

## ĐỘT BIẾN PRE-CORE VÀ CORE-PROMOTER Ở BỆNH NHÂN XƠ GAN VÀ UNG THƯ BIỂU MÔ TẾ BÀO GAN NHIỄM VIRÚT VIÊM GAN B

Lê Cẩm Tú\*, Bùi Hữu Hoàng\*\*

### TÓM TẮT

**Mở đầu:** Nhiễm virus viêm gan B (VRVGB) là một trong những nguyên nhân gây bệnh gan mạn tính phổ biến nhất trên toàn thế giới. Nhiều bệnh nhân (BN) nhiễm VRVGB bị đột biến ở vùng pre-core hoặc core-promoter, không sản xuất được HBeAg nhưng virus vẫn có khả năng sao chép. Các thể đột biến này có HBeAg(-) và thường liên quan đến mức độ nặng và sự tiến triển của bệnh gan như XG và UTBMTBG. Do vậy, chúng tôi tiến hành nghiên cứu về ảnh hưởng của các đột biến này trên các giai đoạn khác nhau của BN nhiễm VRVGB mạn.

**Mục tiêu:** Khảo sát tỉ lệ đột biến pre-core và core-promoter ở BN XG và UTBMTBG nhiễm VRVGB và sự liên quan của nó với các kiểu gen.

**Phương pháp:** Kỹ thuật giải trình tự gen của vùng pre-core và core-promoter được thực hiện ở 46 BN nhiễm VRVGB mạn tính với HBeAg (-) trong tổng số 128 BN (bao gồm 40 người nhiễm VRVGB không triệu chứng, 42 BN XG và 46 BN UTBMTBG).

**Kết quả:** Tỉ lệ đột biến pre-core và core-promoter lần lượt là 19,6% và 35,7%. Hai đột biến này có liên quan rõ rệt với XG và UTBMTBG. Đột biến pre-core làm gia tăng nguy cơ XG lên 4 lần (OR = 4,62,  $p < 0,05$ ) và UTBMTBG lên 5 lần (OR = 5,39,  $p < 0,05$ ). Đột biến core-promoter làm gia tăng nguy cơ XG lên 10 lần và UTBMTBG lên 13 lần. Đột biến pre-core có liên quan đến kiểu gen B còn đột biến core-promoter có liên quan đến kiểu gen C.

**Kết luận:** Nguy cơ XG và UTBMTBG gia tăng rõ rệt ở BN nhiễm VRVGB có đột biến pre-core và core-promoter

**Từ khóa:** VRVGB, VGVRB, XG, UTBMTBG, đột biến pre-core, đột biến core-promoter

### ABSTRACT

#### PRECORE AND CORE-PROMOTER MUTANTS IN THE PATIENTS WITH LIVER CIRRHOSIS AND HEPATOCELLULAR CARCINOMA INFECTED BY HEPATITIS B VIRUS

Le Cam Tu, Bui Huu Hoang \* Y Hoc TP. Ho Chi Minh \* Vol. 14 - Supplement of No 1 - 2010: 414-418

**Background:** HBV is one of the most common causes of chronic liver disease worldwide. Infected patients harbor replication-competent HBV variants that are unable to produce HBeAg due to some mutations either in the pre-core (G1896A) or the core promoter region (A1762T and G1764A) of the HBV genome. This form of HBV is also referred to as HBeAg-negative. It represents a potentially severe and progressive form of liver disease such as cirrhosis and hepatocellular carcinoma (HCC). We investigated the influence of these mutants on the clinical features of patients at different stages of chronic HBV infection.

**Objectives:** To investigate the prevalence of pre-core and core-promoter mutants in cirrhosis and HCC patients infected by HBV and the association between these mutants and HBV genotypes.

\* Bệnh viện Đại học Y Dược Tp.Hồ Chí Minh  
Địa chỉ liên hệ: BS. Lê Cẩm Tú

\*\* Bộ môn Nội, khoa Y - Đại học Y Dược Tp.Hồ Chí Minh  
ĐT: 0958605305 Email: lecamtu111@yahoo.com

**Method:** Among 128 patients (including 40 inactive carriers, 46 cirrhosis and 42 HCC), sequencing of pre-core and basal core-promoter regions of the HBV genome were performed in 46 HBeAg-negative chronic HBV - infected patients at different stages of liver disease.

**Results:** Ratios of pre-core and core-promoter mutants were 19.6% and 35.7%, respectively. Pre-core and core promoter mutants were significantly associated with liver cirrhosis and HCC. Pre-core mutant increased the risk of liver cirrhosis to 4 times (OR= 4.62; 95% confidence interval [CI]: 0.935-22.83; p<0.05) and HCC to 5 times (OR= 5.39; 95% CI: 1.42-20.47; p<0.05). Core-promoter mutant increases the risk of liver cirrhosis to 10 times (OR= 10.55; 95% CI: 2.22-50.01; p<0.05) and HCC to 13 times (OR= 13.56; 95% CI: 3.61-50.95; p<0.05). Pre-core mutant was associated with genotype B, core promoter mutant is associated with genotype C.

**Conclusion:** The risk of development of liver cirrhosis and HCC was significantly increased in patients with pre-core and core-promoter mutant of HBV.

**Keywords:** Hepatitis B, hepatitis B virus (HBV), pre-core mutant, core-promoter mutant, liver cirrhosis, hepatocellular carcinoma (HCC).

**ĐẶT VẤN ĐỀ**

VGVRB là một vấn đề y tế toàn cầu. Hiện nay, có khoảng 3 tỉ người, tức là gần 50% dân số thế giới bị nhiễm VRVGB, trong đó khoảng 350-400 triệu người bị nhiễm VRVGB mạn tính (4). VRVGB là một trong những nguyên nhân chính gây ra các bệnh gan cấp và mạn tính(4). Nhiễm VRVGB mạn tính có thể dẫn đến XG và UTBMTBG. VRVGB có những đột biến xảy ra làm cho HBeAg không được tạo thành nhưng sự nhân lên của virút vẫn tiếp diễn và có khả năng gây tổn thương gan tiến triển(5). Thường gặp nhất là đột biến pre-core (G1896A) và đột biến đôi ở vùng core-promoter (A1762T và G1764A), thường có liên quan đến kiểu gen của virút.

Hiện nay, ở Việt Nam vẫn còn rất ít số liệu về vấn đề này, do đó chúng tôi tiến hành nghiên cứu này với mục đích khảo sát ban đầu về tỉ lệ đột biến pre-core và đột biến core-promoter ở BN bị nhiễm VRVGB mạn tính mà tiêu biểu là ở hai nhóm BN XG và UTBMTBG. Đồng thời, chúng tôi muốn tìm hiểu thêm mối tương quan giữa các kiểu đột biến này với kiểu gen và các bệnh lý gan liên quan đến nhiễm VRVGB mạn tính.

**ĐỐI TƯỢNG - PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU**

**Thiết kế nghiên cứu**

Nghiên cứu cắt ngang.

**Đối tượng nghiên cứu**

Các BN XG, UTBMTBG nhiễm VRVGB [HBsAg(+)], và người nhiễm VRVGB không triệu chứng đến khám và điều trị tại bệnh viện Chợ Rẫy từ tháng 6 đến tháng 12/ 2008.

**Tiêu chuẩn loại trừ**

- Đồng thời nhiễm VRVGB khác, nhiễm HIV.
- Có tiền sử hoặc bằng chứng viêm gan do các nguyên nhân khác như do rượu, bệnh tự miễn [ANA(+)/LKM1(+)], bệnh sử có dùng các thuốc độc cho gan.

**KẾT QUẢ**

**Các đặc điểm chính của dân số nghiên cứu**

Có 128 người nhiễm VRVGB mạn được chọn để nghiên cứu, gồm 46 BN XG, 42 BN UTBMTBG và 40 người nhiễm VRVGB không triệu chứng với một số đặc điểm sau (bảng 1).

**Bảng 1:** Một số đặc điểm của dân số nghiên cứu

	XG	UTBMTBG	Người nhiễm VRVGB không triệu chứng	P	
Nam/Nữ	25/21 (1,18/1)	36/6 (6/1)	22/18 (1,22/1)	0,03	
Tuổi trung bình	55,52 ± 11,91	55,4 ± 12,14	47,9 ± 12,03	0,81	
Child-Pugh	A	2 (4,3%)	38 (90,5%)	40 (100%)	0,000
	B	24 (52,2%)	3 (7,1%)	0 (0%)	
	C	20 (43,5%)	1 (2,4%)	0 (0%)	
HBeAg(-)	39 (86,7%)	33 (78,6%)	27 (67,5%)	0,296	
HBeAg(-) và Anti HBe(+)	19 (41,3%)	26 (61,9%)	12(30%)	0,053	

	XG	UTBMTBG	Người nhiễm VRVG B không triệu chứng	p
Nghi đột biến trên lâm sàng (HBeAg(-) và Anti HBe(+)) và HBV DNA (+)	17 (37%)	25 (59,5%)	4(10%)	0,05

**Đặc điểm của đột biến pre-core và core-promoter**

*Bảng 2: Tỷ lệ đột biến trong dân số nghiên cứu*

Đột biến	Đột biến pre-core	Đột biến core-promoter	Cả hai loại đột biến
Số BN	26 (20,3%)	39 (30,5%)	19 (14,8%)

*Bảng 3: Tỷ lệ đột biến pre-core và core-promoter ở ba nhóm*

	XG	UTBMTBG	Người nhiễm VRVG B không triệu chứng	p
Đột biến pre-core	9 (19,6%)	15 (35,7%)	2 (5,0%)	0,011
Đột biến core-promoter	14 (30,4%)	22 (52,4%)	3 (7,5%)	0,000
Cả hai loại đột biến	6 (13%)	12 (28,6%)	1 (2,5%)	0,004

*Bảng 4: So sánh đặc điểm đột biến pre-core và core-promoter ở hai nhóm BN XG và người nhiễm VRVG B không triệu chứng*

	XG	Người nhiễm VRVG B không triệu chứng	p OR (KTC 95%)
Đột biến pre-core	9 (19,6%)	2 (5,0%)	0,044 OR =4,62 (0,935-22,83)
Đột biến core-promoter	14 (30,4%)	3 (7,5%)	0,008 OR =5,39 (1,42-20,47)
Cả hai loại đột biến	6 (13%)	1 (2,5%)	0,075

*Bảng 5: So sánh đặc điểm đột biến pre-core và core-promoter ở hai nhóm UTBMTBG và người nhiễm VRVG B không triệu chứng*

	UTBMTBG	Người nhiễm VRVG B không triệu chứng	p OR (KTC 95%)
Đột biến pre-core	15(35,7%)	2(5,0%)	0,001 OR = 10,55 (2,22-50,01)
Đột biến core-	22(52,4%)	3(7,5%)	0,000

	UTBMTBG	Người nhiễm VRVG B không triệu chứng	p OR (KTC 95%)
promoter			OR = 13,56 (3,61-50,95)
Cả hai loại đột biến	12(28,6%)	1(2,5%)	0,001 OR=15,6 (1,92-126,7)

*Bảng 6: Môi trường quan giữa đột biến pre-core và core-promoter với kiểu gen B và C*

	Kiểu gen B	Kiểu gen C	Tổng	p
Đột biến pre-core	16(64%)	9(36%)	25	0,023
Đ/ biến core-promoter	15(39,5%)	23(60,5%)	38	0,003

**BÀN LUẬN**

Theo nghiên cứu của chúng tôi, tuổi trung bình của dân số nghiên cứu là 52,94 ±12,41, trong đó, hai nhóm XG và UTBMTBG có tuổi trung bình tương đương nhau còn người nhiễm VRVGB không triệu chứng thì trẻ hơn. Về giới, theo nhiều nghiên cứu trong và ngoài nước (1,2,6), nam giới lớn hơn 40 tuổi thì nguy cơ UTBMTBG và XG tăng gấp nhiều lần. Trong nghiên cứu của chúng tôi, tỷ lệ BN nam nhiều hơn nữ ở cả ba nhóm, đặc biệt ở nhóm UTBMTBG tỷ lệ này là 6/1.

Ở nhóm UTBMTBG đa số có chức năng gan còn bù (Child A) chiếm tỷ lệ 90,5%. Ngược lại, tỷ lệ Child C ở BN XG cao hơn hẳn so với BN UTBMTBG (43,5% so với 2,4%) (p<0,001). Kết quả này cũng tương tự các nghiên cứu khác (1,6)

Ở những BN XG và UTBMTBG, hầu hết trường hợp đều có HBeAg(-). Trong nghiên cứu của chúng tôi, tỷ lệ HBeAg(-) ở hai nhóm tương đương nhau (86,7% ở BN XG và 78,6% ở BN UTBMTBG, p>0,05). Kết quả này cũng tương tự nghiên cứu của Bùi Hữu Hoàng (94% và 99%, p>0,05) (1).

Thông thường, khi xảy ra sự chuyển huyết thanh HBe thì sự sao chép của virút sẽ giảm đi, biểu hiện bằng HBV DNA (-) khi dùng các kỹ thuật không phải PCR. Tuy nhiên, chúng tôi nhận thấy có đến 37% BN XG và 59% BN UTBMTBG vẫn còn HBV DNA (+) khi đã có biểu

hiện chuyển huyết thanh HBe, chúng tỏ virút vẫn còn đang sao chép nhưng không tạo ra HBeAg. Điều này cho thấy có sự đột biến của virút làm cho virút không thể tạo ra HBeAg. Chúng tôi khảo sát hai loại đột biến thường gặp của VRVGB là đột biến pre-core (G1896A) và đột biến core-promoter (A1762T/G1764A).

**Đột biến pre-core và đột biến core-promoter**

*Tỉ lệ đột biến trong dân số nghiên cứu*

Nghiên cứu của chúng tôi ghi nhận tỉ lệ đột biến pre-core là 20,3% và đột biến core-promoter là 30,5%. Đồng thời, BN có cùng lúc hai loại đột biến là 14,8%. Như vậy, đột biến core-promoter có tỉ lệ cao hơn đột biến pre-core. Kết quả này cũng tương tự các nghiên cứu khác, như của tác giả Chu CJ (4), tỉ lệ này lần lượt là 27 và 44%.

*Tỉ lệ đột biến pre-core và đột biến core-promoter ở ba nhóm*

Cả ba nhóm đều có tỉ lệ đột biến core-promoter cao hơn đột biến pre-core, nhất là ở BN UTBMTBG, đột biến core-promoter chiếm hơn một nửa (52,4%). Chúng tôi cũng ghi nhận tỉ lệ có cùng lúc hai loại đột biến ở BN UTBMTBG là cao nhất (28,6%), kể đến là nhóm XG (13%) và nhóm người nhiễm VRVG B không triệu chứng có tỉ lệ rất thấp (2,5%) và sự khác biệt này có ý nghĩa ( $p < 0,05$ ). Như vậy, kết quả ban đầu cho thấy đột biến pre-core và core-promoter chiếm tỉ lệ cao song hành với các biến chứng của nhiễm VRVGB mạn, nhất là giữa đột biến core-promoter và UTBMTBG.

**So sánh đột biến pre-core và đột biến core-promoter ở hai nhóm BN XG và người nhiễm VRVG B không triệu chứng**

Trong nghiên cứu của chúng tôi, BN XG có tỉ lệ đột biến pre-core là 19,6% cao hơn hẳn so với nhóm người nhiễm VRVG B không triệu chứng (5%) ( $p < 0,05$ ) và làm gia tăng nguy cơ XG lên 4 lần ( $OR = 4,62, p < 0,05$ ). Còn tỉ lệ đột biến core-promoter là 30,4% so với 7,5% ở người nhiễm VRVG B không triệu chứng ( $p < 0,05$ ) và

làm gia tăng nguy cơ XG lên 5 lần ( $OR = 5,39, p < 0,05$ ). Ngoài ra, chúng tôi cũng ghi nhận tỉ lệ có cùng lúc hai loại đột biến ở nhóm BN XG cao hơn so với nhóm người nhiễm VRVG B không triệu chứng (13% so với 2,5%). Tuy nhiên, sự khác biệt này không đủ thuyết phục trên phương diện thống kê ( $p > 0,05$ ). Điều này có thể do mẫu nghiên cứu của chúng tôi còn nhỏ nên chưa thấy rõ sự khác biệt giữa hai nhóm BN này. Kết quả của chúng tôi cũng tương tự tác giả Lin CL (8) với đột biến core-promoter làm cho nguy cơ XG tăng lên gấp 5 lần ( $OR = 5, p < 0,05$ ).

**So sánh đột biến pre-core và core-promoter ở hai nhóm BN UTBMTBG và người nhiễm VRVG B không triệu chứng**

BN UTBMTBG có tỉ lệ đột biến pre-core là 35,7%, đột biến core-promoter là 52,4% cao hơn rất nhiều ở người nhiễm VRVGB không triệu chứng (chỉ 5% và 7,5%) ( $p < 0,05$ ). Trong nhiều nghiên cứu khác, người ta đã nhận thấy đột biến core-promoter có liên quan đến UTBMTBG, chẳng hạn trong nghiên cứu của Kao(7) tỉ lệ này là 64%, trong nghiên cứu của Tong MJ(9) tỉ lệ cũng tương tự là 77,7%. Khi đánh giá nguy cơ, chúng tôi nhận thấy đột biến pre-core làm gia tăng nguy cơ UTBMTBG lên gấp 10 lần ( $OR = 10,55, p < 0,05$ ). Đột biến core-promoter làm tăng nguy cơ UTBMTBG lên đến hơn 13 lần ( $OR = 13,56, p < 0,05$ ).

**Bảng 7:** So sánh tỷ lệ đột biến pre-core và core-promoter trong nghiên cứu của Tong MJ

		Tong MJ	Chúng tôi
Đột biến pre-core	OR	3,75	10,55
	KTC 95%	1,14 - 12,34	2,22 - 50,01
Đột biến core-promoter	OR	11,4	13,56
	KTC 95%	3,05 - 40,72	3,61 - 50,95

Chúng tôi cũng ghi nhận tỉ lệ có đồng thời hai loại đột biến ở BN UTBMTBG cao hơn nhiều so với người nhiễm VRVG B không triệu chứng (28,6% so với 2,5%) và sự khác biệt này cũng có ý nghĩa thống kê ( $p < 0,05$ ). Tỉ số chênh OR là 15,6 (khoảng tin cậy 95% là 1,92-126,7,  $p < 0,05$ ). Như vậy, khi có đồng thời hai loại đột biến có thể làm gia tăng nguy cơ UTBMTBG lên gấp hơn 15 lần.

### Mối tương quan giữa đột biến pre-core và core-promoter với kiểu gen

Do hạn chế về mặt kinh phí nên chúng tôi chỉ thực hiện việc xác định kiểu gen ở những BN nghi đột biến trên lâm sàng mà không thực hiện được trên tất cả dân số nghiên cứu. Bằng kỹ thuật giải trình tự chuỗi, chúng tôi có kết quả kiểu gen như sau: hầu hết là kiểu gen B và C với tỉ lệ lần lượt là 47,8% và 50%, chỉ có duy nhất một trường hợp là kiểu gen D (2,2%). Trong nghiên cứu của chúng tôi, đột biến pre-core có kiểu gen C (64% so với 36%) ( $p < 0,05$ ). Ngược lại, tỉ lệ đột biến core-promoter có kiểu gen C lại cao hơn đột biến core-promoter có kiểu gen B (60,5% so với 39,5%) ( $p < 0,05$ ).

### KẾT LUẬN

Với mục đích khảo sát tỉ lệ đột biến pre-core và core-promoter và mối tương quan với các bệnh cảnh lâm sàng của nhiễm VRVG B mạn chúng tôi rút ra một số kết luận như sau:

- Tỉ lệ đột biến pre-core ở BN XG là 19,6%, ở BN UTBMTBG là 35,7%.

- Tỉ lệ đột biến core-promoter ở BN XG là 30,4%, ở BN UTBMTBG là 52,4%.

- Đột biến pre-core làm gia tăng nguy cơ XG lên 4 lần, gia tăng nguy cơ UTBMTBG lên đến 10 lần.

- Đột biến core-promoter làm gia tăng nguy cơ XG lên 5 lần, gia tăng nguy cơ UTBMTBG lên 13 lần.

- Đột biến pre-core liên quan đến kiểu gen B còn đột biến core-promoter liên quan đến kiểu gen C.

### TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Bùi Hữu Hoàng (2004). Đặc điểm của dấu ấn huyết thanh và kiểu gen của virút viêm gan B trên bệnh nhân XG và UTBMTBG, luận án tiến sĩ Y học, ĐHYD TPHCM.
2. Bruix M, Sherman M (2005). Management of hepatocellular carcinoma, *Hepatology*, 42(5): 1208-36.
3. Chen DS (1993). From hepatitis to hepatoma: lessons from type B viral hepatitis. *Science*, 262: 369-370.
4. Chu CJ (2003). Prevalence of HBV Pre-core/Core Promoter Variants in the United States, *Hepatology*, 38:619-628.
5. Ganem D, Prince AM (2004). Hepatitis B virus infection - natural history and clinical consequences. *N Engl J Med*,

- 350:1118-1129. [Erratum, *N Engl J Med* 2004; 351:351.]
6. Huy TTT et al (2004). Characteristics of Core Promoter and Pre-core Stop Codon Mutants of Hepatitis B Virus in Vietnam, *Journal of Medical Virology*, 74:228-236.
7. Kao JH, Chen PJ, Lai MY, et al (2003). Basal core promoter mutations of hepatitis B virus increase the risk of hepatocellular carcinoma in hepatitis B carriers. *Gastroenterology*, 124: 327-34.
8. Lin CL et al (2005). Basal core-promoter mutant of hepatitis B virus and progression of liver disease in hepatitis B e Antigen-negative chronic hepatitis B, *Liver International*, 25(3): 564-570.
9. Tong MJ (2007). Basal core promoter TA1762T/AG1764A and pre-core A1896 gene mutations in hepatitis B surface Antigen-positive hepatocellular carcinoma: a comparison with chronic carriers, *Liver international*, 27(10): 1356-136.



