kỳ IFN 24 tháng (6 MU 3 lần một tuần) vì trầm cảm, mệt mỏi, đau cơ và gan mất bù.

Hai BN có bệnh gan nặng khi dùng IFN đủ liều. Các kháng thể vi thể gan thận (anti-LKM) hiện diện trong huyết thanh của một trong các BN này. IFN phải được dùng cẩn thận ở trẻ em được điều trị các bệnh ác tính. 2 trong 9 BN như thế có xơ gan còn bù với các dấu hiệu sinh hóa nặng trong quá trình điều trị IFN, đưa đến suy gan chết người ở một trường hợp.

9.2.1.3. Các yếu tố tiên lượng của đáp ứng với Interferon

Phân tích các đặc điểm trước khi điều trị ở BN không thấy bất cứ khác biệt có ý nghĩa nào giữa người đáp ứng và người không đáp ứng với interferon đối với vấn đề về dân số học, các yếu tố địa lý, lâm sàng, huyết thanh, sinh hóa và mô học.

Nhiều người lớn và trẻ em nhiễm HDV sao chép hoạt động thải trừ HDV DNA và HBeAg khỏi huyết thanh và thường chuyển đảo thành anti-HBe trong quá trình điều trị interferon. Sự kiện này xảy ra mà không có thay đổi phù hợp về mặt hóa học gan và thường không đưa ALT trở lại mức bình thường. Các BN có sao chép hoạt động của cả hai virut được xem là có tiên lượng xấu. Tuy nhiên, ức chế HBV do điều trị phải được xem như một thành công điều trị. Tuy một BN có tự kháng thể anti-LKM có một cơn trầm trọng của VG, khiến phải ngưng điều trị. Trong các thử nghiệm khác, 10 BN như thế đã hoàn tất các chu trình điều trị IFN mà không có biến chứng.

Tuy bệnh có một khoảng thời gian ngắn hình như cải thiện do điều trị, một người tuổi trẻ có thể có một ảnh hưởng ngược, như trong trường hợp điều trị IFN của VG B mạn. Không có trường hợp nào trong 10 đứa trẻ được điều trị bởi Craxi và cs cải thiện về mặt lâm sàng hoặc mô học sau điều trị trong một năm. Các nghiên cứu về người tiêm chích có HIV(+), thường mắc phải HBV và HDV trong quá khứ gần đây của họ, đã cho thấy có đáp ứng ở những người còn khả năng miễn dịch.

9.2.1.4. Cơ chế của tác dụng Interferon

Cơ chế tác dụng của IFN ở VG B mạn chưa được hiểu rõ. Trong các dòng tế bào ung thư gan chuyển nhiễm HDV, sao chép HDV không bị ảnh hưởng bởi IFN. Các thí nghiệm *in vitro* tỏ ra trái ngược với các kết quả được thấy ở BN khi mà đáp ứng với IFN thường có đặc điểm giảm đồng thời của virut huyết HDV và ALT, cho thấy một tác dụng kháng virut trực tiếp của cytokin trên HDV.

Một khác biệt chính giữa hai động vật thí nghiệm là BN luôn đồng nhiễm với HBV. Vì thế, điều có thể chấp nhận được trong việc giữ gìn sự thải trừ thường xuyên của HBsAg huyết thanh ở những người đáp ứng lâu dài. Hoạt tính IFN chống HBV có thể giữ một vai trò chủ yếu. Ở những người đáp ứng lâu dài có HBsAg(-), HDV RNA và HDAg không còn phát hiện trong huyết thanh và gan. Các BN không thải trừ HBsAg có thể thuyên giảm sinh hóa và mô học giống như những người được ghép gan, mặc dù sự sao chép HDV hoạt động còn tồn tại. IFN cũng có thể gây xuất hiện các đột biến không sinh bệnh hoặc ít sinh bệnh. Có thể tăng tỷ lệ đột biến tại codon kết thúc đối với kháng nguyên delta (codon 196), dẫn đến sản xuất thừa thải kháng nguyên lớn không gây độc tế bào (HDAg-p27).

Ở BN đáp ứng với IFN, sự ức chế sao chép virut liên quan với tính ổn định cao của bộ gen virut trước và sau điều trị. Một vùng rộng của các á chủng trước điều trị và các thay đổi của bộ gen virut trong quá trình điều trị làm xuất hiện trở lại việc sao chép HDV trong và sau điều trị.

9.2.2. Các điều trị khác

Cải tiến phương pháp điều trị VG B mạn rõ ràng là cần thiết. Loài vật (sóc đen) và môi trường cấy tế bào (tế bào gan sóc đen) được dùng để sàng lọc các thành phần kháng virut cho hoạt động chống HDV. Tuy nhiên cho đến nay, nhiều tác nhân kháng virut chưa được chứng minh là có ích lợi.

Suramin

Suramin *in vitro* ngăn chặn sự xâm nhập của HDV vào tế bào gan. Thuốc cũng được biết tác dụng trên hepadnavirut và retrovirut, nhưng thuốc khá độc khi điều trị lâu ngày ở người.

Acyclovir

Acyclovir, được dùng trước đây và không thành công như một điều trị phụ ở BN được điều trị với IFN, hình như làm tăng sao chép HDV *in vitro.*

Ribavirin

Ribavirin, một chất tương tự nucleotit, ức chế sao chép HDV trong môi trường cấy tế bào. Thuốc được cho 15 mg/kg/ngày uống trong 16 tuần ở 9 BN nhưng phải ngừng ở 2 BN sau 2 tuần, một trường hợp vì thiếu máu huyết tán và một trường hợp khác vì ngứa không giảm khi điều trị. Không có kết quả virut học hoặc sinh hóa nào có ý nghĩa. Các kết quả không thuận lợi cũng được thấy ở các loạt nghiên cứu ngẫu nhiên cỡ nhỏ khác.

Thymosin alpha-1

Là một polypeptit có tác dụng điều biến miễn dịch, có thể gây nên sự thuyên giảm bệnh ở các BN VG B mạn. Phát hiện này tạo ra một nghiên cứu thăm dò ở các BN VG D mạn. 12 BN chọn lựa ngẫu nhiên vào 2 nhóm hoặc điều trị với thymosin alpha-1 với liều 900 $\mu g/m^2$ X tuần trong 6 tháng hoặc không điều trị. Không có BN nào trong lô chứng có mức độ ALT bình thường vào cuối kỳ theo dõi. Trong nhóm được điều trị bằng thymosin alpha-1, các giá trị ALT trở nên bình thường ở 2 BN và còn tiếp tục bình thường suốt thời gian theo dõi sau đó. Cả 2 BN có một bệnh sử VG mạn ngắn ngủi.

THFγ-2

THFγ-2, một octapeptit tổng hợp thuộc vào nhóm polypeptit có nguồn gốc từ tuyến hung và có một vùng tác dụng điều hòa miễn dịch rộng, hiệu quả ở nhiễm HBV mạn. Thuốc được dùng ở 11 BN HDV mạn mà không có tác dụng virut học hoặc sinh hóa chắc chắn.

9.2.3. Điều trị nội khoa hiện nay

IFN là một lựa chọn điều trị duy nhất VG B mạn. Các số liệu cho thấy một tỷ lệ BN đáp ứng với IFN nếu liều được dùng đầy đủ (thí dụ 9-10 MU 3 lần 1 tuần) với một khoảng thời gian đủ. Vì bội nhiễm HBV xảy ra như một tiến trình mạn trong hơn 90% các trường hợp và điều trị sớm IFN có thể cải thiện tỷ lệ đáp ứng, điều trị phải bắt đầu ở BN VG cấp tiến triển đến mạn ngay sau giai đoạn cấp vừa hết. BN có bệnh sử VG mạn và không có xơ gan mất bù phải được điều trị ngay sau khi chẩn đoán.

Việc chọn thời gian điều trị IFN còn chưa được thỏa đáng. Các thông số tiên lượng đáp ứng còn chưa được xác định. Hơn nữa, trong nhiễm HDV và HCV mạn, đáp ứng với IFN xảy ra trong 3 tháng từ khi bắt đầu điều trị, trong đáp ứng nhiễm HDV có thể lên đến 10 tháng. Bởi thế, IFN phải được dùng ít nhất một năm trước khi một BN được xem là không đáp ứng.

Một thách thức khác là quyết định khi nào ngưng điều trị ở BN có đáp ứng ban đầu tốt. Sự mất HDV RNA và HDAg huyết thanh không phản ảnh chính xác sự thải trừ virut, khi BN đáp ứng với điều trị sẽ mất các dấu ấn virut này nhưng có thể tái phát một khi điều trị ngưng. Tuy nhiên, điều trị có thể được ngưng một cách an toàn nếu HBsAg biến mất.

Vì có các tác dụng phụ nặng nề và có khả năng đe dọa mạng sống, IFN dùng không lâu quá 12 tháng và dưới sự giám sát của thầy thuốc cẩn thận để phát hiện và xử trí các biến chứng y học và tâm thần.

9.2.4. Các triển vọng tương lai

Các triển vọng về điều trị nhờ vào vai trò quyết định của HBV trong chu trình sống của HDV và trên sự hiện diện của các điểm hoạt động ribozym trong chuỗi mã HDV RNA.

Các chất tương tự Deoxynucleotit

Các bằng chứng *in vitro* và *in vivo* nhắm vào HBV như một đích có thể cho điều trị nhiễm HDV. Các thử nghiệm các chất tương tự deoxynucleotit này (thí dụ lamivudine, ganciclovir, famciclovir, hoặc lobucovir) tỏ ra là các tác nhân đầy hứa hẹn hiện nay trong các thử nghiệm lâm sàng trong điều trị HBV. Nghiên cứu sự tồn tại của HBV DNA qua đo lường bằng PCR ở các BN VG D mạn gợi ý cho việc dùng các tác nhân kháng virut để thanh toán hoàn toàn các mức độ sao chép HBV, nhất là ở những người mang HBV còn tiếp tục sao chép.

Aminoglycosit

Như trong trường hợp với các ribozym khác, hoạt tính tự phân cắt của ribozym bộ gen HDV *in vitro* bị ức chế mạnh mẽ khi có mặt các aminoglycosit khác nhau. Các quan sát này gợi ý một chiến lược tiềm tàng cho điều trị anti-HDV.

Oligonucleotit ngược hướng

Oligonucleotit ngược hướng hứa hẹn là tác nhân điều trị kháng nhiều loại virut. Gần đây, một phân tích về tác dụng của oligonucleotit ngược hướng trên sao chép HDV RNA ở các tế bào chuyển nhiễm trong môi trường cấy đã được thực hiện. Oligonucleotit trực tiếp chống lại vùng tự phân cắt khá hiệu quả trong việc giảm mức độ sao chép HDV RNA bộ gen (trên 90%). Chuyển nhiễm và điều trị các dòng tế bào sản sinh HBV mạn cũng đang được nghiên cứu ở động vật thực nghiệm các tác động điều hòa sao chép HDV dưới các điều kiện bắt chước chặt chẽ với các điều kiện *in vivo*.

9.3. GHÉP GAN

9.3.1. Chỉ định

Ghép gan là một sự lựa chọn điều trị có giá trị cho bệnh gan HDV giai đoạn cuối (suy gan mạn ở các BN xơ gan HDV). Như với các bệnh virut khác, BN sẽ bị nặng hơn nếu ghép gan có nguy cơ tái nhiễm. Nhưng đối với HDV, sự tái nhiễm thấp hơn khi ghép cho các BN suy gan do HBC và HCV. Quá trình lâm sàng của VG D tái phát trên mẫu ghép nhẹ hơn HBV. VG delta không phải là nguyên nhân thường gặp trong ghép gan ở Mỹ, nhưng lại chiếm một tỷ lệ cao ở các người được ghép gan tại Ý và Pháp.

9.3.2. Các thử nghiệm

Trong một thử nghiệm ở Ý và Bỉ, 27 người mang HBsAg nhận gan ghép vì xơ gan liên quan đến VG delta giai đoạn cuối được nghiên cứu. HDV trở nên tái phát ở 22 BN (81%). Hai BN chết vì sự tái hoạt hoá của cả HDV và HBV. Bốn BN chết vì các nguyên nhân được tìm thấy có HDV mà không có các dấu hiệu của tái hoạt hóa HBV. Năm BN (18%) thải trừ cả HBV và HDV sau ghép mà không có bằng chứng VG (thời gian theo dõi trung bình là 29 tháng). Ở nhiều BN còn sống, nhiễm HDV tái phát sớm mà không có các dấu hiệu tái hoạt của HBV. Bệnh tái phát trong 11 (40%) BN nhiễm HDV trong đó HBV cũng tái phát. Các nhà nghiên cứu cũng thấy HDV có thể gây nên nhiễm virut dưới lâm sàng mà không có sự hỗ trợ rõ ràng của HBV, nhiễm virut như thế chỉ trở nên có triệu chứng nếu và khi HBV tái hoạt. Bởi thế, HDV có thể tự nó không gây bệnh nhưng cần cộng tác với HBV để gây ra bệnh cảnh lâm sàng. Một nghiên cứu khác cũng thấy một nguy cơ tái phát cao (80%) ở 14 BN HDV nhận gan ghép không được điều trị dự phòng, nhưng tỷ lệ tái phát VG thấp hơn so với những người nhận ghép do VG B. 25 trong 27 BN ở nghiên cứu đầu tiên và tất cả BN trong nghiên cứu sau sống từ 1-4 năm sau ghép.

Từ 5 người nhận gan ghép nhiễm VG D tái phát được theo dõi lâu dài (> 8 năm), ba trường hợp có VG mạn thể nhẹ, một có VG mạn hoạt động và một phát triển xơ gan mất bù cần tái ghép gan 5 năm sau ghép lần đầu.

Điều trị VG D tái phát cũng chưa tốt đẹp. Nhiều liệu pháp, đa số nhắm vào HBV, đã được thử nghiệm mà không có bằng chứng thành công đáng kể. Tuy nhiên, sự tái phát VG sau ghép đối với VG delta mạn ít gặp hơn VG B mạn, vì lý do là VG delta không thể tái phát nếu HBV không tái phát. Bởi thế, dự phòng tái phát HBV bằng cách dùng phương pháp dự phòng miễn dịch thụ động cũng tốt với dự phòng nhiễm HDV.

IFN (3 đến 5 MU, 3 lần 1 tuần cho đến 3 tháng) không chứng tỏ hiệu quả trong các BN này. Trong 7 BN HDV khác được ghép gan và được điều trị dự phòng ngắn hạn, 4 tái nhiễm với HBV và HDV. Ba trường hợp thải trừ cả hai virut sau một đợt VG cấp, trong khi một trường hợp phát triển xơ gan 11 tháng sau ghép.

Tiên lượng của diễn tiến lâm sàng không biến chứng sau ghép có thể được cải thiện hơn nữa qua việc dùng lâu dài huyết thanh miễn dịch kháng HBsAg. Tỷ lệ tái phát sau khi đưa vào dự phòng HBIg chuẩn chống HBV, đã giảm xuống còn 9-12% trong hai nghiên cứu lớn ở Pháp và Ý. Thế nhưng, dự phòng lâu dài với globulin miễn dịch chống lại HBsAg có hiệu quả cao hơn. Tỷ lệ sống sót sau 5 năm và 10 năm ở 76 người ghép gan nhiễm HDV ở Paris là 88%, và các kết quả ở Ý (Torino) thì tuyệt vời; 45 người nhiễm HDV nhận gan ghép còn sống và không có người nào chết trong thời gian theo dõi 5-10 năm.

Ngoài ra, ghép gan là một mô hình độc đáo cho việc nghiên cứu sinh học và bệnh học nhiễm HDV. Xét nghiệm virut học đã cho thấy tái phát VG D trong gan ghép có thể xác định nhiễm virut dưới lâm sàng độc lập với nhiễm HBV lâm sàng và sự cộng tác với HBV là cần thiết cho biểu hiện bệnh. Tái phát bệnh được báo trước bởi sự sao chép HDV tăng theo hàm số mũ sau khi tái hoạt hóa HBV đầy đủ.

Các mẫu gan từ 9 người nhận ghép có VG D tái phát, nhờ đó việc nghiên cứu mô học đầy đủ đã được thực hiện và đã được khảo sát chi tiết. Trong khi 4 BN có tăng ALT báo động sự trở lại của VG D tương ứng với tổn thương hoại tử viêm, 5 BN mô học tương ứng với không có hiện tượng viêm hoặc với một hội chứng VG cấp (tổn thương thoái hóa tế bào gan gồm có thoái hóa giống quả bóng, thoái hóa mỡ vi thể và đại thể và các thay đổi bạch cầu ưa axit đến nguyên sinh chất). Ngược lại, đối với kiểu HBV tái phát trong nhóm đầu gồm nhiễm HBV sao chép kèm theo đầy đủ các dấu ấn HBV, kiểu tái nhiễm HBV được thấy ở các BN sau là không điển hình: không có HBV DNA trong huyết thanh và HBcAg trong gan. Bốn trong 5 BN này, nhiễm HBV chuyển đảo thành kiểu sao chép điển hình trong một ít tuần, và đồng thời mô học chuyển thành hình ảnh hoại tử viêm điển hình của VG virut. Tuy các thay đổi gây bệnh tế bào có thể kèm theo các hội chứng VG cấp không do virut khác như gan thấm mỡ thai kỳ, hội chứng Reye, và ngộ độc tetracyclin và axit valproic, chúng cũng có một đặc trưng riêng của nhiễm HDV người, gây ra VG kịch phát ở các vùng nhiệt đới. Các thay đổi thoái hóa tương tự liên quan đến VG D ở người Indians sống ở lưu vực Amazon. Trong khung cảnh này, các thay đổi thoái biến sớm xác định đặc điểm của bệnh nhưng không gặp trong các trường hợp tiến triển đến mạn tính. Ở những người được ghép gan, kiểu mô học bất thường liên quan đến sự tổng hợp HBV không hoàn toàn, có lẽ gây ra từ vài tương tác ức chế của chu kỳ sao chép HDV trên chu kỳ sao chép HBV. Rizzetto và cs giả định rằng, bằng kết quả của tương tác này, biểu hiện kháng nguyên HBV nucleocapsit bị thủ tiêu và phản ứng miễn dịch vật chủ đối với virut bị hủy bỏ. Thế nên, các thay đổi gây bệnh tế bào liên quan đến một hiệu quả trực tiếp của HDV. Tuy nhiên, trong hầu hết người nhận ghép gan, sự ức chế HBV chỉ tạm thời, nhiễm virut mẫu ghép nhanh chóng lấy lại độc tính virut với biểu hiện của HBcAg và sự cảm ứng của phản ứng gây độc tế bào bạch cầu.

Tóm lại, điều trị nội khoa VG D mạn hiện nay còn dựa vào IFN, dùng với liều cao (9 đến 10 MU 3 lần một tuần) đối với những BN bệnh gan còn bù tốt và ngay khi bệnh HDV mạn được chẩn đoán. Điều trị phải kéo dài đến 12 tháng vì đáp ứng qua thải trừ HDV RNA và bình thường hóa ALT có thể chậm và đôi khi xảy ra sau khi chấm dứt điều trị. Đáp ứng được duy trì nếu có thải trừ HBsAg trong huyết thanh. Các BN được điều trị cần được theo dõi cẩn thận nhằm phát hiện sớm các biến chứng nội khoa và tâm thần.

BN với xơ gan mất bù phải được cân nhắc trong vấn đề ghép gan. Cũng giống như các trường hợp bệnh do virut khác, ghép gan thường có nguy cơ tái nhiễm cao (80%). Tuy nhiên, nguy cơ này giảm nhiều (chỉ còn 16-25%) nếu được bảo vệ với huyết thanh tăng miễn dịch chống HBsAg. Hơn nữa, tái nhiễm kèm theo tái phát VG D trong chỉ phân nửa các trường hợp, và sự tái phát VG D thường là thể nhẹ.

9.3.3. Tái nhiễm trong ghép gan

Ghép gan là một chọn lựa hiệu quả trong các BN suy gan do HDV. Có đủ bằng chứng cho thấy ghép gan đúng vị trí sẽ chữa lành tất cả những người nhận nhiễm HDV nếu dự phòng anti-HBIg chuẩn được cung cấp sau phẫu thuật cho những người nhận gan ghép với nguy cơ thấp (gần như bằng 0) của tái nhiễm mảnh ghép hơn là nhiễm HBV thông thường, và tỷ lệ sống sót lâu dài khá tốt.

Các gợi ý ban đầu mà bệnh cảnh ghép gan có thể là một kiểu nhiễm HDV phụ (nhiễm virut tiềm tàng) có các đặc điểm virut học khác nhau đã không được xác định. Vào thời điểm đó, việc dùng các xét nghiệm lai đối với HDV RNA và HBV DNA, các mặt bằng virut học của tái nhiễm HDV theo sau việc ghép gan cho thấy vượt quá 50%, HDV xuất hiện trong mảnh ghép sớm nhưng không kèm theo HBV. Sự quan sát này, cùng với việc phát hiện tình trạng virut huyết HDV trước khi xuất hiện các dấu ấn HBV đã dẫn đến việc cho rằng HDV có lẽ không luôn luôn cần đến HBV, mà tồn tại một dạng tiềm tàng và bị lộ diện do nhiễm HBV sau đó. Phân tích hiện nay, dùng xét nghiệm nested-PCR nhạy cảm cao đối với cả hai virut (HDV và HBV) cho thấy cả hai đồng hiện diện trong huyết thanh, và rằng hạt xuất hiện sau mảnh sau ghép có các đặc điểm tỷ trọng cesium chloride (CsCl) tương tự của virion hiện diện trước khi ghép.

10. DỰ PHÒNG

Không có vacxin nào hiệu quả có thể chống lại nhiễm HDV. Do tình trạng HDV tồn tại phải nhờ vào vỏ ngoài của HBV, nhiễm HDV có thể tránh được bằng cách phòng nhiễm HBV, và vì thế chủng ngừa HBV sẽ ngừa được HDV. BN nhiễm HBV mạn phải được khuyên rằng họ sẽ có nguy cơ nhiễm HDV do tiêm chích ma túy hoặc hành vi tình dục bừa bãi.

Chương trình chủng ngừa cộng đồng chống HBV đang thực hiện trong nhiều quốc gia khắp thế giới, gồm cả một số nước mà ở đó nhiễm HDV phổ biến một cách đặc biệt, như các quần đảo ở Thái Bình Dương, một vài vùng miền Nam Mỹ, Đài Loan và hiện nay là Rumania. HDAg tái tổ hợp hiện đã có và được dùng để thử thách và ngăn ngừa nhiễm HDV trong các động vật thí nghiệm mà không thành công. Nhiều nghiên cứu gần đây với vacxin tái tổ hợp có lồng vào HDV đã cho thấy phương pháp tiêm phòng này có thể gây ra mẫn cảm tế bào T gây độc tế bào và có khả năng kiểm soát mức độ virut huyết của HDV.

11. TÓM TẮT

Nhiễm HDV chỉ xảy ra ở những người có nhiễm HBV. Nhiễm VG D cấp thường gây ra VG nặng hoặc kịch phát hơn những trường hợp nhiễm HBV đơn thuần. Cũng thế, VG delta mạn thường gây tiến triển nhanh đến xơ gan và suy gan. Tuy nhiễm HDV thường kết hợp với các thể VG nặng và tiến triển, có nhiều biến đổi trong hậu quả và sự tiến triển tự nhiên của nhiễm HDV hiện nay đã được biết. Mặc dầu tần suất HDV đã giảm xuống trên thế giới, VG virut D tiếp tục là một vấn đề sức khỏe quan trọng có bệnh suất và tử suất đáng kể. HDV hiện vẫn còn là nguyên nhân chính yếu của VG nặng hoặc kịch phát ở các nước đang phát triển và VG mạn tiến triển nhanh ở các nước công nghiệp hóa. Các ổ dịch lưu hành mới và các thể lâm sàng mới tiếp tục xuất hiện trong các bệnh cảnh dịch tễ khác nhau. Trong những năm gần đây, các tiến bộ quan trọng về sinh học phân tử đã góp phần vào việc xác định ba kiểu gen chính của HDV và sự hiểu biết về chu kỳ sống của HDV. Các đặc tính hiệu chỉnh RNA có thể giải thích về sinh bệnh học và mức độ trầm trọng của tổn thương gan. Các nghiên cứu về dịch tễ học và quá trình tự nhiên của VG D đã làm sáng tỏ các kiểu truyền nhiễm và các bệnh cảnh lâm sàng của nhiễm HDV. Các yếu tố có khả năng dự báo về hậu quả lành tính hoặc trầm trọng của VG delta mạn có thể được xác định. Ghép gan là phương pháp điều trị khá tốt cho các BN suy gan do HDV.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. **Monjardino J; Lai MMC**. Hepatitis D virus. Structure and Molecular Virology. In Zuckerman AJ, Thomas HC, editors. Viral Hepatitis. 2nd ed. London. Churchill Livingstone; 1998: 359-69
2. **Di Bisceglie AM**. Hepatitis D virus. Epidemiology and Diagnosis. In Zuckerman AJ, Thomas HC, editors. Viral Hepatitis. 2nd ed. London. Churchill Livingstone; 1998: 371-78
3. **Conjeevaram HS; Di Biscrglie AM**. Hepatitis D virus. Natural History. In Zuckerman AJ, Thomas HC, editors. Viral Hepatitis. 2nd ed. London. Churchill Livingstone; 1998: 379-85
4. **Rizzetto M; Rosina F**. Hepatitis D virus. Treatment of Hepatitis D. In Zuckerman AJ, Thomas HC, editors. Viral Hepatitis. 2nd ed. London. Churchill Livingstone; 1998: 387-93
5. **Smedile A; Verme G**. Hepatitis D Virus: Biology, Pathogenesis, Epidemiology, Clinical Description, and Therapy. In S. Specter editor. Viral hepatitis: Diagnosis, Therapy, and Prevention.Totowa, NJ. Humana Press Inc. 1999:7-33.
6. **Ottobrelli-A; Marzano-A; Smedile-A; Recchia-S; Salizzoni-M; Cornu-C; Lamy-ME; Otte-JB; De-Hemptinne-B; Geubel-A; et-al**. Patterns of hepatitis delta virus reinfection and disease in liver transplantation. Gastroenterology. 1991 Dec; 101(6): 1649-55.
7. **Hadler-SC; Alcala-de-Monzon-M; Bensabath-G; Martinez-Duran-M; Schatz-G; Fields-HA**. Epidemiology of hepatitis delta virus infection in less developed countries. Prog-Clin-Biol-Res. 1991; 364: 21-31

8. **Phạm Song; Đào Đình Đức, Bùi Hiền**. Đánh giá bước đầu căn nguyên VG virut ở Việt Nam. Nghiên cứu lâm sàng căn nguyên học VG virut (1992-1996). Đề tài KY 01-09. 04/1996.

9. **Châu Hữu Hầu, Hà Văn Tâm, Phạm Ngọc Đính, Đoàn Huy Hậu**. Tình trạng nhiễm virut VG lây truyền ngoài đường tiêu hóa (HBV, HDV, HCV) ở cộng đồng dân cư huyện Tân Châu, tỉnh An Giang.

10. **CDC**. Hepatitis D (Delta) Virus. May 1, 2000. Available from: URL: http://www.cdc.gov/ncidod/diseases/hepatitis/d/hep00056.htm.

11. **Arico-S; Aragona-M; Rizzetto-M; Caredda-F; Zanetti-A; Marinucci-G; Diana-S; Farci-P; Arnone-M; Caporaso-N; et-al**. Clinical significance of antibody to the hepatitis delta virus in symptomless HBsAg carriers. Lancet. 1985 Aug 17; 2(8451): 356-8.

12. **Hadler-SC; Alcala-de-Monzon-M; Rivero-D; Perez-M; Bracho-A; Fields-H**. Epidemiology and long-term consequences of hepatitis delta virus infection in the Yucpa Indians of Venezuela. Am-J-Epidemiol. 1992 Dec 15; 136(12): 1507-16.

13. **Bortolotti-F; Di-Marco-V; Vajro-P; Crivellaro-C; Zancan-L; Nebbia-G; Barbera-C; Tedesco-M; Craxi-A; Rizzetto-M**. Long-term evolution of chronic delta hepatitis in children. J-Pediatr. 1993 May; 122(5 Pt 1): 736-8.

14. **Hsu SC; Syu Wj; Ting LT; Wu Jc**. Immunohistochemical differentiation of hepatitis D virus genotypes. Hepatology 2000; 32:1111-1116.

Chương 23

VIÊM GAN B VÀ D Ở NGƯỜI NHIỄM HIV

Trang

1. ĐỒNG NHIỄM HBV VÀ HIV 635
1.1. Dịch tễ học của đồng nhiễm HIV và HBV 635
1.2. Bệnh học miễn dịch 636
1.3. Hậu quả lâm sàng 637
1.3.1. Nhiễm virut cấp 637
1.3.2. Nhiễm virut mạn 638
1.4. Đáp ứng đối với điều trị 639
1.4.1. Interferon (IFN) 639
1.4.2. Các chất tương tự nucleosit 639
1.5. Dự phòng 640
2. ĐỒNG NHIỄM HDV VÀ HIV 640
2.1. Dịch tễ học 640
2.2. Bệnh học miễn dịch 640
2.3. Điều trị 641
3. VG B ở người nhiễm HIV tại Việt Nam 641
4. TÓM TẮT 642
TÀI LIỆU THAM KHẢO 642

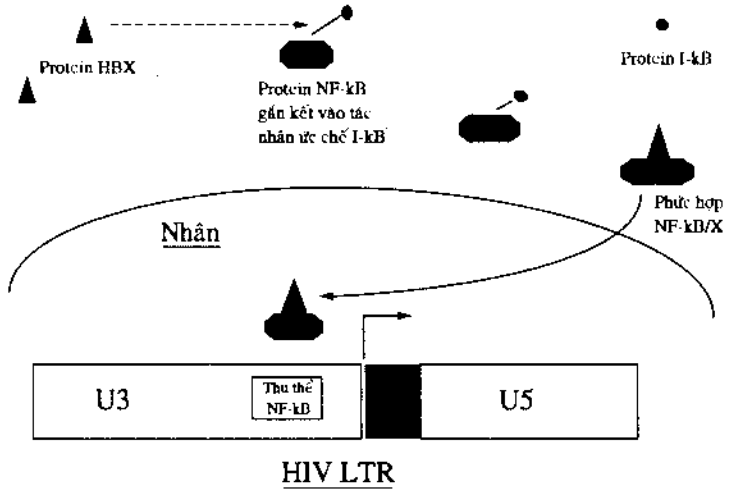
1. ĐỒNG NHIỄM HBV VÀ HIV

Có nhiều mối liên quan dịch tễ học và lâm sàng đáng kể giữa virut suy giảm miễn dịch người (HIV) và các virut hướng gan. Nhiễm virut hướng gan thường thay đổi theo đường lây truyền và nhóm nguy cơ. Nhiễm HIV có thể làm thay đổi bệnh lý miễn dịch cũng như biểu hiện lâm sàng của VG B xảy ra trước, đồng thời hoặc sau nhiễm HIV. Các thay đổi bệnh lý ngày càng tăng lên với thời gian sống của các BN nhiễm HIV hiện nay đã được cải thiện nhiều.

1.1. DỊCH TỄ HỌC CỦA ĐỒNG NHIỄM HIV VÀ HBV

HIV và HBV có cùng đường truyền nhiễm, và bởi thế đồng nhiễm thường xảy ra. Trong một nghiên cứu, hơn 90% các BN nhiễm HIV có các dấu ấn HBV của nhiễm virut hiện nay hoặc trong quá khứ.

1.2. BỆNH HỌC MIỄN DỊCH

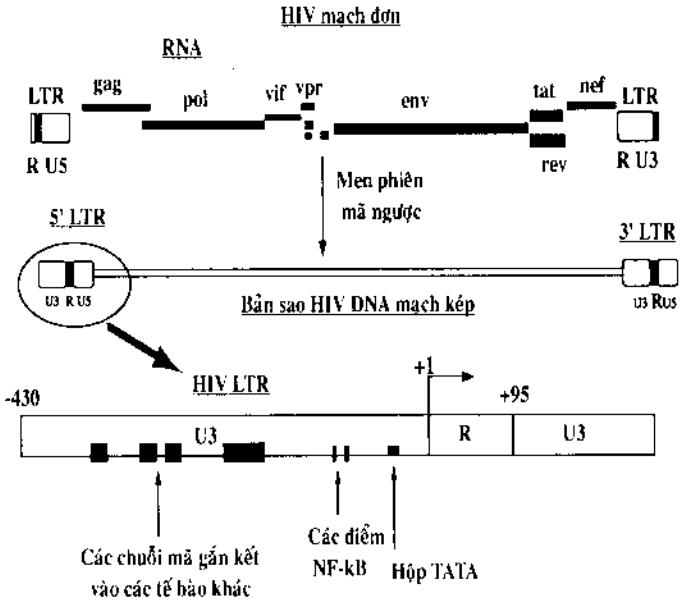


Hình 23-1. *Bộ gen HBV và các điểm gen khởi đầu trên đoạn lặp lại tận cùng HIV (LTR)*

Tương tác trực tiếp của nhiễm virut ở mức độ tế bào cần cả 2 virut gây nhiễm và sao chép bên trong các dòng tế bào. Phân tích các tế bào dạng lympho ở các BN nhiễm HBV mạn cho thấy HBV DNA hiện diện trong các tế bào đơn nhân máu ngoại vi của tất cả BN nhiễm HIV và HBV, nhưng chỉ hiện diện trong 50% các trường hợp HIV(-).

Các mô hình thí nghiệm cho thấy HIV có thể gây nhiễm và sao chép bên trong các tế bào nội bì hình sin và các tế bào Kupffer biểu hiện CD4. Các thay đổi chức năng cũng đã được mô tả dẫn đến việc giảm tổng hợp yếu tố von Willebrand và giảm bài tiết endothelin-1. Các dòng tế bào ung thư gan người, không biểu hiện CD4, cũng có thể bị nhiễm HIV. Tuy gan to, thoái hóa mỡ và các giá trị transaminase bất thường hay gặp trong nhiễm HIV, hiện đang nghiên cứu có phải do tác dụng trực tiếp của HIV lên tế bào gan hay không.

Các tương tác trực tiếp ở mức độ phân tử có thể xảy ra. Thí dụ như sự lập lại ở đầu tận dài (LTR =long termino repeat) của bộ gen HIV, có nhiều trình tự trong đó các yếu tố phiên mã tế bào có thể gắn và điều hòa biểu hiện của các gen virut. Một yếu tố phiên mã NF-kB, thường gắn vào một biểu vị ức chế I-kB bên trong nguyên sinh chất và trên sự hoạt hóa được phân chia từ I-kB, đi qua nhân và gắn vào LTR. Các cytokin như yếu tố hoại tử u α (α-TNF) có thể làm giảm NF-kB và sản phẩm gen X của HBV cũng có thể tác dụng theo một con đường tương tự. Các nghiên cứu về ung thư tế bào gan và các dòng tế bào T nguyên bào lympho đã cho thấy gen X có khả năng điều hòa biểu hiện của các gen "thông báo" (reporter) dưới sự kiểm soát của HIV LTR.



Hình 23-2. *Mối liên quan giữa NF-kB và protein HBx*

Nhiễm HIV làm suy giảm dần chức năng miễn dịch, ảnh hưởng chủ yếu lên đáp ứng qua trung gian tế bào, nhưng cũng có ảnh hưởng lên đáp ứng thể dịch. Nhiều tổn thương gan trong VG B được cho là liên quan đến việc nhận biết và thải trừ các tế bào gan nhiễm virut bằng các tế bào T gây độc tế bào. Sự giảm chức năng và số lượng tế bào T qua trung gian HIV làm tăng sao chép HBV và làm các tế bào gan nhiễm virut giảm nhận biết miễn dịch. Một kiểu tương tự được gặp ở các BN nhiễm HBV đang điều trị ức chế miễn dịch. Các nghiên cứu đã chứng minh khi ức chế miễn dịch phát triển do HIV, HBV DNA tăng lên nhưng transaminase lại giảm và số điểm viêm hoại tử gan cũng giảm.

1.3. HẬU QUẢ LÂM SÀNG

1.3.1. Nhiễm virut cấp

Vào những năm 1980, phân tích hồi cứu của CDC về vacxin HBV đa trung tâm đã mang lại các số liệu giá trị về tương tác giữa HBV và HIV. Ở những người không tiêm phòng, nguy cơ mang HBV mạn là 21% khi có nhiễm HIV so với 7% ở những người HIV(-). Thời gian trung bình của nhiễm HIV trước khi nhiễm HBV khoảng 8,5 tháng. Ở cả hai nhóm, giá trị transaminase đều cao nhưng ở nhóm HIV(+) có thời gian tăng cao (>200 UI/l) kéo dài hơn. Trong một nghiên cứu ở Australia, nguy cơ nhiễm HBV mạn là 23% (7/31) ở những người HIV(+), so với 4% (2/46) ở những người HIV(-). Các BN nhiễm HIV với số lượng CD4 cao có nhiều khả năng làm sạch virut VG B hơn các trường hợp có số lượng CD4 thấp.

1.3.2. Nhiễm virut mạn

Trong nghiên cứu của Goldin và cs, các điểm hoại tử VG trong sinh thiết gan từ các BN nhiễm HBV có hay không có nhiễm HIV được so sánh. Biểu hiện của HBeAg và HBV polymerase lớn hơn nhưng giảm hoại tử viêm và xơ hóa được thấy trong nhóm HIV(+). Các nghiên cứu lâm sàng về tương tác HIV và HBV thường khó thực hiện do thiếu các dữ liệu xác định thời gian tương đối của hai bệnh nhiễm virut. Trong một nghiên cứu ở Na Uy, 80 người nhiễm HIV được giám sát và kết quả của những người có kháng thể anti-HBc được so sánh với những người anti-HBc(-). Nguy cơ tương đối của diễn tiến AIDS là 3,6 ở những người có các dấu ấn nhiễm HBV. Tuy nhiên, trong nghiên cứu đa trung tâm về AIDS, nhiễm HBV không có tác dụng ý nghĩa trên tiến trình AIDS sau 2,5 năm.

Bảng 23-1. Tác dụng của HIV trên người nhiễm HBV

Các tác dụng	Tác giả
Làm tăng tình trạng mang mạn tính sau nhiễm virut cấp	Hadler và cs, Bodsworth và cs
Bệnh cấp tính nhẹ hơn	Bodsworth và cs
Bệnh cấp tính nặng hơn với transaminitis kéo dài	Hadler và cs
Nồng độ HBV DNA cao hơn	Krogsgaard và cs, Perrillo và cs, Bodsworth và cs, Goldin và cs
Giảm hoại tử tế bào gan	Krogsgaard và cs, Perrillo và cs, Bodsworth và cs, Goldin và cs
Đáp ứng kém đối với điều trị	Collier và cs, Loke và cs
Đáp ứng giảm đối với điều trị	McDonald và cs, Brook và cs
Nguy cơ tái hoạt, tái nhiễm HBV tăng	Levy và cs

Tuy vậy, đã có nhiều báo cáo về sự tái hoạt HBV quan trọng về mặt lâm sàng ở những người nhiễm HIV. Các đợt tái hoạt tương tự đã được mô tả ở các BN đang điều trị ức chế miễn dịch, nhưng xảy ra chủ yếu vào lúc ngừng điều trị. Tái hoạt cũng song song với bệnh gan sau nhiễm virut của gan được ghép. Sau ghép gan, sự tái hoạt HBV có thể kết hợp với sự phát triển VG ứ mật xơ hóa và bệnh cảnh này hiện nay đã được ghi nhận ở các BN đồng nhiễm HIV và HBV. Cơ chế của tái hoạt HBV trong nhiễm HIV chưa được hiểu rõ và hình như không liên quan đến các thay đổi về số lượng CD4 hoặc các thay đổi định lượng khác trong chức năng miễn dịch. Suy giảm mức độ anti-HBs được thấy trong nhiễm HIV, được cho là do thay đổi trong đáp ứng dịch thể và có thể làm tổn thương gan nặng lên.

Cẩn thận trong khi chẩn đoán một BN nhiễm HIV và HBV phát triển bùng phát các mức độ transaminase. Tuy nhiên, HBeAg có thể âm và chẩn đoán thường phụ thuộc vào việc loại trừ các nguyên nhân bệnh gan khác, bằng việc phát hiện các mức độ HBV DNA hoặc qua các sinh thiết gan được nhuộm miễn dịch mô hóa học thích hợp.

1.4. ĐÁP ỨNG ĐỐI VỚI ĐIỀU TRỊ

1.4.1. Interferon (IFN)

Các thử nghiệm interferon trước đây với nhiễm HBV mạn rõ ràng là ức chế miễn dịch cơ bản làm giảm đáp ứng kéo dài. Hiện nay, nhiều nghiên cứu đã xác định một đáp ứng thành công với interferon sẽ làm giảm đáng kể bệnh cảnh nhiễm HIV. Điều chưa rõ là đáp ứng kém với interferon do giảm chức năng tế bào T hay môi trường cytokin bất thường trong nhiễm HIV với các mức interferon axit không bền cao, quá trình điều hòa lặn bớt của các thụ thể α-interferon, hoặc do sự hiện diện của các kháng thể interferon. Trong một nghiên cứu so sánh tác dụng của đơn điều trị interferon với sự kết hợp corticoit và interferon, 2 trong 3 BN HIV(+) trong nhóm kết hợp thải trừ HBV. Cả 2 BN này có lượng CD4 lớn hơn 500/mm^3.

1.4.2. Các chất tương tự nucleosit

Cả hai virut HIV và HBV đều có hoạt tính men phiên mã ngược. Zidovudin, chất ức chế men phiên mã ngược, có tác dụng ức chế sao chép HIV *in vitro* và *in vivo*. Tuy zidovudin cũng có tác dụng ức chế virut VG B vịt (DHBV) *in vitro*, nhưng các kết quả thử nghiệm lâm sàng lại đáng thất vọng. Trong nghiên cứu của Gilson, 14 BN nhiễm HIV và HBV dùng zidovudin không có thay đổi về mức độ HBV DNA trong 16 tuần điều trị.

Lamivudine, 3'-thiacytidin, là một chất tương tự deoxynucleosit và ức chế men phiên mã ngược, được nghiên cứu lúc đầu như một tác nhân kháng HIV. Các thí nghiệm *in vivo* cho thấy thuốc hiệu nghiệm chống hepadnavirut và độc tính thấp qua việc sử dụng lamivudine lâu dài trong các thử nghiệm ở BN nhiễm HIV đã dẫn đến các nghiên cứu trong BN HBV mạn. Có thể đơn điều trị kéo dài với lamivudine làm mất HBV. Lamivudine được dùng ngày càng nhiều phối hợp với các chất tương tự nucleosit khác và các chất ức chế protease như trong điều trị nhiễm HIV mạn. Phương pháp này cũng có lợi cho các BN nhiễm HIV trên nền nhiễm HBV mạn. Đơn điều trị lamivudine trên nhiễm HIV làm nhanh chóng phát triển các chủng kháng thuốc và có thể tiên lượng dùng đơn điều trị lamivudine kiểm soát sao chép HBV sau ghép gan đã làm phát triển các chủng HBV kháng thuốc. Phải chăng điều này cũng sẽ xảy ra ở các BN nhiễm HIV điều trị bằng lamivudine, tuy đa số BN được điều trị kết hợp với các chất tương tự nucleosit khác, làm giảm phát triển các chủng HBV kháng thuốc.

Famciclovir cũng có tác dụng ức chế sao chép HBV và có thể ích lợi trên BN nhiễm HIV trên nền HBV mạn. Famciclovir, với tác dụng ức chế sao chép virut herpes simplex và virut varicelle zoster, cũng có lợi trên các BN nhiễm HIV tiến triển và sự tái hoạt hay gặp trong nhiễm virut này.

1.5. DỰ PHÒNG

Sau khi chủng ngừa vacxin VG B, 90-95% người lớn có kháng thể anti-HBs ở mức bảo vệ. Đáp ứng kém hơn ở những người có bệnh mạn tính như suy thận và đáp ứng cũng giảm ở những người nhiễm HIV. Các mức độ của 2 kháng thể anti-HBs mắc phải tự nhiên và sau tiêm phòng cũng được thấy giảm khá nhanh ở BN nhiễm HIV.

Trong một nghiên cứu mô tả bởi Carne và cs, chủng ngừa HBV cho 35 người đồng tính nam và chỉ có 1 trong 18 người nam HIV(-) không phát triển đáp ứng kháng thể, trong khi 8/17 trong nhóm HIV(+), không đáp ứng. Một nghiên cứu cho thấy tỉ lệ nhiễm virut mạn cao ở những người nhiễm HIV đã được chủng vacxin vào lúc bắt đầu nhiễm HBV.

2. ĐỒNG NHIỄM HDV VÀ HIV

2.1. DỊCH TỄ HỌC

Cũng như HCV, nhiễm virut VG D (HDV) không phải chủ yếu qua đường tình dục. Sự phối hợp của nhiễm HIV và HDV chủ yếu được thấy ở những người nhiễm virut qua tiêm chích ma túy hoặc phơi nhiễm với các sản phẩm máu nhiễm virut.

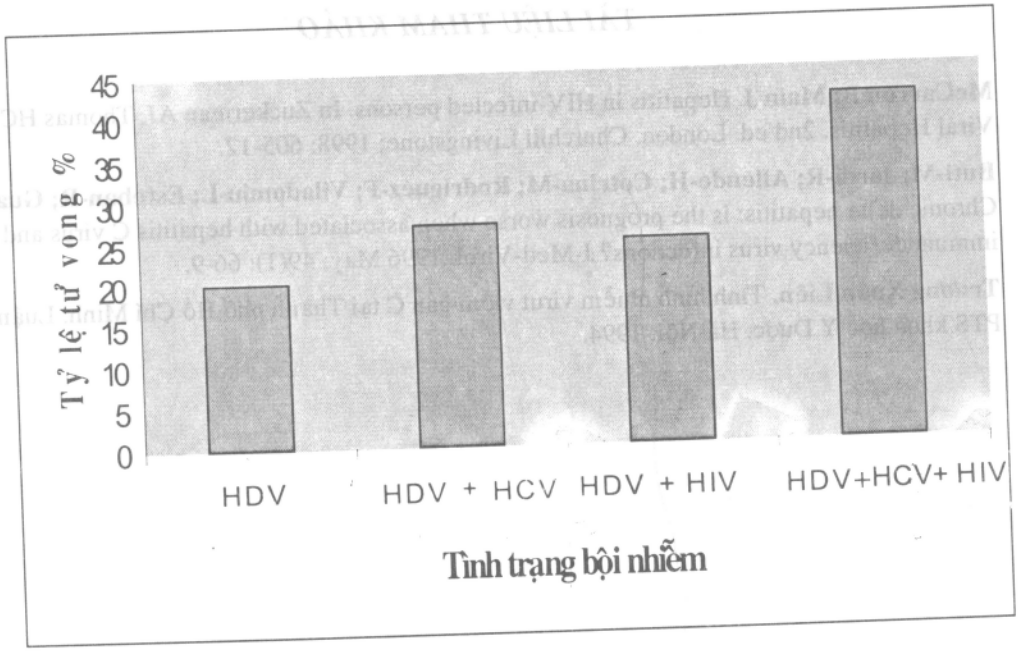
2.2. BỆNH HỌC MIỄN DỊCH

HDV được cho là có tác dụng gây bệnh trực tiếp trên tế bào gan và bệnh gan thường tiến triển khá nhanh khi có ức chế miễn dịch.

Bình thường HDV có tác dụng ức chế sao chép HBV, nhưng một vài thông báo cho thấy tác dụng này bị mất khi đồng nhiễm HIV. HDV được cho là có thể ức chế sao chép HCV ở các BN nhiễm HIV. Trong một nghiên cứu cắt ngang, 15 BN nhiễm HIV và HDV so sánh với 29 BN chỉ nhiễm HDV, xác nhận HIV làm giảm tác dụng ức chế của HDV trên sao chép HBV nhưng không có tác động tới tình trạng nhiễm HIV trên sao chép HDV và không làm tăng mức độ trầm trọng của bệnh gan ở những người nhiễm HIV và HBV.

Trong một nghiên cứu, 86 BN được theo dõi 6,5 năm về diễn tiến mô học, virut học và dịch tễ học của nhiễm virut delta mạn và sự liên quan của bệnh này với bội nhiễm HCV hoặc HIV hoặc cả hai. BN được chia làm 4 nhóm tùy theo tình trạng bội nhiễm. Tuy 52 BN vẫn không có triệu chứng, 34 phát triển rối loạn chức năng gan và 28 BN sau đó chết vì suy gan và một được ghép gan, 10 BN chết vì AIDS và 2

BN chết vì các nguyên nhân không có liên quan. Tử vong được ghi nhận ở 4/20 BN trong nhóm chỉ nhiễm HDV đơn thuần, 3/11 BN đồng nhiễm với HCV, 3/12 BN có HIV và 18/43 BN đồng nhiễm HCV và HIV. Thời gian sống sót được cải thiện ở các BN nhiễm HIV, suy gan có thể thường thấy hơn ở những người đồng nhiễm HCV và HDV. Với diễn tiến của nhiễm HIV, các kháng thể anti-HDV có thể không phát hiện được và góp phần làm phức tạp thêm chẩn đoán nhiễm HDV trong các BN này. Kết quả này cho thấy VG delta mạn là một bệnh nặng, nhất là ở những người tiêm chích ma túy có nhiễm HCV và/hoặc HIV.



Hình 23-3. *Tỷ lệ tử vong nhiễm HDV mạn khi bội nhiễm với HCV và/hoặc HIV.*

2.3. ĐIỀU TRỊ

Dùng interferon ở các BN VG D không đồng nhiễm HIV có tỷ lệ thành công khá thấp, và ở các BN đồng nhiễm HIV và HDV lại có rất thông tin. Lamivudine với tác dụng ức chế trên sao chép HDV hình như có giá trị trên những BN đồng nhiễm HDV và HIV.

3. VG B Ở NGƯỜI NHIỄM HIV TẠI VIỆT NAM

Theo Trương Xuân Liên, trong 38 người nhiễm HIV, chỉ có 5 người có HBsAg(+), chiếm tỷ lệ 13,2%; trong khi tỷ lệ mang HBsAg ở cộng đồng người bình thường là 11,3%, khác biệt không có ý nghĩa thống kê. Cũng theo tác giả này, người nhiễm HIV lại có kháng thể anti-HCV lên tới 72,7%.

4. TÓM TẮT

Có nhiều mối liên quan dịch tễ học và lâm sàng giữa HIV và các virut hướng gan, trong đó có HBV và HDV. Nhiễm virut hướng gan thường thay đổi theo đường lây truyền và nhóm nguy cơ. Nhiễm HIV có thể làm thay đổi bệnh lý miễn dịch cũng như biểu hiện lâm sàng của HBV và HDV xảy ra trước, đồng thời hoặc sau nhiễm HIV. Hiện nay, các trường hợp nhiễm HIV cùng với HBV, HDV có tỷ lệ sống được cải thiện nhiều nhờ vào các tiến bộ mới trong điều trị virut.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. **McCarron B; Main J.** Hepatitis in HIV-infected persons. In Zuckerman AJ, Thomas HC, editors. Viral Hepatitis. 2nd ed. London. Churchill Livingstone; 1998: 605-12.
2. **Buti-M; Jardi-R; Allende-H; Cotrina-M; Rodriguez-F; Viladomiu-L; Esteban-R; Guardia-J.** Chronic delta hepatitis: is the prognosis worse when associated with hepatitis C virus and human immunodeficiency virus infections? J-Med-Virol. 1996 May; 49(1): 66-9.
3. **Trương Xuân Liên.** Tình hình nhiễm virut viêm gan C tại Thành phố Hồ Chí Minh. Luận Án PTS khoa học Y Dược. Hà Nội. 1994.

THUẬT NGỮ CHUYÊN MÔN SỬ DỤNG TRONG CUỐN SÁCH

activation: sự hoạt hóa
activity: hoạt tính
adoptive immunotherapy: liệu pháp miễn dịch tế bào, liệu pháp miễn dịch nhận nuôi
adoptive transfer chuyển giao miễn dịch cho người nhận
aggregate kết cụm, kết tụ
alpha-helix: chuỗi xoắn alpha
aminoterminal: đầu tận cùng có nhóm amin
amplification: khuếch đại
analog: chất tương tự
annealing: sự bắt cặp của dây DNA đơn với đoạn mồi để hình thành thể dây quấn đôi.
antidromic ngược dòng
antisense RNA: RNA ngược hướng, dây đối mã
apoptosis: hiện tượng chết tế bào hàng loạt
artefact giả tượng, hình giả
assembly: lắp ráp, quần tụ
attenuation: sự thuyên giảm
autologous: tự thân
autoradiography: chụp phóng xạ tự ghi, kỹ thuật phát hiện các phân tử có đánh dấu phóng xạ thông qua hiệu ứng tạo ảnh của các phân tử này trên một phim chụp ảnh
baboon: khỉ mõm chó
base pairing: sự bắt cặp bazơ, là sự liên kết A-T hoặc C-G trên một phân tử DNA mạch kép và là một đơn vị đo chiều dài của một phân tử DNA
buoyant density: tỷ trọng nổi
cap: mũ chụp, nhóm 7-methyl guanine gắn vào base đầu tiên của các mRNA qua liên kết 5'-5' triphosphate
capsid: vỏ protein bảo vệ axit nucleic của virut, capsid có thể có đối xứng xoắn ốc hoặc hình khối 20 mặt và được tạo thành bằng các đơn vị cấu trúc, hoặc capsomer. Tùy theo số các tiểu đơn vị có trong capsomer, chúng có thể được gọi là dimer, trimer, pentamer hoặc hexamer.
cDNA: DNA bổ trợ còn gọi là DNA bản sao, DNA tổng hợp sao chép từ một RNA chuyên biệt nhờ men phiên mã ngược.
cell culture: nuôi cấy tế bào
centromere: đoạn trung tâm, tâm động
chain-initiation codons: đơn vị mã mở đầu chuỗi. Các đơn vị mã như AUG hoặc GUG xuất hiện khi bắt đầu của các chuỗi mã mRNA mã hóa cho các chuỗi polypeptid.

chain-termination codons: ba đơn vị mã UAA, UAG và UGA chấm dứt sự tổng hợp chuỗi polypeptide và phóng thích chuỗi này khỏi ribosome. Cũng còn được gọi là các đơn vị mã vô nghĩa.

Challenge: thử thách bằng cách đưa một chất hóa học vào bệnh nhân để quan sát đáp ứng sinh lý bình thường, hoặc đưa một kháng nguyên vào cơ thể để tạo đáp ứng miễn dịch cho một cá thể đã được mẫn cảm trước đây.

chimeric: dị chủng, dị thường

chimpanzee: hắc tinh tinh

chromatid: thanh nhiễm sắc, đơn thể nhiễm sắc (phân nửa dọc của thể nhiễm sắc, nhiễm sắc tử)

cis acting: tác động cùng bên, chuỗi mã trên một phân tử DNA có tác động (điều hòa) đến các chuỗi mã khác trên cùng phân tử DNA đó; các chuỗi mã cis không mã hóa cho protein

cistron: đơn vị chức năng di truyền, tương đương với gen

clearance: thải trừ

cleavage: phân cắt

clone: dòng vô tính, hệ vô tính. Tập hợp các tế bào giống hệt nhau cùng bắt nguồn từ một tế bào ban đầu

codon: đơn vị mã. Bộ ba nucleotit mã hóa cho một aa hay cho một "dấu hiệu" bắt đầu hay chấm dứt dịch mã.

coil: vòng xoắn, cuộn

colinear: đẳng tuyến

compartment: ngăn, ô

competence: khả năng dung nạp

conformation: dạng, vẻ ngoài, ngoại hình

conjugation: giao nạp

consensus motif: loại hình đồng thuận (nhất trí)

consensus sequence: chuỗi mã nhất trí, trong đó mỗi nucleotit tương ứng với nucleotiti thường gặp nhất khi so sánh nhiều chuỗi mã cùng loại

conservative DNA replication: sự sao chép DNA theo kiểu bảo tồn cao

conserved motif: loại hình bảo tồn

contamination: sự lây bệnh

conversion: chuyển hoán, biến đổi

culture: nuôi cấy

cytoplasm: bào tương

deficiency: đột biến mất đỉnh, do đứt và không dính lại .

deletion: đột biến mất đoạn, do vòng và đứt dọc

denaturation: biến tính. Biến tính trong trường hợp của DNA và RNA là sự chuyển từ mạch kép sang mạch đơn thường do nhiệt. Sự biến tính của protein là sự chuyển từ dạng hoạt động thành dạng bất hoạt

determinant: yếu tố quyết định, yếu tố di truyền

dimeric: lưỡng phân

diversity: tính đa dạng

DNA polymerase: enzym tổng hợp mạch DNA mới từ một mạch khuôn. Phản ứng quan trọng trong sao chép và sửa chữa deoxyribonucleic acids..

DNA stretch: đoạn DNA

Dnase: enzyme phân hủy liên kết của phân tử DNA

domain: vùng, đơn vị có hình dáng tự gấp lại, đặc, với một thể tích hơi lớn trong một bề mặt cực nhỏ

dot blot technique: kỹ thuật thấm chấm. Kỹ thuật dùng để phát hiện, phân tích và xác định protein tương tự như kỹ thuật thấm phương tây nhưng khác biệt ở chỗ các mẫu protein không được phân tích bằng điện di mà được chấm trực tiếp một mẫu nhỏ lên màng lai thành một chấm.

double-stranded: mạch kép

downstream: dưới dòng

dsDNA Dây đôi DNA có 2 phần: dây đơn mang cùng chuỗi mã với mRNA được gọi là mạch mã hóa hoặc mạch đồng hướng. Dây đơn đối xứng gọi là mạch khuôn hoặc ngược hướng, nơi xảy ra sự tổng hợp trực tiếp của mRNA thông qua sự bắt cặp bổ sung các bazơ.

duplex: Sợi kép

duplication: đột biến lặp đoạn

effector: chất tác dụng, cơ quan phản ứng

encapsidation: sự tạo vỏ

end: đầu tận, đầu mút

endocytosis: nhập nội bào, sự thực ẩm bào

endonuclease: enzyme phân cắt liên kết bên trong một mạch axit nucleic, có thể mang tính đặc hiệu đối với một phân tử RNA, một phân tử DNA mạch đơn hay mạch kép

endosome: thể trong nhân đơn bào, thể nhân.

enhancer: gen tăng cường; một chuỗi mã dạng cis, có khả năng đẩy mạnh một số gen khởi đầu ở tế bào nhân thực, có thể hoạt động hai hướng ở bất kỳ vị trí nào so với promoter

enveloppe: vỏ ngoài

episome: ngoại thể, thể bổ sung

epitope: biểu vị, quyết định kháng nguyên

ER: lưới nội bào tương

eukaryote: nhân thực

ex vivo: các thí nghiệm thực hiện trên tế bào nuôi cấy, sau đó được đưa vào cơ thể sống
exon: vùng ngoại, vùng gen chính thức có chức năng phiên mã
exonuclease: enzyme cắt rời từng nucleotit một từ đầu cuối của một mạch polynucleotit; có thể đặc hiệu cho đầu 5' hay đầu 3' của phân tử DNA hay RNA
fold: nếp gấp, nếp uốn
format: khổ, qui cách
fragment: mảnh, phần
frameshift: sự xê dịch khung
genome: bộ di truyền, bộ gen, hệ gen
half-life: thời gian bán tồn
haplotype: kiểu đơn. Bộ hoàn chỉnh phức hợp gen phù hợp tổ chức được hưởng từ bố hoặc từ mẹ, nghĩa là có một nửa kiểu gen.
hamster: chuột túi má
heat shock protein: prôtêin sốc nhiệt
helix: vòng xoắn
hemodialysis: thẩm tách máu
heteroduplex: chuỗi kép dị hợp
heterogyzote: dị hợp tử, các cá thể có 2 alen khác nhau như Aa
histone: các protein kết hợp chặt với DNA tạo thành nucleosome, có cấu trúc được bảo tồn cao trong quá trình tiến hóa ở tế bào nhận thực
HLA class 1-restricted cytotoxic T lymphocyte: tế bào lympho T gây độc tế bào giới hạn HLA lớp 1: tế bào T chỉ nhận diện kháng nguyên trên phân tử HLA lớp 1.
homology: tính tương đồng, đồng đẳng
homozygote: đồng hợp tử, các cá thể có 2 alen giống nhau như AA, aa
hot spot: điểm nóng, một vùng của mạch DNA có khuynh hướng tái tổ hợp rất cao.
hybrid: vật lai, thể lai
hybridoma: khối tế bào lai, dòng tế bào được hình thành từ sự phối hợp một tế bào ung thư và một bạch cầu lympho; khối tế bào lai có khả năng sản sinh các kháng thể một cách vĩnh viễn
idiotype: kiểu gen cá thể
immunocompetence: thẩm quyền miễn dịch
immunoprecipitation: kết tủa miễn dịch
in situ hybridization: lai tại chỗ, quá trình bắt cặp giữa mẫu dò (là một chuỗi mã DNA hay RNA mạch đơn) với DNA của tế bào được cố định trên lam kính
incorporation: đồng hóa
induction: sự cảm ứng
infectivity: tính gây nhiễm

initiation factor: nhân tố bắt đầu, viết tắt là IF ở procaryote, eIF ở eucaryote, là các protein kết hợp với tiểu đơn vị của ribosome ở giai đoạn khởi động của quá trình dịch mã tổng hợp protein.
inoculation: nhiễm truyền
inoculum: vật cấy
insertion: xen đoạn
intron: vùng nội, vùng DNA không phiên mã, một đoạn DNA được phiên mã nhưng bị loại bỏ trong quá trình trưởng thành của RNA, không có mặt ở phân tử RNA trưởng thành
inversion: đảo đoạn, do vòng và đứt ngang
IRES: internal ribosome entry site, điểm vào bên trong ribosom
isopyknic banding: phép hiện băng kết đặc đều
leader: chuỗi điều hành
level: mức độ, nồng độ
life expectancy: kỳ vọng sống, số năm mà một cá nhân được hi vọng sống xác định bằng thống kê
lifetime risk: nguy cơ cuộc sống trung bình
lifetime: thời gian sống, tuổi thọ, thời gian làm việc
ligand: phối tử
ligation: sự thắt, sự buộc
lineage: chuỗi thế hệ, dòng hệ phả
linear sucrose gradient: độ dốc sucrose tuyến tính
locus: nơi khu trú của gen, ổ gen
lysate: dịch tan
lyse: tan, tiêu
lysomes: thể tiêu bào.
macaque: khỉ đuôi ngắn, khỉ mũi dưới
major histocompatibility complex: phức hợp phù hợp tổ chức chính (PHPHTCC), một số gen ở gần nhau xác định kháng nguyên phù hợp tổ chức của các thành viên trong một loài.
mapping: lập bản đồ, sự xây dựng bản đồ (di truyền)
marmoset: khỉ đuôi sóc
melting temperature = Tm: là nhiệt độ ở đó có một nửa số phân tử của chuỗi mã DNA bị biến tính
melting: sự nóng chảy, sự biến tính. Sự phá vỡ cấu trúc bậc hai của phân tử hay một phần phân tử, như sự phân ly hoàn toàn hoặc một phần bằng nhiệt axit nucleic mạch kép để thành một phân tử hay một vùng mạch đơn.
minus strand: sợi trừ (sợi polynucleotit bù cho và tạo thành nhờ phiên mã từ sợi polynucleotit cộng đặc biệt khác để tạo ra axit nucleic)

mocular cloning: sự tách dòng, nhân dòng, cấy dòng phân tử
model: động vật thực nghiệm, mô hình, vật mẫu
modeling: mô hình hóa, nghiên cứu bằng mô hình
modulation: sự điều biến, phân hóa thuận nghịch. Trạng thái thay đổi các dấu ấn bề mặt tế bào khi các tế bào này tiếp xúc với các kháng thể đặc hiệu (điều biến kháng nguyên); tạo cân bằng giữa các yếu tố hoặc thành phần tham gia trong đáp ứng miễn dịch (diều hòa miễn dịch)
molecular hybridization: lai phân tử, quá trình trong đó hai mạch nucleic bổ sung (A-T, G-C) bắt cặp hình thành nên một mạch kép; là kỹ thuật hữu hiệu để phát hiện một chuỗi mã nucleotit chuyên biệt
monoclonal antibody: được sản sinh từ một dòng khối tế bào lai (hybridoma), vì mỗi dòng khối tế bào lai phát xuất chỉ từ một tế bào bạch cầu lympho B nên toàn bộ các phân tử kháng thể sản sinh ra đều y hệt nhau.
monomer: đơn phân, phân tử đơn vị nhỏ, có thể liên kết với các phân tử đơn vị giống nó để hình thành những phân tử lớn hơn (polymer)
motif: loại hình
multiply: nhân bội, tăng bội
multivalent: đa trị
naive: chưa quen thí nghiệm
natural history: sự phát triển tự nhiên
nonsense codon: codon vô nghĩa, đơn vị mã vô nghĩa (không xác định một aa nào) codon cuối cùng, bất cứ một trong 3 triplet (UAG, UAA, UGA) gây ra sự kết thúc sinh tổng hôp protein
northern blot technique: kỹ thuật chuyển và cố định RNA từ gel agarose lên màng lai; nghĩa rộng bao gồm luôn cả công đoạn lai RNA cố định trên màng lai với mẫu dò
Nterminal end: đầu tận cùng bằng N
N-terminus: đầu tận cùng N, đầu tận cùng có nhóm NH2
nucleosome: thể nhân, tiểu đơn vị cấu trúc của nhiễm sắc chất, bao gồm một đoạn DNA có kích thước 200 bp và một tập hợp 8 histone
oligomer: chất thiếu hợp
orthotopic liver transplantation (OLT): ghép gan đúng vị trí
open reading frame (ORF): khung đọc mở: một vùng chuỗi mã giữa những stop codon
operator: gen điều khiển, vùng điều khiển. Một đoạn DNA ngắn trên nhiễm sắc thể của vi khuẩn,nơi gắn các protein điều hòa , có chức năng kiểm soát sự phiên mã của các gen kế cận
operon: operon, một đơn vị biểu hiện và điều hòa gen ở vi khuẩn, bao gồm các gen cấu trúc nằm cạnh nhau và các nhân tố điều hòa, các gen cấu trúc này cùng chịu những tác động điều hòa như nhau
organelles: bào quan

peptide pulsed targets: các đích đẩy peptit
outbred: nhân giống xa, lai ngoài dòng
owl momkey: khỉ cú
passage: cấy chuyền
pellet: viên kết, viên nhỏ
phage: thực khuẩn thể, là các virut xâm nhiễm vi khuẩn
phagosome: thể thực bào
phylogenetic analysis: phân tích phát sinh chủng loài, huyết thống
plasma menbrane: màng sinh chất
plasmid: DNA có cấu trúc vòng ở ngoài nhiễm sắc thể, có khả năng tự sao chép độc lập
polycistronic: đa gen, đa cistron
polymerase chain reaction: phản ứng chuỗi polymerase
polymere: đa phân
polymorphism: hiện tượng đa hình
polyploid: thể đa bội
positive-strand DNA: DNA mạch dương
pre-C: tiền C, tiền lõi
precore: tiền lõi
precursor tiền chất
pregenome: tiền bộ gen
pre-S1: tiền S1
primates: bộ linh trưởng
primer: đoạn khởi đầu, đoạn mồi, bộ mồi; một chuỗi mã DNA hay RNA ngắn, bắt cặp với một mạch khuôn DNA và có mang một đầu 3'OH tự do giúp DNA polymerase bắt đầu tổng hợp mạch mới
priming: mẫn cảm sơ bộ, mẫn cảm lần đầu
probe: bộ tìm dò, mẫu dò; một đoạn RNA hay DNA chuyên biệt được đánh dấu bằng đồng vị phóng xạ hay bằng hóa chất, dùng để định vị một chuỗi mã nucleic acid bằng kỹ thuật lai phân tử
processing: quá trình, sự tách RNA thừa
profile: mặt bằng
progeny: thế hệ con
prokaryotic cell: tế bào không có nhân, nhân chưa điển hình, nhân nguyên thủy, vi khuẩn
promoter: gen khởi đầu; một chuỗi mã trên DNA, nơi RNA polymerase gắn vào để khởi động phiên mã
proof-reading: đọc sửa, sự đính chính (sự thay thế nucleotit sai bằng một phần tử đúng)
propagation: sự sinh sản, sự truyền giống
proteolytic: phân giải prôtêin
protocol: qui trình kỹ thuật

prototype: nguyên mẫu,kiểu nguyên thủy, kiểu chuẩn
provirus: tiền virút
quasispecies: á chủng, phụ loài
rate zonal banding: phép hiện băng vùng tốc độ
read through: đọc xuyên, kiểu phiên mã di truyền mà việc tổng hợp RNA của một operon lại bắt đầu từ khởi điểm của một operon khác
rearrangement: sự sắp xếp lại, tái cấu trúc
reciprocal translocation: chuyển đoạn thuận nghịch
recruitment: sự bổ sung
redundancy: sự dư thừa, sự lập lại (của các gen hoặc chuỗi mã nuclêôtit)
relative: dạng tương quan
renaturation: hồi tính, sự tái bắt cặp của hai mạch đơn DNA bổ sung của một phân tử DNA mạch kép
replication: sự sao chép, sự tái bản, một axit nucleic trong dây đôi được sao lại để có những bản sao giống nhau.
repertoire: kho
replicator gen sao chép
replicon đơn vị sao chép của bộ gen, có chứa một điểm khởi đầu sao chép
reporter gen gen thông báo, gen tường thuật, là một đơn vị mã hóa mà sản phẩm của nó được trắc nghiệm một cách dễ dàng (như chloramphenicol transacetylase); nó có thể gắn với bất cứ một promoter nào sao cho sự thể hiện của gen này được dùng để thử nghiệm chức năng của promoter
reproductible: tái sinh, sao chép
reservoir: ổ chứa, nguồn
restriction enzyme: enzym giới hạn, đặc thù, enzyme nhận biết một chuỗi mã DNA ngắn chuyên biệt và cắt mạch kép DNA
restriction map: bản đồ giới hạn, chuỗi mã các vị trí nhận biết của tất cả các enzym giới hạn trên một phân tử DNA
restriction site: vị trí phân cắt
reverse transcription: phiên mã ngược, tổng hợp DNA từ mạch khuôn RNA nhờ enzym phiên mã ngược
RNA editing: hiệu đính RNA
RNA polymerase: enzyme tổng hợp RNA từ mạch khuôn DNA
RNA processing: quá trình RNA (quá trình khâu nối các phân tử RNA sau phiên mã)
RNA puff: điểm phình RNA
Rnase: enzyme thủy giải RNA
satellite DNA: DNA vệ tinh, những chuỗi mã lập lại bao gồm những đơn vị ngắn tương tự nhau
selection pressure: sức ép chọn lọc, áp lực chọn lọc

sense strand: Sợi có nghĩa (sợi DNA được dùng làm khuôn để phiên mã)
sequence: chuỗi mã, trình tự
sequencing: sự xác định chuỗi mã
signal: tín hiệu, báo hiệu
silencer: gen câm
single-stranded: mạch đơn
slot blot hybridization: kỹ thuật lai thấm khe, một biến thể của kỹ thuật thấm chấm bằng sự thay các lỗ tròn cho khuôn hình khe
source cloning: sự tách dòng, nhân dòng nguồn
southern blot technique: kỹ thuật thấm Southern. Kỹ thuật chuyển và cố định DNA đã biến tính từ gel agarose lên màng lai. DNA cố định trên màng được lai với mẫu dò có đánh dấu phóng xạ. Sau dùng kỹ thuật phóng xạ tự ghi để định vị các phân tử lai (DNA bộ gen-mẫu dò).
spacer DNA: DNA chêm (DNA không được phiên mã nằm giữa các DNA được phiên mã, chức năng hiện thời chưa biết
spacer: đoạn đệm trong DNA
span: một cặp
species: loài
specific: đặc hiệu, chuyên biệt
splicing: ghép nối, sự loại bỏ các intron và nối liền các exon ở RNA trong quá trình trưởng thành sau phiên mã
stem-and-loop: thân-vòng
stop codon: côđon kết thúc, đơn vị mã kết thúc
strand: mạch, dải, thanh nhiễm sắc, sợi tách đôi
stump-tailed monkey khỉ cụt đuôi
supercoil: siêu xoắn
susceptivity: tính mẫn cảm
synchrotron: máy gia tốc đồng bộ
tamarin: khỉ vuốt tay
tandemly-repeated: lập lại định kỳ
TATA box: hộp TATA. Một chuỗi mã DNA không mã hóa bảo tồn có dạng 5'-TATAAAA-3'; xuất hiện khoảng 25 cặp bazơ trên dòng từ chỗ khởi đầu phiên mã trong đa số các gen tế bào nhân thực và có chức năng gen khởi đầu.
taxonomic characteristic: đặc trưng phân loại
taxonomic status: tình trạng phân loại
telomere: đoạn cuối, khúc cuối (thể nhiễm sắc)
template: khuôn, khuôn mẫu (để sao chép thông tin)
terminal redundancy sự lập lại ở đầu mút
terminal: đầu mút, đầu cuối

Thelper: T hỗ trợ
trans-acting: DNA kích hoại phiên mã khi chúng hiên diện ở một DNA riêng biệt
transactivation: chuyển hoạt. kích thích một tế bào chủ sao chép các thành phần di truyền của một virút.
transcribe: chép lại, sao lại
transcript: sản phẩm phiên mã, khuôn (đoạn RNA-chuỗi mã hình thành sau khi phiên mã)
transcription: phiên mã, chuyển mã, tổng hợp RNA từ khuôn DNA
transduction: sự tải nạp, chuyển vật liệu di truyền từ tế bào nọ sang tế bào kia nhờ một virut
transfection: chuyển nhiễm; gây nhiễm con vật hoặc tế bào vi khuẩn bằng cách đưa vào axit nucleic phân lập từ virut hoặc thực khuẩn thể, làm sản xuất các virut trưởng thành hoặc các hạt thực khuẩn thể.
transformation: sự biến nạp, chuyển dạng, sự thu nhận những đặc điểm di truyền mới ở vi khuẩn nhờ việc chuyển vào vi khuẩn các phân tử DNA
translation: sự dịch mã, giải mã, hiện tượng tổng hợp protein trên khuôn mRNA
translocation: sự chuyển chỗ, sự hoán vị, sự chuyển đoạn
transversion: dị hoán
trigger pathway: lộ trình kích hoạt
tropism: tính hướng kích thích
truncation: sự cắt cụt (phần đỉnh vỏ)
upstream: trên dòng, ngược dòng
uptake site: điểm hấp thụ
variability: tính biến dị
vector: vật truyền nhiễm, vật truyền bệnh, vật môi giới
vehicle: vật truyền
viability: khả năng sống
virion: hạt virút hoàn chỉnh, dạng virút nghỉ ở ngoài tế bào
virulence: tính độc
western blot technique: kỹ thuật thấm phương tây, tương tự như kỹ thuật thấm Southern được dùng để tách các đoạn RNA ra khỏi gen.
wild type: kiểu nguyên sinh, kiểu hoang dại
woodchuck: sóc macmot, sóc đen Marmota monax

THUẬT NGỮ CHUYÊN MÔN ĐƯỢC THAM KHẢO TRONG CÁC SÁCH SAU ĐÂY

1. Bùi Khánh Thuần. Từ điển y học Anh Việt. NXB Ngoại Văn & NXB Y học. 1993.
2. Phạm Mạnh Hùng. Từ điển miễn dịch học Anh Việt và Việt Anh. NXB Khoa học và kỹ thuật. Hà Nội. 1989.

3. Dorland's Electronic Medical Dictionary. Inso Corporation. 1990-1997
4. Nguyễn Ngọc Hải. Từ điển công nghệ sinh học Việt-Pháp Anh. NXB Khoa học và kỹ thuật. Hà Nội. 1997.
5. Từ điển sinh học Anh Việt-Việt Anh. NXB Khoa học và kỹ thuật. Hà Nội. 1997.
6. Lê Đức Trình. Sinh học phân tử của tế bào. NXB Khoa học và kỹ thuật. Hà Nội. 2001.
7. Bùi Chí Bửu, Nguyễn Thị Lạng. Di truyền phân tử- Những nguyên tác cơ bản trong chọn giống cây trồng. NXB Nông nghiệp. 1999.
8. Hồ Huỳnh Thùy Dương. Sinh học phân tử. NXB Giáo dục. 1998.

NHÀ XUẤT BẢN Y HỌC

VIÊM GAN VI RÚT B VÀ D

Chịu trách nhiệm xuất bản

HOÀNG TRỌNG QUANG
NGUYỄN THỊ KIM LIÊN

Biên tập:	BS. TRẦN QUYÊN
Sửa bản in:	BS. TRẦN QUYÊN
Trình bày bìa:	CHÂU HỮU KHÔI TÂM

In 1.000 cuốn, khổ 19x27cm tại Xưởng in Nhà xuất bản Y học.
Giấy phép xuất bản số: 286-96/XB-QLXB ngày 28/01/2002.
In xong và nộp lưu chiểu quý IV năm 2002.

NHÀ XUẤT BẢN Y HỌC

Địa chỉ: 352 Đội Cấn - Ba Đình - Hà Nội

Điện thoại: 04.7625934 - 7627819 - Fax: 84.4.7625923

E-mail: xuatbanyhoc@netnam.vn

MS 61 - 616N.3 / YH - 2002 96 - 2002

GIÁ: 91.000Đ