

Mối liên quan giữa tính đa hình gen mã hoá thụ thể vitamin D và biểu hiện lâm sàng ở bệnh nhân nhiễm vi rút viêm gan B mạn tính

Association of vitamin D receptor variants with clinical outcomes in chronic hepatitis B patients

Nguyễn Khuyên^{*,****}, Nghiêm Xuân Hoàn^{**,****},
Nguyễn Đăng Mạnh^{**}, Phạm Thị Minh Huyền^{**},
Đỗ Tuấn Anh^{***}, Lê Hữu Song^{**}

^{*}Bệnh viện Đa khoa Đức Giang,
^{**}Bệnh viện Trung ương Quân đội 108,
^{***}Bệnh viện Quân y 103,
^{****}Đồng tác giả chính

Tóm tắt

Mục tiêu: Nghiên cứu mối liên quan giữa các gen mã hóa thụ thể vitamin D với tính cảm nhiễm HBV và tiến triển bệnh ở bệnh nhân nhiễm HBV mạn tính. Ngoài ra nghiên cứu này khảo sát mối tương quan giữa các biến thể VDR với nồng độ vitamin D huyết thanh ở bệnh nhân nhiễm HBV mạn tính. **Đối tượng và phương pháp:** Nghiên cứu bệnh chứng tiến hành trên 298 bệnh nhân [viêm gan mạn tính, CHB (n = 104), xơ gan, LC (n = 89), ung thư gan, HCC (n = 105)] và 52 người khỏe mạnh (HC). Kỹ thuật ARMS-PCR được sử dụng để định kiểu gen của các biến thể VDR. **Kết quả:** Tần suất kiểu gen Apal rs7975232 GT và allele T thấp hơn có ý nghĩa thống kê so với nhóm người khỏe mạnh [OR = 0,3 (0,1 - 0,6), p=0,006 và OR = 0,7 (0,5 - 0,98), p=0,048]. Kiểu gen VDR-Aapl rs7975232 TT liên quan có ý nghĩa với quá trình tiến triển của bệnh (HCC vs. CHB: OR = 3,7 (1,1 - 13,5), p=0,04). Cả hai biến thể VDR Apal và FokI có liên quan với nồng độ vitamin D trong huyết thanh ở bệnh nhân bị nhiễm HBV. **Kết luận:** Sự liên quan có ý nghĩa của biến thể VDR Apal (rs7975232) với tính nhạy cảm với nhiễm HBV và hậu quả lâm sàng ở bệnh nhân nhiễm HBV mạn tính. Ngoài ra, biến thể Apal và FokI có thể là một yếu tố di truyền vật chủ giúp đánh giá sự thiếu hụt nồng độ vitamin D ở bệnh nhân nhiễm HBV mạn tính.

Từ khóa: VDR, thiếu hụt vitamin D, nhiễm HBV, bệnh gan mạn tính.

Summary

Objective: This study is to investigate the association of VDR variants [TaqI (rs731236), FokI (rs10735810), Apal (rs7975232) and BsmI (rs1544410)] with HBV susceptibility and liver disease progression in chronic HBV infection. This study also evaluates the relationship between these VDR variants and the serum vitamin D levels in HBV-infected patients. **Subject and method:** This study is designed as a case-control study involved 298 patients [CHB (n = 104), LC (n = 89), HCC (n = 105)] and 52 healthy people (HC). VDR genotyping was performed by ARMS-PCR. **Result:** The frequency of genotype Apal rs7975232 GT and allele T was significantly lower in HBV infected patients compared to HC [OR = 0.3 (0.1 - 0.6), p=0.006 and OR = 0.7 (0.5 - 0.98),

Ngày nhận bài: 01/7/2019, ngày chấp nhận đăng: 10/7/2019

Người phản hồi: Nghiêm Xuân Hoàn, Email: nghiemxuanhoan@gmail.com - Bệnh viện TWQĐ 108

p=0.048]. VDR-AapI rs7975232 TT was significantly associated with liver disease progression [HCC vs. CHB: OR = 3.7 (1.1 - 13.5), p=0.041]. Both VDR variants Apal and FokI were associated with vitamin D levels in the serum in HBV infected patients. *Conclusion:* The significant association of VDR variant Apal (rs7975232) with the susceptibility to HBV infection and the clinical outcomes of HBV infected patients. Additionally, Apal and FokI variant may be a genetic factor supporting the valuation of vitamin D levels in HBV infected patients.

Keywords: VDR, vitamin D deficiency, HBV infection, chronic liver disease.

1. Đặt vấn đề

Nhiễm HBV là nguyên nhân hàng đầu dẫn đến các biến chứng nguy hiểm đe dọa đến cuộc sống và tính mạng người bị nhiễm bao gồm viêm gan cấp bùng phát, xơ gan và ung thư gan. HBV là vi rút không gây tổn thương trực tiếp tế bào gan. Người ta cho rằng hậu quả và tiến triển lâm sàng ở bệnh nhân nhiễm HBV được xác định là do mối tương tác giữa đáp ứng miễn dịch vật chủ và vi rút [1]. Trong đó yếu tố di truyền vật chủ có vai trò quan trọng đối với sự tiến triển viêm gan mạn tính, bao gồm các biến thể di truyền của gen mã hoá thụ thể vitamin D [1], [2].

Vitamin D đóng vai trò quan trọng trong việc điều phối hệ thống chuyển hóa xương, bên cạnh đó nó còn có ý nghĩa lớn trong việc điều biến cả đáp ứng miễn dịch bẩm sinh và miễn dịch thích nghi thông qua thụ thể vitamin D (vitamin D receptor hoặc VDR). VDR thuộc họ thụ thể nhân của các yếu tố phiên mã. Thụ thể này biểu hiện trên nhiều loại tế bào khác nhau bao gồm các tế bào miễn dịch (tế bào đơn nhân, đại thực bào, tế bào miễn dịch hình sao, tế bào T và B) và hơn 36 loại nhu mô khác nhau [3]. Các nghiên cứu gần đây cho thấy thiếu hụt vitamin D là một trong những yếu tố nguy cơ phát sinh ung thư, bệnh tim mạch, bệnh tự miễn và bệnh lý truyền nhiễm bao gồm viêm gan B mạn tính [4] và chức năng của vitamin D thông qua thụ thể VDR liên quan đến nhiều quá trình sinh bệnh học bao gồm sự tăng sinh, biệt hoá tế bào và vì vậy có liên quan đến quá trình phát sinh ung thư bao gồm ung thư gan (HCC). Nhiều nghiên cứu cho thấy tính đa hình điểm đơn nucleotid (SNP) của VDR có liên quan đến nguy cơ cảm nhiễm, tiến triển bệnh của nhiều bệnh lý truyền nhiễm và các rối loạn

chuyển hoá bao gồm béo phì và đái tháo đường, bệnh lý tự miễn, bệnh lao phổi và viêm gan vi rút do nhiễm HBV hay HCV. Phần lớn các nghiên cứu này tập trung vào nghiên cứu tính đa hình điểm đơn nucleotid của các biến thể: TaqI (rs731236), FokI (rs10735810), Apal (rs7975232) và BsmI (rs1544410).

Trên đối tượng bệnh nhân nhiễm HBV, các kết quả nghiên cứu trên các biến thể VDR này còn chưa thống nhất và chưa có nghiên cứu nào công bố trên đối tượng người nhiễm HBV mạn tính tại Việt Nam. Tại Việt Nam, tỷ lệ nhiễm HBV cao dao động khoảng từ 10 - 20%. Bệnh lý viêm gan mạn tính và các biến chứng do nhiễm HBV được dự đoán vẫn sẽ là một gánh nặng y tế cộng đồng đáng quan tâm thậm chí trong nhiều thập kỷ nữa. Do đó, chúng tôi tiến hành nghiên cứu này nhằm mục tiêu: *Khảo sát mối liên quan giữa tính đa hình gen mã hoá thụ thể vitamin D và biểu hiện lâm sàng ở bệnh nhân nhiễm vi rút viêm gan B mạn tính, đánh giá mối liên quan của tính đa hình VDR và sự thiếu hụt vitamin D ở bệnh nhân nhiễm HBV bao gồm viêm gan B mạn tính (CHB), xơ gan (LC) và ung thư gan (HCC).*

2. Đối tượng và phương pháp

2.1. Đối tượng

Thiết kế nghiên cứu: Nghiên cứu bệnh-chứng.

Nghiên cứu tiến hành trên 298 bệnh nhân bị nhiễm HBV được phân loại thành 3 nhóm dựa theo tiêu chuẩn lâm sàng bao gồm CHB (n = 104), LC (n = 89), HCC (n = 105). Ngoài ra, 52 người khỏe mạnh (HC) được đưa vào nghiên cứu làm nhóm chứng.

Thời gian và địa điểm nghiên cứu: Nghiên cứu được tiến hành tại Bệnh viện Trung ương Quân đội 108 từ tháng 10/2013 đến tháng 10/2015.

2.2. Phương pháp

Kỹ thuật ARMS-PCR được sử dụng để xác định kiểu gen của các biến thể VDR. Nồng độ vitamin D toàn bộ huyết thanh được định lượng bằng phương pháp ELISA. Trong nghiên cứu này chúng tôi phân loại sự thiếu hụt vitamin D như sau: Nồng độ vitamin D bình thường ($\geq 30\text{ng/ml}$), thiếu vitamin D mức độ vừa ($20 - 29,9\text{ng/ml}$), thiếu vitamin D mức độ nặng ($10 - 19,9\text{ng/ml}$), thiếu vitamin D mức độ rất nặng ($< 10\text{ng/ml}$).

2.3. Xử lý số liệu

Số liệu được xử lý bằng phần mềm R. Chi-square test được sử dụng để so sánh tỷ lệ giữa các nhóm. Kruskal-Wallis test và Mann-Whitney-Wilcoxon test được sử dụng để so sánh giữa các nhóm cho các biến liên tục. Ngoài ra, chúng tôi sử dụng mô hình random forest (random forest model) để xác định tính quan trọng của các yếu tố tiên lượng bao gồm các biến thể của VDR đối với sự thiếu hụt vitamin D ở bệnh nhân viêm gan B mạn tính. Tất cả các so sánh có ý nghĩa thống kê khi $p < 0,05$.

3. Kết quả

3.1. Đặc điểm chung của các đối tượng nghiên cứu

Bảng 1. Đặc điểm chung về lâm sàng và cận lâm sàng của các đối tượng nghiên cứu

Đặc điểm	CHB (n = 104)	LC (n = 89)	HCC (n = 105)	HC (n = 52)
Tuổi	42 (21 - 79)	52 (21 - 85)	50 (27 , 82)	34 (20 – 55) α
Giới nam (%)	87,5	75,4	95	79
Bạch cầu ($10^3/\text{ml}$)	6,4 (3,6 - 13,9)	6,2 (1,8 - 20,5)	6,4 (3,6 - 13,9)	Bình thường
Hồng cầu ($10^3/\text{ml}$)	4,8 (2,0 - 6,4)	3,7 (2,0 - 5,3)	4,8 (2,0 - 6,4)	Bình thường
Tiểu cầu ($10^3/\text{ml}$)	184 (21 - 472)	86 (18 - 441) β	203 (20 - 389)	Bình thường
AST (IU/L)	231 (17- 7700) β	93 (25 -1221)	50 (17 - 2158)	Bình thường
ALT (IU/L)	328 (21 - 4980) β	54 (10 - 6290)	46 (10 - 832)	Bình thường
T-bilirubin ($\mu\text{mol/L}$)	24 (6 - 499)	41 (6,4 - 733)	14 (5 - 235)	Bình thường
D-bilirubin ($\mu\text{mol/L}$)	8,7 (1 - 300)	16 (1,9 - 450)	5 (1,2 - 167)	Bình thường
Albumin (g/L)	40 (16 - 53)	29 (16 - 50) $\ddagger \beta$	39 (27 - 49)	Bình thường
Prothrombin (%)	87 (41 -140)	45 (14 - 101) $\ddagger \beta$	80 (31 - 115)	Bình thường
HBV-DNA (copies/ml)	$3,5 \times 10^6$ ($1,6 \times 10^3 - 1,1 \times 10^{10}$) β	$2,06 \times 10^5$ ($4,6 \times 10^2 - 4,9 \times 10^9$)	$5,6 \times 10^6$ ($2,1 \times 10^2 - 2,3 \times 10^8$)	
AFP (IU/L)	2,9 (1,5 - 320)	7,4 (1,2 - 400)	191 (1,2 - 400) β	Bình thường

Nhận xét: Phần lớn các đối tượng nghiên cứu là nam giới (85,3%) ở nhóm bệnh nhân viêm gan B và 79% ở nhóm người khỏe mạnh. Tuổi của nhóm người khỏe mạnh (median: 37 tuổi) thấp hơn có ý nghĩa so với nhóm bệnh nhân viêm gan B (median: 50 tuổi) (α , $p < 0,05$). Chính vì sự khác biệt giữa sự phân bố về tuổi và giới giữa 2 nhóm, vì vậy chúng tôi sử dụng các phương pháp phân tích thống kê điều chỉnh cho nhiều yếu tố nguy cơ trong đó có tuổi và giới để làm tăng độ mạnh của phân tích thống kê. Nồng độ ALT và AST cao hơn có ý nghĩa ở nhóm CHB so với HCC và LC ($p < 0,001$). Nồng độ albumin, số lượng tiểu cầu và tỷ lệ prothrombin thấp hơn có ý nghĩa ở nhóm LC so với CHB và HCC ($p < 0,01$). Nồng độ AFP cao hơn có ý nghĩa ở bệnh nhân HCC so với CHB và LC ($p < 0,001$). Chú thích: α , $p < 0,05$; β , $p < 0,001$.

3.2. Tần suất genotype và allele của các biến thể VDR ở bệnh nhân viêm gan B mạn tính và ở nhóm người khỏe mạnh

Bảng 2. Phân bố tần suất genotype và allele của các biến thể VDR ở bệnh nhân viêm gan B và người khỏe mạnh

		HC	CHB	LC	HCC	CHB vs. HC		LC vs. HC		HCC vs. HC		HBV vs. HC	
		n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	OR; 95% CI	p	OR; 95% CI	p	OR; 95% CI	p	OR; 95% CI	p
Apal rs7975 232 G>T	GG	9 (18,8)	45 (44,1)	41 (50,6)	39 (44,8)	1		1		1		1	
	GT	35 (72,9)	52 (51)	32 (39,5)	36 (41,4)	0,35 (0,14 - 0,83)	0,044	0,13 (0,04 - 0,48)	0,003	0,1 (0,03 - 0,4)	2,24 E-04	0,3 (0,1 - 0,6)	0,006
	TT	4 (8,3)	5 (4,9)	8 (9,9)	12 (13,8)	0,4 (0,08 - 1,88)	>0,05	0,35 (0,03 - 3,9)	>0,05	2,14 (0,26 - 17,6)	>0,05	0,54 (0,14 - 2,12)	>0,05
	Allele												
	G	53 (55,2)	142 (69,6)	114 (70,4)	114 (65,5)	1		1		1		1	
	T	43 (44,8)	62 (30,4)	48 (29,6)	60 (34,5)	0,7 (0,4 - 1,06)	0,052	0,7 (0,4 - 0,9)	0,039	0,8 (0,5 - 1,1)	0,059	0,7 (0,5 - 0,98)	0,048
BsmI rs1544 410 C>T	CC	45 (90)	93 (92,1)	70 (92,1)	90 (95,7)	1		1		1		1	
	TC	5 (10)	7 (6,9)	5 (6,6)	4 (4,3)	0,64 (0,18 - 2,26)	>0,05	0,82 (0,14 - 4,72)	>0,05	0,7 (0,1 - 5,44)	>0,05	0,5 (0,16 - 1,76)	>0,05
	TT	0	1 (1)	1 (1,3)	0	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
	Allele												
	C	95 (95)	193 (95,5)	145 (95,4)	184 (97,9)	1		1		1		1	
	T	5 (5)	9 (4,5)	7 (4,6)	4 (2,1)	0,85 (0,25 - 3,31)	>0,05	0,88 (0,23 - 3,60)	>0,05	0,41 (0,08 - 1,93)	>0,05		>0,05
FokI (rs1073 5810 C>T)	CC	15 (30,6)	28 (28)	12 (15,6)	23 (25)	1		1		1		1	
	TC	24 (49)	53 (53)	47 (61)	53 (57,6)	1,06 (0,45 - 2,46)	>0,05	2,07 (0,59 - 7,22)	>0,05	2,18 (0,61 - 7,87)	>0,05	1,31 (0,58 - 2,96)	>0,05
	TT	10 (20,4)	19 (19)	18 (23,4)	16 (17,4)	0,84 (0,3 - 2,4)	>0,05	0,83 (0,19 - 3,65)	>0,05	0,56 (0,12-2,67)	>0,05	0,84 (0,31 - 2,29)	>0,05
	Allele												
	C	54 (55,1)	109 (54,5)	71 (46,1)	99 (53,8)	1		1		1		1	
	T	44	91	83	85	1,01	>0,05	1,20	>0,05	1,03	>0,05	1,07	>0,05

		(44,9)	(45,5)	(53,9)	(46,2)	(0,64 - 1,61)		(0,75-1,93)		(0,65 - 1,64)		(0,72 - 1,62)	
TaqI													
rs7312 36 T>C	TT	44 (93,6)	97 (93,3)	81 (91)	84 (87,5)	1		1		1		1	
	TC	3 (6,4)	7 (6,7)	8 (9)	12 (12,5)	1,15 (0,27 - 4,95)	>0,05	2,91 (0,38 - 22,3)	>0,05	1,79 (0,22 - 14,36)	>0,05	1,41 (0,36 - 5,69)	>0,05
	CC	0	0	0	0	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
	Allele												
	T	51 (94,4)	201 (96,6)	170 (95,5)	180 (93,7)	1		1		1		1	
	C	3 (5,6)	7 (3,4)	8 (4,5)	12 (6,3)	0,61 (0,13 - 3,76)	>0,05	0,81 (0,19 - 4,90)	>0,05	1,12 (0,29 - 6,43)	>0,05	0,84 (0,25 - 4,47)	>0,05

Nhận xét: Trong 4 SNP được khảo sát bao gồm Apal (rs7975232), BsmI (rs1544410), FokI (rs10735810) và Apal (rs7975232), kết quả phân tích cho thấy chỉ có SNP Apal cho kết quả có ý nghĩa thống kê khi so sánh tần suất genotype và allele giữa các nhóm bệnh nhân viêm gan B mạn tính và nhóm người khỏe mạnh. Tần suất genotype GT và allele T thấp hơn có ý nghĩa ở nhóm bệnh nhân viêm gan B mạn tính so với nhóm người khỏe mạnh [OR = 0,3 (0,1 - 0,6), p=0,006 và OR = 0,7 (0,5 - 0,98), p=0,048]. Kết quả phân tích chỉ ra rằng genotype GT và allele T của biến thể Apal (rs7975232) có liên quan đến giảm tính cảm nhiễm HBV.

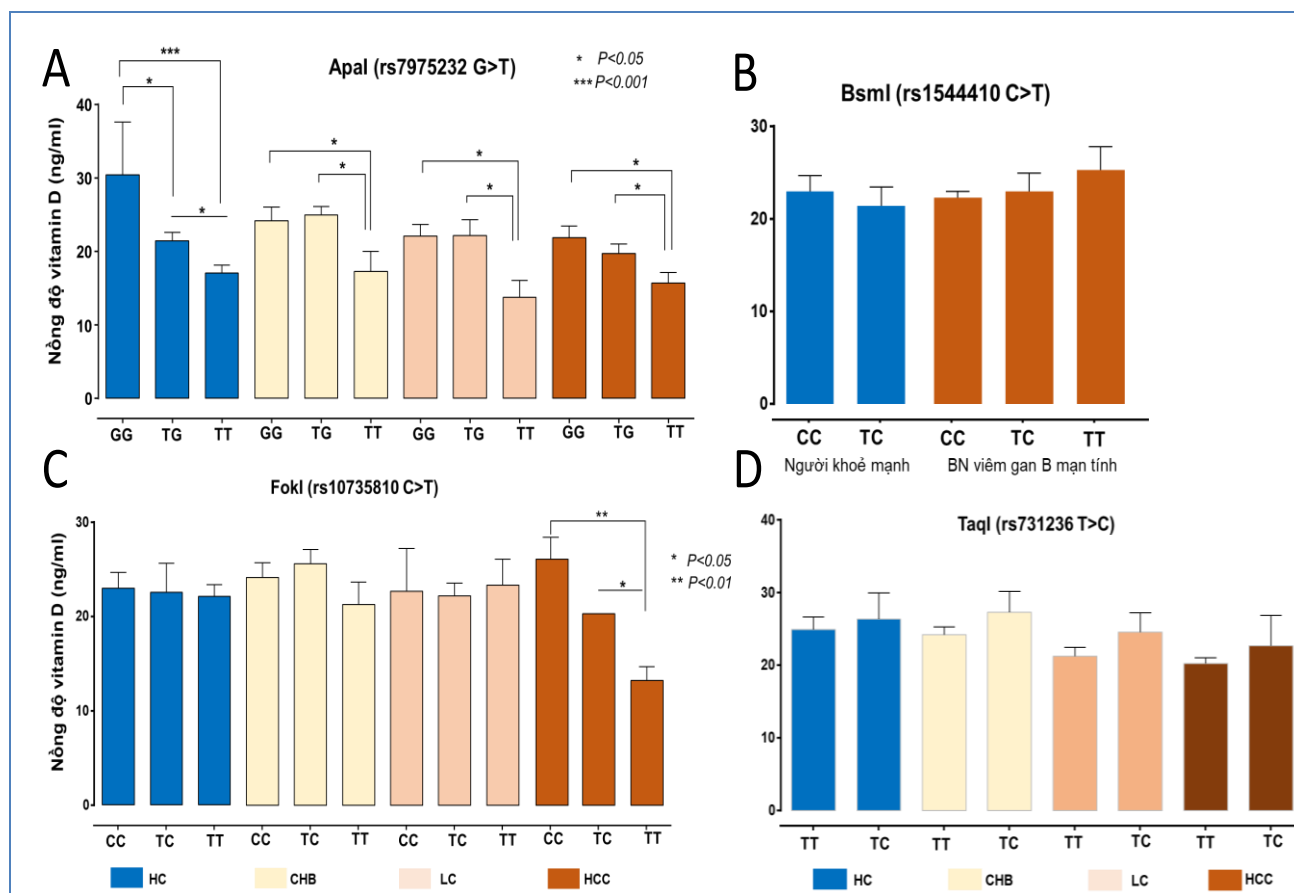
Bảng 3. Mối tương quan của các biến thể VDR đối với tiến triển lâm sàng ở bệnh nhân viêm gan B mạn tính

		CHB	LC	HCC	LC vs CHB		HCC vs. CHB		HCC vs. LC	
		n (%)	n (%)	n (%)	OR; 95% CI	p	OR; 95% CI	p	OR; 95% CI	p
Apal rs7975232 G>T	GG	45 (44,1)	41 (50,6)	39 (44,8)	1		1		1	
	GT	52 (51)	32 (39,5)	36 (41,4)	0,9 (0,5 - 1,8)	>0,05	0,7 (0,4 - 1,5)	>0,05	1,3 (0,7 - 2,4)	>0,05
	TT	5 (4,9)	8 (9,9)	12 (13,8)	2,1 (0,6 - 8,6)	>0,05	3,7 (1,1 - 13,5)	0,041	1,6 (0,6 - 4,8)	>0,05
	Allele									
	G	142 (69,6)	114 (70,4)	114 (65,5)	1		1		1	
	T	62 (30,4)	48 (29,6)	60 (34,5)	1,0 (0,6 - 1,6)	>0,05	1,2 (0,7 - 1,9)	>0,05	1,3 (0,8 - 2,0)	>0,05
BsmI rs1544410 C>T	CC	93 (92,1)	70 (92,1)	90 (95,7)	1		1		1	
	TC	7 (6,9)	5 (6,6)	4 (4,3)	0,9 (0,3 - 3,2)	>0,05	0,5 (0,1 - 1,9)	>0,05	0,6 (0,2 - 2,1)	>0,05
	TT	1 (1)	1 (1,3)	0	NA	NA	NA	NA	NA	NA
	Allele									
	C	193 (95,5)	145 (95,4)	184 (97,9)	1		1		1	
	T	9 (4,5)	7 (4,6)	4 (2,1)	1,0 (0,3 - 3,2)	>0,05	0,5 (0,1 - 1,7)	>0,05	0,4 (0,08 - 1,8)	>0,05
FokI (rs10735810 C>T)	CC	28 (28)	12 (15,6)	23 (25)	1		1		1	
	TC	53 (53)	47 (61)	53 (57,6)	1,8 (0,7 - 4,3)	>0,05	1,4 (0,6 - 3,0)	>0,05	0,5 (0,2 - 1,387)	>0,05
	TT	19 (19)	18 (23,4)	16 (17,4)	2,0 (0,7 - 5,7)	>0,05	0,8 (0,3 - 2,2)	>0,05	0,4 (0,2 - 1,3)	>0,05
	Allele									

TaqI rs731236 T>C	C	109 (54,5)	71 (46,1)	99 (53,8)	1		1		1	
	T	91 (45,5)	83 (53,9)	85 (46,2)	1,4 (0,9 - 2,2)	>0,05	1,0 (0,7 - 1,6)	>0,05	0,7 (0,5 - 1,2)	>0,05
	TT	97 (93,3)	81 (91)	84 (87,5)	1		1		1	
	TC	7 (6,7)	8 (9)	12 (12,5)	1,5 (0,4 - 4,95)	>0,05	1,3 (0,4 - 4,2)	>0,05	1,5 (0,5 - 4,1)	>0,05
	CC	0	0	0	NA	NA	NA	NA	NA	NA
	Allele									
	T	201 (96,6)	170 (95,5)	180 (93,7)	1		1		1	
	C	7 (3,4)	8 (4,5)	12 (6,3)	1,4 (0,4 - 4,5)	>0,05	1,9 (0,7 - 5,9)	>0,05	1,4 (0,5 - 4,1)	>0,05

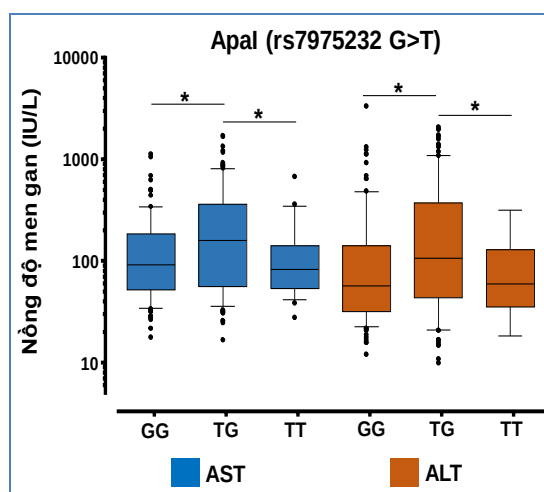
Nhận xét: Trong 4 biến thể được khảo sát bao gồm Apal (rs7975232), BsmI (rs1544410), FokI (rs10735810) và TaqI (rs731236), kết quả phân tích cho thấy chỉ có SNP Apal cho kết quả có ý nghĩa thống kê khi so sánh tần suất genotype giữa nhóm bệnh nhân HCC và nhóm bệnh nhân CHB. Tần suất genotype TT cao hơn có ý nghĩa ở nhóm bệnh nhân HCC so với nhóm CHB [OR = 3,7 (1,1 - 13,5), p=0,041]. Kết quả phân tích cho biết rằng genotype TT của biến thể Apal (rs7975232) có thể là một yếu tố nguy cơ đóng góp vào quá trình tiến triển bệnh phát sinh ung thư gan ở bệnh nhân viêm gan B mạn tính.

3.3. Mối tương quan giữa các biến thể VDR và nồng độ vitamin D ở bệnh nhân viêm gan B và người khỏe mạnh



Hình 1. Sự phân bố nồng độ vitamin D và genotype của các biến thể VDR ở bệnh nhân viêm gan B và người khỏe mạnh

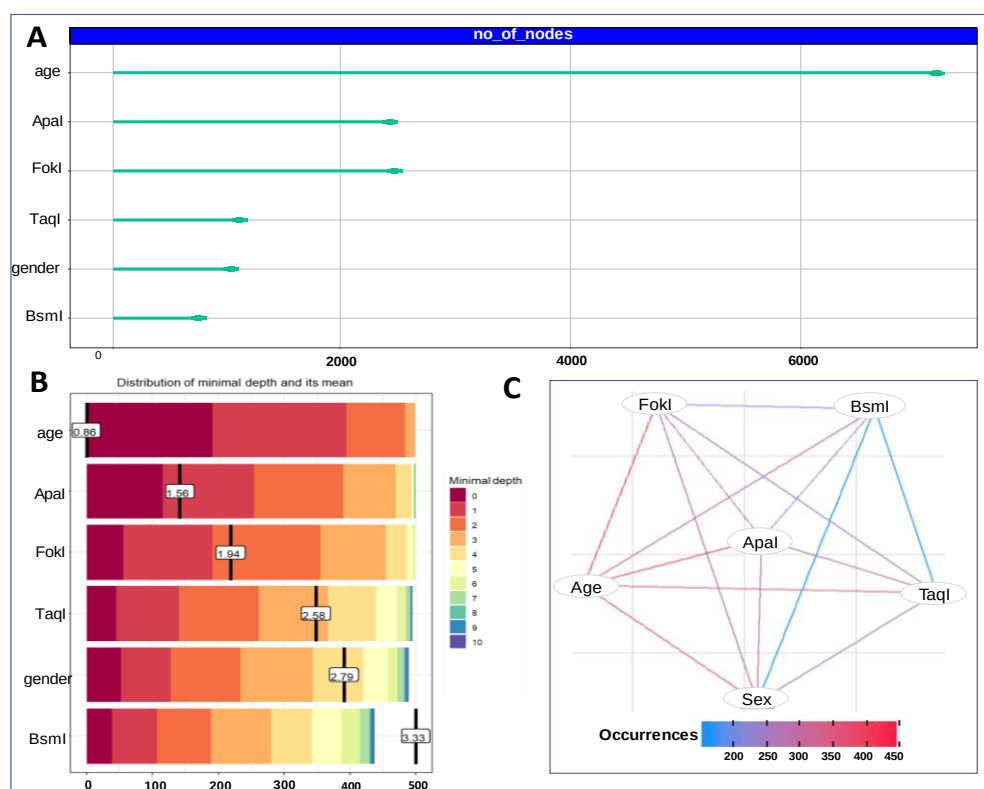
Nhận xét: Biến thể VDR Apal (rs7975232) (Hình 1A): Nồng độ vitamin D ở người mang genotype TT thấp hơn có ý nghĩa so với người mang genotype GG hay TG ở tất cả các nhóm nghiên cứu bao gồm HC, CHB, LC và HCC. Biến thể VDR FokI (rs10735810) (Hình 1C): Nồng độ vitamin D ở người mang genotype TT thấp hơn có ý nghĩa so với người mang genotype CC và TC ở nhóm HCC. Không có sự khác biệt đối với các nhóm nghiên cứu khác. Không có sự khác biệt về nồng độ vitamin D giữa các genotype ở các nhóm bệnh nhân hoặc người khỏe mạnh ở 2 biến thể còn lại BsmI (rs1544410) và TaqI (rs731236) (Hình 1B và 1D).



Hình 2. Mối tương quan giữa biến thể VDRA pal và các thông số cận lâm sàng

Nhận xét: Biến thể VDR ApaI (rs7975232): Nồng độ men gan tăng hơn có ý nghĩa ở bệnh nhân mang genotype TG so với genotype GG và TT. Không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê khi phân tích cho các chỉ số cận lâm sàng khác bao gồm nồng độ bilirubin, albumin, tỷ lệ prothrombin, số lượng tế bào tiểu cầu, tải lượng HBV DNA (dữ liệu không được trình bày).

Biến thể BsmI (rs1544410), FokI (rs10735810) và TaqI (rs731236): Không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê khi phân tích cho tất cả các chỉ số cận lâm sàng bao gồm nồng độ men gan AST và ALT, bilirubin, albumin, tỷ lệ prothrombin, số lượng tế bào tiểu cầu, tải lượng HBV DNA (dữ liệu không được trình bày).



Hình 3. Tầm quan trọng của các biến tiên lượng sự thiếu hụt vitamin D ở bệnh nhân viêm gan B mạn tính trong random forest model

Nhận xét: Random forest model đánh giá tính quan trọng của các biến tiên lượng sự thiếu hụt nồng độ vitamin D (bình thường $\geq 30\text{ng/ml}$, thiếu hụt $< 30\text{ng/ml}$). Trong mô hình này bao gồm các biến tiên lượng: Các biến thể VDR, tuổi (age) và giới (sex). Trong đó tuổi là biến có mối liên quan có ý nghĩa nhất với sự thiếu hụt vitamin D. Trong các biến thể VDR, mô hình này cũng cho kết quả tương tự khi phân tích đơn biến đã được trình bày trong Hình 2. Chúng ta thấy Apal và FokI là các biến xuất hiện nhiều trong cây quyết định [thể hiện bằng chỉ số no-of-nodes (Hình A); no-of-trees (Hình C) và chiều sâu của cây quyết định để cho ra một kết quả phân loại, sau nhiều lần phân nhánh (Hình B).

4. Bàn luận

Vitamin D được coi là một loại hormone đóng vai trò quan trọng không chỉ trong cơ chế trao đổi calcium và cơ chế điều hòa cân bằng chuyển hóa hệ thống xương mà còn có nhiều ảnh hưởng trong sự điều hòa của hệ miễn dịch trong cơ thể [3]. Vai trò sinh lý của vitamin D trong cơ thể được biểu hiện thông qua VDR. VDR đóng vai trò rất quan trọng trong nhiều bệnh lý truyền nhiễm, tự miễn, ung thư. Trong nghiên cứu này, chúng tôi nghiên cứu mối liên quan giữa biến thể di truyền của thụ thể vitamin D và bệnh cảnh lâm sàng ở bệnh nhân viêm gan B mạn tính. Hơn nữa chúng tôi khảo sát mối liên quan giữa các biến thể VDR và sự thiếu hụt vitamin D trong mối liên quan đến tiến triển lâm sàng ở bệnh nhân viêm gan B mạn tính.

Gen mã hoá thụ thể VDR nằm trên nhiễm sắc thể số 12 và bao gồm 11 exon. Exon 1A, 1B và 1C tạo nên vùng 5' không mã hoá. 8 exon (Exon 2-9) mã hoá các thành phần cấu trúc của VDR. Biến thể TaqI nằm tại vùng exon 9, trong khi 2 biến thể Apal và BsmI nằm tại vị trí intron 8. Tính đa hình ở 3 vị trí này không ảnh hưởng đến chức năng tổng hợp và biểu hiện protein của gen VDR. Chỉ có biến thể FokI nằm tại vị trí exon 2 đầu cuối 5' được cho là có ảnh hưởng đến sự

thay đổi cấu trúc và hoạt động phiên mã của VDR. Hoạt động phiên mã của VDR ở người mang allele T (Biến thể: FokI rs10735810) thấp hơn so với dạng không mang allele đột biến (Allele C) [5]. Kết quả nghiên cứu của chúng tôi cũng cho thấy rằng nồng độ vitamin D ở bệnh nhân ung thư genotype FokI rs10735810 TT thấp hơn có ý nghĩa so với nhóm bệnh nhân ung thư gan mang genotype CC và CT.

Các nghiên cứu về mối tương quan giữa các biến thể VDR trên và nguy cơ nhiễm HBV cho các kết quả không thống nhất [6], [7]. Gần đây một phân tích tổng hợp (Meta analysis) phân tích 15 nghiên cứu về mối tương quan giữa các biến thể di truyền VDR đối với tính cảm nhiễm HBV và bệnh cảnh lâm sàng ở bệnh nhân nhiễm HBV trên các quần thể khác nhau [7]. Trong nghiên cứu này, 4218 bệnh nhân nhiễm HBV và 2298 người khỏe mạnh được phân tích. Kết quả phân tích cho thấy genotype FokI rs10735810 CC và allele C được cho là yếu tố nguy cơ đối với nhiễm HBV [OR = 1,54 (1,2 - 2,0), $p < 0,01$ và OR = 1,23 (1,04 - 1,45), $p = 0,02$]. Tuy nhiên, trong nghiên cứu của chúng tôi, biến thể Apal (rs7975232) là biến thể duy nhất liên quan có ý nghĩa đến tính cảm nhiễm HBV và quá trình tiến triển bệnh cảnh lâm sàng ở bệnh nhân viêm gan B mạn tính.

Đối với biến thể Apal, kết quả nghiên cứu của chúng tôi cho thấy người mang allele T có khả năng nhiễm HBV thấp hơn so với người mang allele G. Người mang genotype TT liên quan có ý nghĩa đến nguy cơ tiến triển ung thư gan ở bệnh nhân viêm gan B mạn tính. Một nghiên cứu khác được tiến hành bởi Li và cộng sự [8] đã báo cáo có mối liên quan ý nghĩa của biến thể này đối với quá trình tiến triển xơ gan ở bệnh nhân nhiễm HBV mạn tính. Suneetha và cộng sự cũng báo cáo [9] vai trò của biến thể Apal ở bệnh nhân nhiễm HBV. Trong nghiên cứu

này, VDR-Apal rs7975232 TT được cho là một yếu tố liên quan có ý nghĩa đến tải lượng HBV DNA cao hơn có ý nghĩa so với các kiểu gen khác của Apal. Nghiên cứu trước đây của chúng tôi báo cáo mối tương quan nghịch đảo của nồng độ vitamin D với tải lượng HBV DNA ở bệnh nhân nhiễm HBV mạn tính [4]. Điều này thì phù với kết quả trong nghiên cứu này của chúng tôi vì người mang VDR-Apal rs7975232TT có nồng độ vitamin D trong huyết thanh thấp hơn so với người mang kiểu gen VDR-Apal rs7975232GT và GG trong tất cả các nhóm bệnh nhân bao gồm CHB, LC và HCC.

Liên quan đến quá trình tiến triển bệnh lý viêm gan B mạn tính, nhiều nghiên cứu cho thấy rằng vitamin D liên quan đến ức chế quá trình viêm và tiến triển xơ gan. Những bằng chứng này đã được chứng minh trên chuột bị knockout các thụ cảm thể VDR. Những nghiên cứu khác cũng chứng minh rõ ràng sự thiếu hụt vitamin D là nguyên nhân của tình trạng tiến triển xơ hóa gan trên những đối tượng bệnh nhân viêm gan thoái hóa mỡ không do rượu (NAFLD) và ở bệnh nhân nhiễm HBV [4] mặc dù cơ chế tại sao các biến thể của VDR đóng vai trò đối với tính cảm nhiễm HBV và tiến triển bệnh vẫn còn chưa rõ ràng.

5. Kết luận

Chúng tôi báo cáo lần đầu tiên trên đối tượng bệnh nhân tại Việt Nam về vai trò của các biến thể VDR đối với tính cảm nhiễm HBV và tiến triển bệnh ở bệnh nhân viêm gan B mạn tính. VDR Apal là biến thể liên quan có ý nghĩa đến tính cảm nhiễm HBV, tiến triển của bệnh và mối liên quan có ý nghĩa của biến thể này đối với nồng độ vitamin D huyết thanh ở bệnh nhân nhiễm HBV mạn tính.

Tài liệu tham khảo

1. Zeng Z (2014) *Human genes involved in hepatitis B virus infection*. World J Gastroenterol 20: 7696-7706.
2. Karatayli SC, Ulger ZE, Ergul AA et al (2014) *Tumour necrosis factor-alpha, interleukin-10, interferon-gamma and vitamin D receptor gene polymorphisms in patients with chronic hepatitis delta*. J Viral Hepat 21: 297-304.
3. Deluca HF, Cantorna MT (2001) *Vitamin D: Its role and uses in immunology*. FASEB J 15: 2579-2585.
4. Hoan NX, Khuyen N, Binh MT et al (2016) *Association of vitamin D deficiency with hepatitis B virus - related liver diseases*. BMC Infect Dis 16: 507.
5. Whitfield GK, Remus LS, Jurutka PW et al (2001) *Functionally relevant polymorphisms in the human nuclear vitamin D receptor gene*. Mol Cell Endocrinol 177: 145-159.
6. Zhu Q, Li N, Han Q et al (2012) *Single-nucleotide polymorphism at CYP27B1-1260, but not VDR Taq I, is possibly associated with persistent hepatitis B virus infection*. Genet Test Mol Biomarkers 16: 1115-1121.
7. He Q, Huang Y, Zhang L, Yan Y, Liu J, Song X, Chen W (2018) *Association between vitamin D receptor polymorphisms and hepatitis B virus infection susceptibility: A meta-analysis study*. Gene 645: 105-112.
8. Li J, Dong PH, Jin YH, Lu MQ, Pan FF, Wang BS, Chen YP (2006) *The relationship between vitamin D receptor gene polymorphism and liver fibrosis*. Zhejiang Med J 28: 426-434.
9. Suneetha PV, Sarin SK, Goyal A, Kumar GT, Shukla DK, Hissar S (2006) *Association between vitamin D receptor, CCR5, TNF-alpha and TNF-beta gene polymorphisms and HBV infection and severity of liver disease*. J Hepatol 44: 856-863.