

BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO

BỘ Y TẾ

ĐẠI HỌC Y DƯỢC THÀNH PHỐ HỒ CHÍ MINH

LÊ THỊ THÚY HẰNG

KHẢO SÁT QUẦN THỂ TẾ BÀO LYMPHO T CD4
TREG VÀ TH17 Ở BỆNH NHÂN NHIỄM HBV MẠN

Ngành: Bệnh truyền nhiễm và các bệnh nhiệt đới

Mã số: 9720109

TÓM TẮT LUẬN ÁN TIẾN SĨ Y HỌC

TP. Hồ Chí Minh, năm 2023

Công trình được hoàn thành tại:

Đại học Y Dược Thành Phố Hồ Chí Minh

Người hướng dẫn khoa học: PGS.TS. Phạm Thị Lệ Hoa

Phản biện 1:

Phản biện 2

Phản biện 3:

Luận án sẽ được bảo vệ trước Hội đồng chấm luận án cấp trường
hợp tại Đại học Y Dược Thành phố Hồ Chí Minh
vào hồi giờ ngày tháng năm 2023

Có thể tìm hiểu Luận án tại thư viện:

- Thư viện Quốc gia Việt Nam
- Thư viện Khoa học Tổng hợp TP. HCM
- Thư viện Đại học Y Dược TP. HCM

I. GIỚI THIỆU LUẬN ÁN

1.1. Lý do và tính cần thiết của nghiên cứu

Vi rút viêm gan B (HBV) vẫn là một trong những tác nhân gây tử vong hàng đầu do bệnh gan giai đoạn cuối và ung thư biểu mô tế bào gan trên thế giới. Việc điều trị khỏi vẫn chưa khả thi do DNA của HBV lồng ghép vào bộ DNA của người.

Trên người nhiễm HBV mạn, quá trình tương tác giữa HBV và phản ứng miễn dịch của ký chủ diễn ra thường xuyên. Tế bào T điều hoà (T regular- Treg) và T trợ giúp (T helper- Th)17 của quần thể tế bào lympho T CD4⁺ có vai trò đối ngược. Treg ức chế phản ứng miễn dịch, trì hoãn thải trừ HBV. Th17 kích thích và trợ giúp phản ứng viêm nhằm thải trừ vi rút gây tổn thương tế bào gan, suy gan. Gần đây, Treg tiết IL (interleukine)-17A ghi nhận vai trò kích thích miễn dịch.

FOXP3 - yếu tố phiên mã chính liên quan đến sự hình thành Treg, ROR γ t - yếu tố phiên mã chính của Th17 liên quan đến sự hình thành và sản xuất các cytokine đặc trưng của Th17.

Các nghiên cứu ở Trung Quốc, Đài Loan về tế bào Treg, Th17, yếu tố phiên mã FOXP3, ROR γ t và tương quan giữa các yếu tố này với tổn thương gan đã được thực hiện nhưng chưa thống nhất kết quả. Các vấn đề này chưa được nghiên cứu tại Việt Nam.

Câu hỏi nghiên cứu “Phản ứng của tế bào Treg, Th17 và mức độ biểu hiện các yếu tố phiên mã FOXP3 và ROR γ t của tế bào này trên bệnh nhân Việt Nam nhiễm HBV mạn HBeAg dương (HBV_e+), viêm gan B mạn HBeAg dương (VGMe+) và viêm gan B mạn đợt bùng phát (BP) khác nhau như thế nào”.

1.2. Mục tiêu nghiên cứu

a. Mô tả và so sánh tỉ lệ tế bào Treg, Th17 và tỉ số Treg/Th17 ở bệnh nhân nhiễm HBV mạn thuộc các nhóm: nhiễm HBV mạn HBeAg dương, viêm gan B mạn HBeAg dương và bùng phát.

b. Mô tả và so sánh mức độ biểu hiện các yếu tố phiên mã FOXP3 của Treg, ROR γ t của Th17 và tỉ số FOXP3/ROR γ t ở bệnh nhân thuộc các nhóm nhiễm HBV mạn.

c. So sánh đặc điểm các tế bào và các yếu tố phiên mã của hai nhóm viêm gan B mạn đợt bùng phát nhẹ và nặng.

d. Phân tích tương quan giữa các tế bào và các yếu tố phiên mã với tình trạng HBeAg, HBV DNA, men gan và chức năng gan ở các nhóm nhiễm HBV mạn.

1.3. Những đóng góp mới của nghiên cứu về mặt lý luận và thực tiễn

- Phản ứng tế bào Treg và Th17 tăng tỷ lệ với mức độ tổn thương tế bào gan.
- Phát hiện được tế bào Treg tiết IL-17A ở tất cả các nhóm nhiễm HBV mạn, tăng tỷ lệ với mức độ tổn thương gan.
- Chưa thấy tương quan giữa tế bào với yếu tố phiên mã, cần thực hiện cùng lúc đếm tế bào và yếu tố phiên mã.
- Phản ứng tế bào Treg có thể là một trong các dấu ấn trong chẩn đoán đợt viêm gan bùng phát nặng.
- Giữa các tế bào và giữa các yếu tố phiên mã trong các nhóm nhiễm HBV mạn có tương quan thuận.

1.4. Bố cục của luận án

Nội dung luận án gồm 115 trang: phần đặt vấn đề và mục tiêu nghiên cứu (3 trang), chương tổng quan tài liệu (28 trang), chương đối tượng và phương pháp nghiên cứu (18 trang), chương kết quả (34

trang), chương bàn luận (28 trang), phần kết luận (2 trang) và kiến nghị (1 trang), danh mục các công trình đã công bố (1 trang). Luận án có 18 bảng, 19 sơ đồ và biểu đồ, 7 hình, 134 tài liệu tham khảo với 4 tài liệu trong nước và 130 tài liệu nước ngoài.

II. TỔNG QUAN TÀI LIỆU

Nhiễm HBV mạn là nguyên nhân hàng đầu gây bệnh gan giai đoạn cuối, HCC và tử vong trên toàn thế giới. Việt nam nằm trong vùng lưu hành cao với tỉ lệ mang HBsAg khoảng 10,5% dân số.

Nhiễm HBV mạn trải qua nhiều giai đoạn do tương tác giữa phản ứng miễn dịch của cơ thể và HBV từ giai đoạn nhiễm HBV mạn HBeAg dương, viêm gan B mạn HBeAg dương, nhiễm HBV mạn HBeAg âm và viêm gan B mạn HBeAg âm, đặc biệt những đợt bùng phát viêm gan B mạn.

Tế bào T điều hoà (Treg) có vai trò ức chế miễn dịch đồng thời trì hoãn thải trừ HBV và T giúp đỡ (Th)17 có vai trò kích thích viêm gây viêm gan, suy gan và thúc đẩy thải trừ HBV.

FOXP3- yếu tố phiên mã chính của Treg và ROR γ t- yếu tố phiên mã chính của Th17 tham gia vào quá trình biệt hoá 2 tế bào này từ tế bào T CD4⁺ sơ khai và thực hiện chức năng của 2 tế bào.

Trong nhiễm HBV mạn, đã có các nghiên cứu về Treg, Th17, yếu tố phiên mã FOXP3, ROR γ t ở các giai đoạn bệnh nhưng kết quả chưa đầy đủ và thống nhất.

III. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

3.1. Thiết kế nghiên cứu: tiến cứu mô tả hàng loạt ca

3.2. Dân số nghiên cứu: bệnh nhân nhiễm HBV mạn ở các nhóm nhiễm HBV mạn HBeAg dương, viêm gan B mạn HBeAg dương và bùng phát

3.3. Tiêu chuẩn chọn các nhóm nghiên cứu

Nhóm chứng (KM)

- Không nhiễm HBV, ALT < 40 U/L
- Không sốt, không nhiễm trùng hiện hữu, không bệnh mạn tính

Nhóm bệnh gồm 3 nhóm:

Nhóm nhiễm HBV mạn HBeAg dương (HBVe+)

- HBsAg > 6 tháng, HBeAg dương
- ALT \leq ULN liên tục > 6 tháng (với ULN = 40 U/L), HBV DNA > 6 log cps/mL
- Mô gan bình thường trên siêu âm hoặc xơ hoá gan ở mức tối thiểu (chỉ số APRI < 0,5)

Nhóm viêm gan B mạn HBeAg dương (VGMe+)

- HBsAg > 6 tháng, HBeAg dương, HBV DNA > 5 log cps/mL
- ALT > 1 đến 5 ULN trong vòng 6 tháng
- Chưa điều trị đặc hiệu

Nhóm viêm gan B mạn đợt bùng phát (BP)

- HBsAg > 6 tháng, HBeAg dương hoặc âm
- ALT > 5 ULN
- HBV DNA > 5 log cps/mL (> 4 log cps/mL nếu HBeAg âm)

3.4. Thời gian và địa điểm

Nghiên cứu từ tháng 1/2018 đến 3/2022 tại ĐHYD TP HCM. Thu tuyển bệnh từ phòng khám viêm gan bệnh viện Đại học Y Dược và khoa nhiễm A bệnh viện Bệnh Nhiệt đới.

3.5. Các biến số nghiên cứu

Biến số nền:

- Tuổi, nhóm tuổi (≤ 40 tuổi và > 40 tuổi), giới
- HBeAg, HBV DNA
- AST, ALT
- Bilirubin, INR, Albumin

Biến số độc lập:

- KM
- HBVe+
- VGMe+
- BP (BP nhẹ và BP nặng)
 - BP nhẹ: BP kèm bilirubin toàn phần $< 85 \mu\text{mol/L}$ và INR $< 1,5$
 - BP nặng: BP kèm bilirubin toàn phần $\geq 85 \mu\text{mol/L}$ hoặc INR $\geq 1,5$

Biến số phụ thuộc:

- Tỷ lệ tế bào Treg, Th17 (%)
- Tỷ lệ Treg tiết IL-17A (%)
- Tỷ số Treg/Th17
- Mức độ biểu hiện FOXP3
- Mức độ biểu hiện ROR γ t
- Tỷ số FOXP3/ROR γ t

Định nghĩa các biến số chính

- Treg gồm cả tế bào Treg có biểu hiện FOXP3 tiết IL-17A và không tiết IL-17A.
- Treg tiết IL-17A: là tế bào Treg biểu hiện FOXP3 và IL-17A
- Th17: là tế bào Th17 tiết IL-17A

- Mức độ biểu hiện FOXP3: mức độ biểu hiện mRNA tương đối của FOXP3 với gen chứng nội (GADPH)
- Mức độ biểu hiện ROR γ t: mức độ biểu hiện mRNA tương đối của ROR γ t với gen chứng nội (GADPH)

3.6. Kỹ thuật phân tích tế bào miễn dịch và biểu hiện yếu tố phiên mã

Phương pháp đếm tế bào dòng chảy phát hiện tế bào qua hệ thống dòng chảy thông qua nhuộm kháng thể đặc hiệu với các biểu hiện của tế bào. Kháng thể với FOXP3 và kháng thể với IL-17A được dùng để nhận diện Treg và Th17 trên máy đếm tế bào dòng chảy FACS Canto II.

Kỹ thuật RT-PCR với đoạn môi thiết kế chuyên biệt, yếu tố phiên mã FOXP3 và ROR γ t sẽ được khuếch đại và đo mức độ biểu hiện.

3.7. Thu thập và phân tích số liệu

Số liệu được nhập và phân tích bằng phần mềm SPSS 20.0. So sánh các biến số không liên tục bằng phép kiểm Chi bình phương, các biến số liên tục bằng phép kiểm Mann-Whitney U Rank (đối với 2 nhóm) hay Kruskal Wallis H (> 2 nhóm). Tương quan giữa 2 biến liên tục được so sánh bằng phép kiểm Pearson 2 đuôi với hệ số tương quan r . Mô hình hồi quy tuyến tính đa biến được kiểm bằng phép kiểm F với hệ số hồi quy B. Mức ý nghĩa $p < 0,05$.

3.8. Đạo đức trong nghiên cứu

Nghiên cứu đã thông qua hội đồng đạo đức: Đại học Y Dược Thành phố Hồ Chí Minh số 93/ĐHYD-HĐ và bệnh viện Bệnh Nhiệt đới Thành phố Hồ Chí Minh số 25/HĐĐĐ.

IV. KẾT QUẢ

Trong 38 tháng, có 137 bệnh nhân viêm gan B mạn và 22 người khỏe không nhiễm HBV đủ tiêu chuẩn, tự nguyện tham gia và có mẫu được phân tích thành công được chọn vào nghiên cứu.

4.1. Đặc điểm dân số nghiên cứu

4.1.1. Đặc điểm lúc vào của các nhóm nghiên cứu

Bảng 3.1: Đặc điểm lúc vào của các nhóm nghiên cứu ($n = 159$)

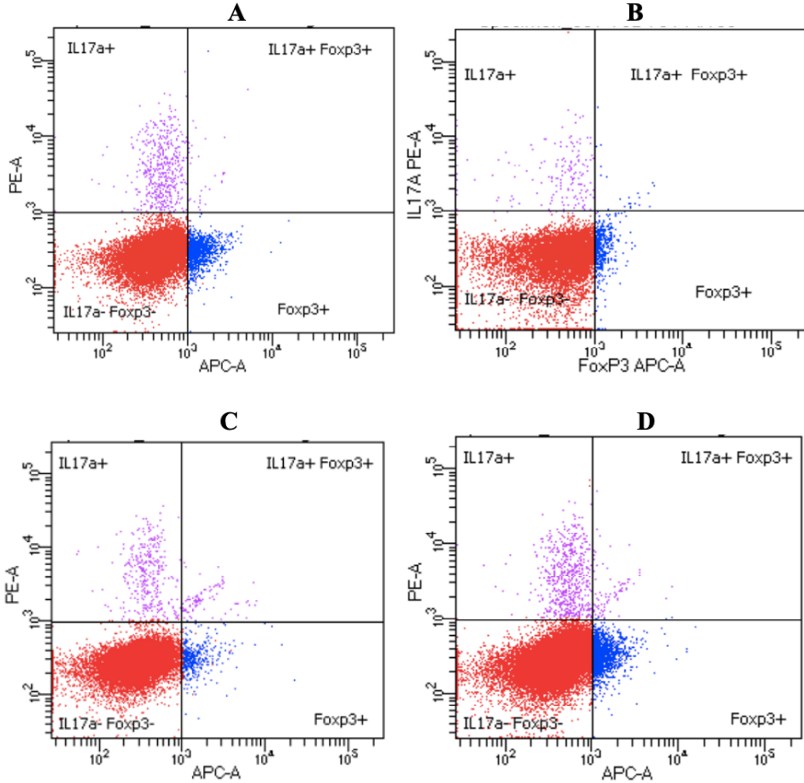
Đặc điểm	Nhóm nghiên cứu				P
	KM (n = 22)	HBVe+ (n = 52)	VGMe+ (n = 24)	BP (n = 61)	
Tuổi (năm)(n(%))					
≤ 40	15 (68)	42 (81)	17 (71)	31 (51)	0,009*
<i>Trung vị (IQR)</i>	<i>31 (23-43)</i>	<i>29 (21-36)</i>	<i>27 (22-44)</i>	<i>40 (32-49)</i>	0,001
Giới (n (%))					
Nam	13 (59)	21 (40)	11 (46)	54 (89)	<0,001*
HBeAg (n (%))					
Dương		52 (100)	24 (100)	36 (59)	<0,001*
HBVDNA <i>(log₁₀cps/mL)</i>		8,7 (8,0-8,7)	8,6 (7,6-8,7)	8,3 (7,2-8,7)	0,24
TC máu <i>(K/uL)</i>	229 (209-439)	260 (222-319)	252 (223-295)	189 (152-250)	<0,001
AST (U/L)	26 (19-29)	24 (21-28)	41 (34-48)	618 (215-1019)	<0,001
ALT (U/L)	28 (18-39)	27 (19-32)	50 (43-65)	960 (507-1420)	<0,001
<i>Biến liên tục: trung vị (khoảng tứ phân vị). Biến nhị giá: tỉ lệ phần trăm theo hàng dọc p: so sánh giữa các nhóm, phép kiểm Kruskal-Wallis; * phép kiểm Chi bình phương</i>					

4.1.2 Đặc điểm lúc vào nghiên cứu của hai nhóm bùng phát nhẹ và nặng

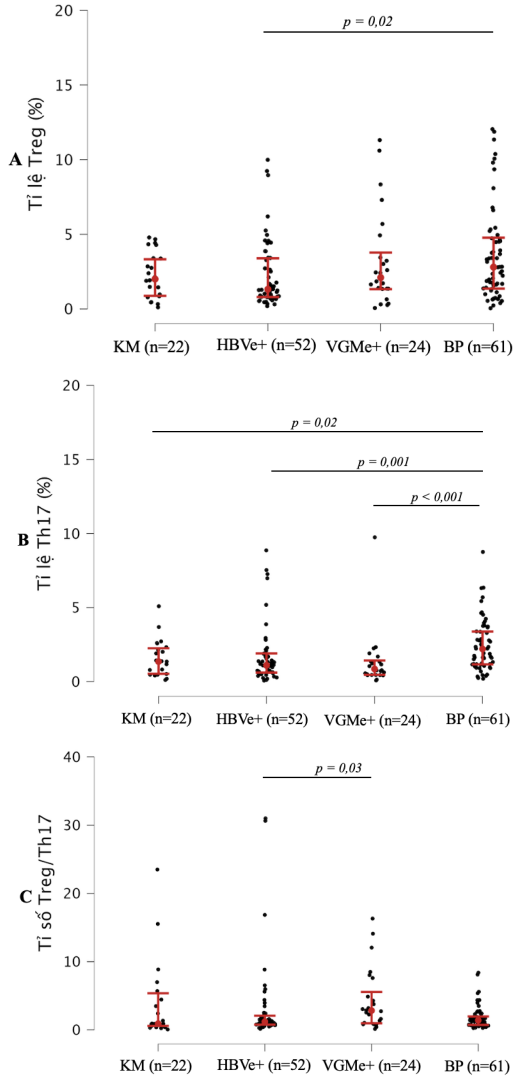
Các đặc tính khi vào nghiên cứu của 2 nhóm BP nhẹ và nặng không có khác nhau ý nghĩa, ngoại trừ bilirubine toàn phần, AST và

ALT ở nhóm BP nặng cao hơn do tiêu chí chọn bệnh. Riêng nồng độ albumin ở nhóm BP nặng thấp hơn ý nghĩa.

4.2. Đặc điểm tế bào Treg và Th17 của các nhóm nghiên cứu

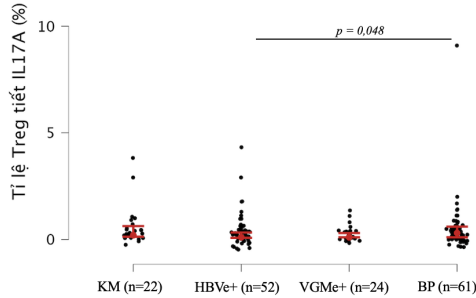


Hình 3.1: Biểu hiện các tế bào Treg và Th17 của một người đại diện mỗi nhóm nghiên cứu trên máy đếm tế bào dòng chảy (A: KM, B: HBVe+, C: VGMe+, D: BP)



Biểu đồ 3.1: Tỉ lệ Treg, Th17 và tỉ số Treg/Th17 của các nhóm nghiên cứu ($n = 159$)
(A: Treg, B: Th17, C: Treg/Th17)

Nhóm BP có phân bố và tỉ lệ Treg và Th17 luôn cao hơn ý nghĩa so với nhóm HBVe+ ($p = 0,02$, $p = 0,001$). Tỉ lệ Th17 của nhóm BP cao hơn ý nghĩa so với nhóm VGMe+ và KM ($p < 0,001$ và $p = 0,02$). Tỉ số Treg/Th17 của nhóm VGMe+ cao nhất, cao hơn có ý nghĩa so với HBVe+ ($p = 0,03$)



Biểu đồ 3.2: Treg tiết IL-17A của các nhóm nghiên cứu ($n = 159$)

Tế bào Treg tiết IL-17A hiện diện ở tất cả các nhóm. Tế bào này ở nhóm BP luôn cao hơn ý nghĩa so với nhóm HBVe+ ($p = 0,048$).

Bảng 3.3: Giá trị của Treg, Th17 và tỉ số Treg/Th17 của các nhóm nghiên cứu ($n = 159$)

	Nhóm nghiên cứu <i>Trung vị (IQR)</i>			
	KM (n=22)	HBVe+ (n=52)	VGMe+ (n=24)	BP (n = 61)
Treg (%)	2,0 (0,8-3,4)	1,3 (0,8-3,9)	2,1 (1,3-4,2)	2,8 (1,4-4,8)^a
Th17 (%)	1,4 (0,5-2,3)	1,1 (0,6-1,9)	0,9 (0,4-1,5)	2,2 (1,2-3,4)^{b,c,d}
Treg tiết IL-17A (%)	0,2 (0,1-0,7)	0,1 (0,0-0,2)	0,1 (0,1-0,7)	0,2 (0,1-0,5)^e
Treg/Th17	0,9 (0,6-5,7)	1,2 (0,8-2,3)	2,8 (0,9-6,2)^f	1,4 (0,7-2,0)

p so sánh giữa hai nhóm, phép kiểm Mann-Whitney-U Rank

^a*p* = 0,02 vs HBVe+

^b*p* = 0,02 vs KM

^c*p* = 0,001 vs HBVe+

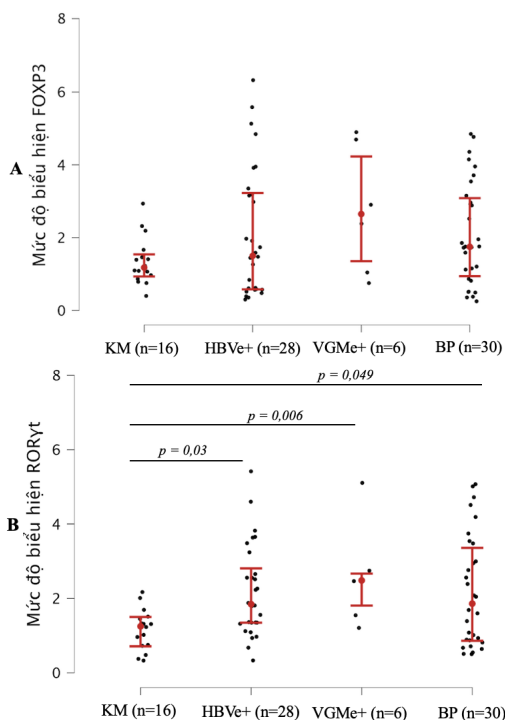
^d*p* < 0,001 vs VGMe+

^e*p* = 0,048 vs HBVe+

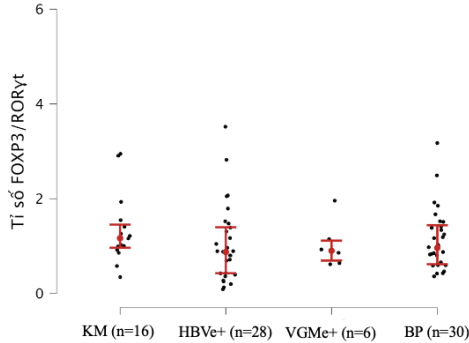
^f*p* = 0,03 vs HBVe+

4.3. Các yếu tố phiên mã FOXP3 và ROR γ t của các nhóm nghiên cứu

Mức độ biểu hiện FOXP3 của các nhóm không khác biệt. Mức độ biểu hiện ROR γ t ở các nhóm nhiễm HBV mạn đều cao hơn nhóm khoẻ mạnh. Tỷ số FOXP3/ROR γ t không khác biệt giữa các nhóm.



Biểu đồ 3.3: Mức độ biểu hiện FOXP3 và ROR γ t của các nhóm nghiên cứu (*n* = 80)
(A: FOXP3, B: ROR γ t)



Biểu đồ 3.4: Tỉ số FOXP3/ROR γ t của các nhóm nghiên cứu ($n = 80$)

Bảng 3.4: Giá trị của FOXP3, ROR γ t và tỉ số FOXP3/ROR γ t của các nhóm nghiên cứu ($n = 80$)

	Nhóm nghiên cứu <i>Trung vị (IQR)</i>			
	KM (n = 16)	HBVe+ (n = 28)	VGMe+ (n = 6)	BP (n = 30)
FOXP3	1,2 (0,9-1,6)	1,5 (0,6-3,3)	2,7 (1,0-4,7)	1,8 (0,9-3,1)
RORγt	1,3 (0,7-1,5) ^{a,b,c}	1,9 (1,4-3,0)	2,5 (1,6-2,7)	1,9 (0,9-3,5)
FOXP3/RORγt	1,2 (1,0-1,5)	0,9 (0,4-1,4)	0,9 (0,6-1,2)	1,0 (0,6-1,5)

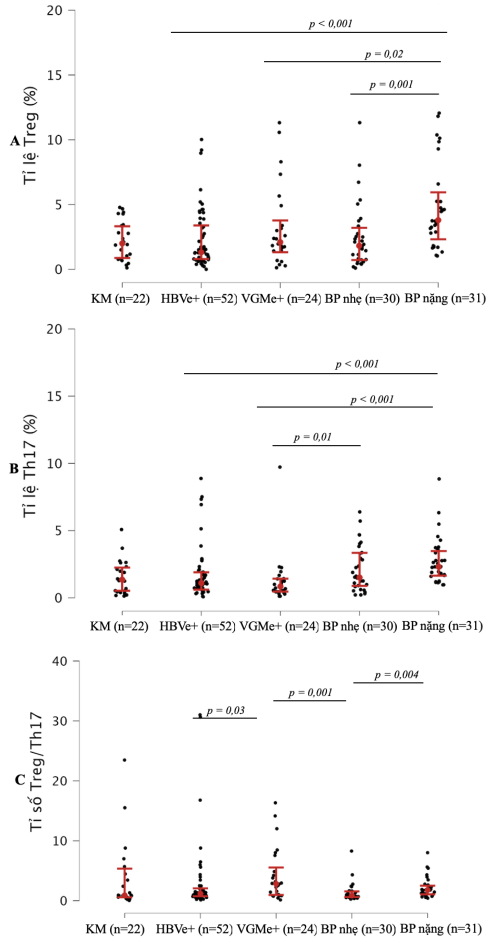
p so sánh giữa hai nhóm, phép kiểm Mann-Whitney-U Rank
^a*p* = 0,03 vs HBVe+, ^b*p* = 0,006 vs VGMe+, ^c*p* = 0,049 vs BP

4.4. So sánh đặc điểm các tế bào và yếu tố phiên mã của hai nhóm bùng phát nhẹ và nặng

4.4.1. Treg, Th17 và tỉ số Treg/Th17 của 5 nhóm nhiễm HBV

Bảng 3.5: Giá trị của Treg, Th17 và tỉ số Treg/Th17 của 5 nhóm nghiên cứu ($n = 159$)

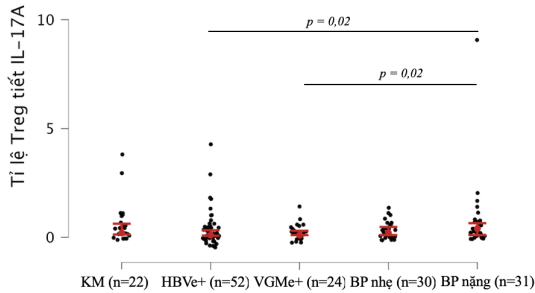
	Nhóm nghiên cứu <i>Trung vị (IQR)</i>				
	KM (n = 22)	HBVe+ (n = 52)	VGMe+ (n = 24)	BP nhẹ (n = 30)	BP nặng (n = 31)
Treg (%)	2,0 (0,8-3,4)	1,3 (0,8-3,9)	2,1 (1,3-4,2)	1,8 (0,7-3,4)	3,8 (1,8-6,6)^{a,b,c}
Th17 (%)	1,4 (0,5-2,3)	1,1 (0,6-1,9)	0,9 (0,4-1,5)	1,5 (0,9-3,4)^f	2,3 (1,6-3,6)^{d,e}
Treg tiết IL-17A (%)	0,2 (0,1-0,7)	0,1 (0,0-0,2)	0,1 (0,1-0,7)	0,2 (0,1-0,5)	0,4 (0,1-0,7)^{g,h}
Treg/Th17	0,9 (0,6-5,7)	1,2 (0,8-2,3)	2,8 (0,9-6,2)^l	0,9 (0,6-1,6)^k	1,8 (1,0-2,6)ⁱ
<i>p so sánh giữa 2 nhóm: phép kiểm Mann-Whitney-U Rank</i>					
^a p = 0,001 vs BP nhẹ,		^h p = 0,02 vs VGMe+,		^c p < 0,001 vs HBVe+	
^d p < 0,001 vs VGMe+,		^e p < 0,001 vs HBVe+,		^f p = 0,01 vs VGMe+	
^g p = 0,02 vs VGMe+,		^h p = 0,02 vs HBVe+,			
ⁱ p = 0,004 vs BP nhẹ,		^k p = 0,001 vs VGMe+,		^l p = 0,03 vs HBVe+	



Biểu đồ 3.5: Tỷ lệ Treg, Th17 và tỉ số Treg/Th17 của 5 nhóm nhiễm HBV ($n = 159$)
(A: Treg, B: Th17, C: Treg/Th17)

Tỷ lệ Treg và tỉ số Treg/Th17 của nhóm BP nặng cao hơn nhóm BP nhẹ ($p = 0,001$ và $p = 0,004$). Tỷ lệ Treg và Th17 của nhóm BP nặng đều cao hơn ý nghĩa so với nhóm HBVe+ và VGMe+. Tỷ lệ Th17

và tỉ số Treg/Th17 ở nhóm BP nhẹ cao hơn ý nghĩa so với HBVe+ với $p = 0,01$ và $p = 0,001$.



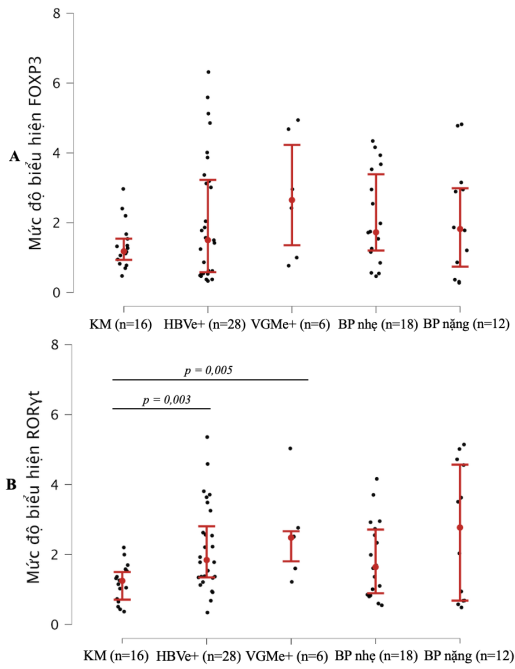
Biểu đồ 3.6: Tỉ lệ Treg tiết IL-17A của 5 nhóm nhiễm HBV ($n = 159$)
Tỉ lệ Treg tiết IL-17A của nhóm BP nặng cao hơn ý nghĩa so với nhóm HBVe+ và VGMe+ ($p = 0,02$).

4.4.2. Mức độ biểu hiện yếu tố phiên mã FOXP3 và ROR γ t và tỉ số FOXP3/ROR γ t của 5 nhóm nhiễm HBV

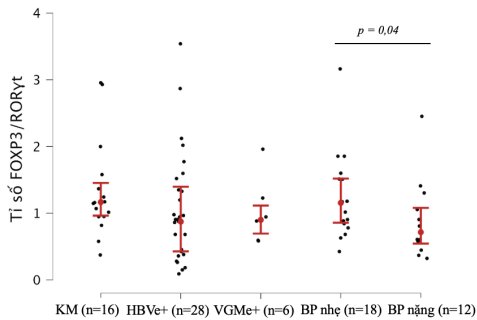
Bảng 3.6: Giá trị của FOXP3, ROR γ t và tỉ số FOXP3/ROR γ t của 5 nhóm nhiễm HBV ($n = 80$)

	Nhóm nghiên cứu <i>Trung vị (IQR)</i>				
	KM (n = 16)	HBVe+ (n = 28)	VGMe+ (n = 6)	BP nhẹ (n = 18)	BP nặng (n = 12)
FOXP3	1,2 (0,9-1,6)	1,5 (0,6-3,3)	2,7 (1,0-4,7)	1,7 (1,2-3,5)	1,8 (0,6-3,0)
RORγt	1,3 (0,7-1,5)	1,9 (1,4-3,0)^b	2,5 (1,6-2,7)^a	1,7 (0,9-2,8)	2,8 (0,7-4,6)
FOXP3/ RORγt	1,2 (1,0-1,5)	0,9 (0,4-1,4)	0,9 (0,6-1,2)	1,2 (0,9-1,5)	0,7^c (0,5-1,2)

p so sánh giữa 2 nhóm: phép kiểm Mann-Whitney-U Rank
^a $p = 0,005$ vs KM, ^b $p = 0,003$ vs KM, ^c $p = 0,04$ vs BP nhẹ



Biểu đồ 3.7: Mức độ biểu hiện FOXP3 và ROR γ t của 5 nhóm nhiễm HBV ($n = 80$)



Biểu đồ 3.8: Tỉ số FOXP3/ROR γ t của 5 nhóm nhiễm HBV ($n = 80$)

Mức độ biểu hiện FOXP3 và ROR γ t không khác nhau giữa các nhóm nghiên cứu. Tỉ số FOXP3/ROR γ t của nhóm BP nặng (0,7 (0,5-1,2) thấp hơn ý nghĩa so với nhóm BP nhẹ (1,2 (0,9-1,5), $p = 0,04$).

4.5. Tương quan giữa Treg, Th17 và các yếu tố phiên mã với HBV DNA, AST, ALT và chức năng gan

4.5.1. Tương quan từng cặp biến trong toàn dân số nghiên cứu

Bảng 3.7: Tương quan giữa Treg, Th17 và các yếu tố phiên mã với HBV DNA, AST và ALT trong toàn dân số nghiên cứu

	Th17	Treg tiết IL-17A	FOXP3	ROR γ t	HBV DNA	AST	ALT
Treg	r= 0,43 p<0,001 (n=159)	r=0,59 p<0,001 (n=159)	r=-0,01 p=0,93 (n=80)	NA	r= -0,25 p=0,004 (n=137)	r=0,34 p<0,001 (n=159)	r=0,39 p<0,001 (n=159)
Th17		r=0,41 p<0,001 (n=159)	NA	r=0,45 p=0,69 (n=80)	r= -0,09 p=0,32 (n=137)	r=-0,28 p<0,001 (n=159)	r= 0,30 p<0,001 (n=159)
Treg tiết IL-17A			r=-0,14 p=0,22 (n=80)	NA	r=-0,29 p=0,001 (n=137)	r=-0,27 p<0,001 (n=159)	r=0,31 p<0,001 (n=159)
FOXP3				r=0,62 p<0,001 n=80	r=0,16 p=0,21 (n=64)	r=0,06 p=0,63 (n=80)	r=0,02 p=0,83 (n=80)
ROR γ t					r=0,19 p=0,14 (n=64)	r=0,16 p=0,15 (n=80)	r=0,15 p=0,18 (n=80)

p: so sánh giữa 2 biến với phép kiểm tương quan Pearson

Có tương quan thuận giữa Treg với Th17 ($r = 0,43$, $p < 0,001$), giữa Treg với Treg tiết IL-17A ($r = 0,59$, $p < 0,001$), giữa Th17 với Treg tiết IL-17A ($r = 0,41$, $p < 0,001$), giữa FOXP3 với ROR γ t ($r = 0,62$, $p < 0,001$). Treg và Treg tiết IL-17A có tương quan nghịch với HBV DNA ($r = -0,25$, $p = 0,004$ và $r = -0,29$, $p = 0,001$). Cả 3 tế bào Treg, Th17 và Treg tiết IL-17A có tương quan thuận với ALT ($r =$

0,39, $r = 0,30$, $r = 0,31$ với $p < 0,001$ theo thứ tự). Treg có tương quan thuận với AST ($r = 0,39$, $p < 0,001$). Th17 và Treg tiết IL-17A có tương quan nghịch với AST ($r = -0,38$ và $r = -0,37$ với $p < 0,001$).

4.5.2. Tương quan từng cặp biến trong nhóm nhiễm HBV mạn HBeAg dương

Có tương quan thuận giữa Treg với Th17 ($r = 0,46$, $p = 0,001$), giữa Treg với Treg tiết IL-17A ($r = 0,56$, $p < 0,001$), giữa Th17 với Treg tiết IL-17A ($r = 0,64$, $p < 0,001$) và giữa FOXP3 với ROR γ t ($r = 0,46$, $p = 0,02$).

Bảng 3.8: Tương quan giữa Treg, Th17 và các yếu tố phiên mã với HBV DNA, AST và ALT ở nhóm nhiễm HBV mạn HBeAg dương

	Th17	Treg tiết IL-17A	FOXP3	ROR γ t	HBV DNA	ALT	AST
Treg	$r=0,46$ $p=0,001$ ($n=52$)	$r=0,56$ $p<0,001$ ($n=52$)	$r=0,16$ $p=0,43$ ($n=28$)	NA	$r=-0,06$ $p=0,67$ ($n=52$)	$r=-0,10$ $p=0,47$ ($n=52$)	$r=-0,22$ $p=0,11$ ($n=52$)
Th17		$r=0,64$ $p<0,001$ ($n=52$)	NA	$r=0,15$ $p=0,45$ ($n=28$)	$r=0,18$ $p=0,19$ ($n=52$)	$r=-0,18$ $p=0,22$ ($n=52$)	$r=0,01$ $p=0,94$ ($n=52$)
Treg tiết IL-17A			$r=0,13$ $p=0,50$ ($n=28$)	NA	$r=0,12$ $p=0,38$ ($n=52$)	$r=-0,10$ $p=0,47$ ($n=52$)	$r=-0,25$ $p=0,08$ ($n=52$)
FOXP3				$r=0,46$ $p=0,02$ ($n=28$)	$r=0,004$ $p=0,98$ ($n=28$)	$r=0,22$ $p=0,26$ ($n=28$)	$r=0,01$ $p=0,93$ ($n=28$)
ROR γ t					$r=0,10$ $p=0,62$ ($n=28$)	$r=0,23$ $p=0,24$ ($n=28$)	$r=0,07$ $p=0,73$ ($n=28$)
<i>p: so sánh giữa 2 biến với phép kiểm tương quan Pearson</i>							

4.5.3. Tương quan từng cặp biến trong nhóm viêm gan B mạn HBeAg dương

Bảng 3.9: Tương quan giữa Treg, Th17 và các yếu tố phiên mã với HBV DNA, AST và ALT ở nhóm viêm gan B mạn HBeAg dương

	Th17	Treg tiết IL-17A	FOXP3	ROR γ t	HBV DNA	ALT	AST
Treg	r=0,39 p=0,06 (n=24)	r=0,35 p=0,10 (n=24)	r=-0,40 p=0,44 (n=6)	NA	r=-0,16 p=0,47 (n=24)	r=0,24 p=0,27 (n=24)	r=0,24 p=0,26 (n=24)
Th17		r=0,80 p<0,001 (n=24)	NA	r=-0,38 p=0,46 (n=6)	r=-0,19 p=0,37 (n=24)	r=-0,19 p=0,37 (n=24)	r=-0,19 p=0,52 (n=24)
Treg tiết IL-17A			r=-0,58 p=0,23 (n=6)	NA	r=-0,15 p=0,48 (n=24)	r=-0,13 p=0,56 (n=24)	r=-0,15 p=0,48 (n=24)
FOXP3				r=0,75 p=0,09 (n=6)	r=0,63 p=0,18 (n=6)	r=0,60 p=0,20 (n=6)	r=0,53 p=0,28 (n=6)
ROR γ t					r=0,60 p=0,91 (n=6)	r=0,80 p=0,05 (n=6)	r=0,56 p=0,25 (n=6)

p: so sánh giữa 2 biến với phép kiểm tương quan Pearson

Tương quan thuận mạnh và duy nhất được tìm thấy giữa Treg tiết IL-17A với Th17 ($r = 0,80$, $p < 0,001$).

4.5.4. Tương quan từng cặp biến trong nhóm bùng phát

Có tương quan thuận giữa Treg với Th17 ($r = 0,49$, $p < 0,01$), giữa FOXP3 với ROR γ t ($r = 0,74$, $p < 0,001$), giữa Treg và Th17 với ALT (lần lượt là $r = 0,46$, $p < 0,001$ và $r = 0,31$, $p = 0,01$), với AST ($r = 0,35$, $p = 0,01$ và $r = 0,29$, $p = 0,02$).

Có tương quan nghịch giữa Treg và Treg tiết IL-17A với HBV DNA ($r = -0,28$, $p = 0,03$ và $r = -0,37$, $p = 0,003$). Có tương quan thuận giữa Treg với bilirubin toàn phần ($r = 0,31$, $p = 0,02$), với INR ($r =$

0,29, $p = 0,04$), giữa Treg tiết IL-17A với Treg ($r = 0,68$, $p < 0,001$), với Th17 ($r = 0,39$, $p = 0,002$), với AST ($r = 0,29$, $p = 0,02$), ALT ($r = 0,37$, $p = 0,002$).

Bảng 3.10: Tương quan giữa Treg, Th17 và các yếu tố phiên mã với HBV DNA và chức năng gan ở nhóm bùng phát

	Th17	Treg tiết IL17A	FOXP3	ROR γ t	HBV DNA	ALT	AST	Bil	Alb	INR
Treg	$r = 0,49$ $p < 0,001$ $n = 61$	$r = 0,68$ $p < 0,001$ $n = 61$	$r = -0,1$ $p = 0,6$ $n = 30$	NA	$r = -0,28$ $p = 0,03$ $n = 61$	$r = 0,46$ $p < 0,001$ $n = 61$	$r = 0,35$ $p = 0,005$ $n = 61$	$r = 0,31$ $p = 0,02$ $n = 53$	$r = -0,1$ $p = 0,53$ $n = 43$	$r = 0,29$ $p = 0,04$ $n = 51$
Th17		$r = 0,39$ $p = 0,002$ $n = 61$	NA	$r = 0,1$ $p = 0,62$ $n = 30$	$r = -0,15$ $p = 0,24$ $n = 61$	$r = 0,31$ $p = 0,01$ $n = 61$	$r = 0,29$ $p = 0,02$ $n = 61$	$r = -0,03$ $p = 0,85$ $n = 53$	$r = 0,02$ $p = 0,92$ $n = 43$	$r = -0,005$ $p = 0,97$ $n = 51$
Treg tiết IL17A			$r = -0,28$ $p = 0,14$ $n = 30$	NA	$r = -0,37$ $p = 0,003$ $n = 61$	$r = 0,29$ $p = 0,02$ $n = 61$	$r = 0,37$ $p = 0,002$ $n = 61$	$r = 0,22$ $p = 0,12$ $n = 53$	$r = -0,001$ $p = 1$ $n = 43$	$r = 0,17$ $p = 0,24$ $n = 51$
FOXP3				$r = 0,74$ $p < 0,001$ $n = 30$	$r = 0,27$ $p = 0,15$ $n = 30$	$r = -0,06$ $p = 0,77$ $n = 30$	$r = 0,31$ $p = 0,87$ $n = 30$	$r = -0,17$ $p = 0,41$ $n = 25$	$r = -0,006$ $p = 0,98$ $n = 15$	$r = -0,13$ $p = 0,55$ $n = 23$
ROR γ t					$r = 0,26$ $p = 0,16$ $n = 30$	$r = 0,16$ $p = 0,39$ $n = 30$	$r = 0,19$ $p = 0,32$ $n = 30$	$r = 0,001$ $p = 1$ $n = 25$	$r = -0,16$ $p = 0,56$ $n = 15$	$r = -0,14$ $p = 0,54$ $n = 23$

p: so sánh giữa 2 biến với phép kiểm tương quan Pearson

4.5.5 Tương quan đa biến trong toàn dân số và nhóm bùng phát

Bảng 3.11: Các yếu tố tương quan với Treg trong toàn dân số: Phân tích đa biến ($n=159$)

Các biến	B	SE	KTC 95%		β	p
			Thấp	Cao		
ALT	0,001	0,00	0,00	0,002	0,24	0,02
Log HBV DNA	-0,48	0,21	-0,90	0,06	-0,17	0,03
Th17	0,64	0,13	0,38	0,89	0,37	< 0,001

B: hệ số hồi quy, SE: sai số chuẩn, KTC: Khoảng tin cậy, β : hệ số hồi quy đã chuẩn hoá, $p < 0,05$

Trong phân tích hồi quy đa biến chỉ còn lại 3 yếu tố ALT, HBV DNA và Th17 có tương quan với Treg.

Bảng 3.12: Các yếu tố có tương quan với Th17 trong toàn dân số: Phân tích đa biến ($n=159$)

Các biến	B	SE	KTC 95%		β	p
			Thấp	Cao		
AST	0,001	0,00	0,00	0,001	0,15	0,046
Treg	0,23	0,05	0,14	0,31	0,38	< 0,001

B: hệ số hồi quy, SE: sai số chuẩn, KTC: Khoảng tin cậy, β : hệ số hồi quy đã chuẩn hoá, $p < 0,05$

Tương tự, hai biến số Treg và AST có tương quan với Th17 trong toàn dân số trong phân tích tương quan đa biến.

Bảng 3.13: Các yếu tố tương quan với Treg trong nhóm bùng phát: phân tích đa biến ($n=61$)

Các biến	B	SE	KTC 95%		β	p
			Thấp	Cao		
AST	-0,004	0,002	-0,008	-0,001	-0,63	0,23

ALT	0,005	0,002	0,001	0,008	0,77	0,01
Th17	0,89	1,30	0,36	1,41	0,40	0,001
INR	3,51	0,26	0,90	6,11	0,33	0,01

B: hệ số hồi quy, SE: sai số chuẩn, KTC: Khoảng tin cậy, β : hệ số hồi quy đã chuẩn hoá, $p < 0,05$

Trong phân tích hồi quy đa biến chỉ còn lại AST, ALT, INR và Th17 có tương quan với Treg.

V. KẾT LUẬN VÀ KIẾN NGHỊ

5.1. Kết luận

5.1.1. Phản ứng các tế bào Treg và Th17

Tỉ lệ Treg của nhóm BP cao nhất (2,8 (1,4-4,8%)) cao hơn ý nghĩa so với nhóm HBVe+ (1,3 (0,8-3,9%)), $p = 0,02$).

Tỉ lệ Th17 của nhóm BP cao nhất (2,2 (1,2-3,4%)) và cao hơn ý nghĩa so với các nhóm HBVe+ (1,1 (0,6-1,9%)), $p = 0,001$) và VGMe+ (0,9 (0,4-1,5%)), $p < 0,001$).

Có hiện diện tế bào Treg tiết IL-17A ở tất cả các nhóm: HBVe+, VGMe+, BP, cao nhất ở nhóm BP (0,2 (0,1-0,5%)), cao hơn ý nghĩa so với nhóm HBVe+ (0,1 (0,0-0,2%)), $p = 0,048$).

Phản ứng tế bào Treg, Th17 và Treg tiết IL-17A tỉ lệ với mức độ tổn thương gan, mạnh nhất ở nhóm tổn thương gan nặng.

5.1.2. Biểu hiện yếu tố phiên mã FOXP3 và ROR γ t của các nhóm nghiên cứu

Mức độ biểu hiện FOXP3 và ROR γ t của các nhóm HBV mạn.

Không có tương quan giữa phản ứng Treg hay Th17 với biểu hiện của các yếu tố phiên mã đo bằng kỹ thuật PCR. Chưa thể thay thế xét nghiệm đo yếu tố phiên mã bằng đếm tế bào.

5.1.3. Phản ứng tế bào và biểu hiện yếu tố phiên mã ở hai nhóm bùng phát nhẹ và nặng

Tỉ lệ Treg và tỉ số Treg/Th17 ở nhóm BP nặng cao hơn ý nghĩa so với nhóm BP nhẹ ($p = 0,001$ và $p = 0,004$). Tỉ lệ Treg, Treg tiết IL-17A và Th17 ở nhóm BP nặng cao hơn ý nghĩa so với nhóm HBV $_{e+}$ và VGMe $_{+}$.

Không khác biệt ý nghĩa về giá trị của FOXP3, ROR γ t giữa các nhóm nhiễm HBV. Tỉ số giữa FOXP3/ROR γ t của nhóm BP nặng thấp hơn đồng nghĩa với giá trị tương đối của ROR γ t cao hơn ở nhóm tổn thương gan nặng.

5.1.4. Tương quan giữa các tế bào, yếu tố phiên mã với HBV DNA, AST, ALT và chức năng gan

- Toàn dân số

Có tương quan cùng chiều giữa Treg với ALT, Th17 với AST và tương quan ngược chiều giữa Treg với HBV DNA.

Có tương quan cùng chiều giữa Treg với Th17 và giữa FOXP3 và ROR γ t.

Không có tương quan giữa FOXP3 và ROR γ t với Treg và Th17

- Nhóm bùng phát

Có tương quan Treg với mức độ tổn thương tế bào gan (AST và ALT) và mức độ rối loạn đông máu (INR) nhưng không có tương quan với mức độ ứ mật (bilirubin) và HBV DNA. Th17 không bị ảnh hưởng bởi các yếu tố này.

Có tương quan cùng chiều giữa Treg với Th17 và giữa FOXP3 với ROR γ t.

5.2. Kiến nghị

Từ kết quả và hạn chế của nghiên cứu có một số kiến nghị được rút ra như sau:

a. Nên khảo sát cùng lúc các tế bào và các yếu tố phiên mã trong nghiên cứu miễn dịch Treg và Th17. Thiết kế đoàn hệ với phân tích mẫu lập lại là cần thiết.

b. Khảo sát với cỡ mẫu lớn hơn về mức độ biểu hiện FOXP3 và ROR γ t ở các nhóm tổn thương gan.

c. Tiếp tục nghiên cứu trên nhóm bùng phát nặng với thiết kế đoàn hệ và phân tích mẫu lập lại nhằm hiểu biết nhiều hơn về tương quan và quan hệ nhân quả giữa Treg và Th17.

d. Nghiên cứu thêm các nồng độ cytokine chính (IL-10) của Treg và (IL-17A) của Th17 để hiểu rõ hơn về vai trò và chức năng của hai tế bào này trong nhiễm HBV mạn.

--oOo--

**DANH MỤC CÔNG TRÌNH ĐÃ CÔNG BỐ CỦA TÁC GIẢ
LIÊN QUAN ĐẾN LUẬN ÁN**

1. Lê Thị Thuý Hằng, Phan Vĩnh Thọ, Lương Bắc An, Nguyễn Thị Tuyết, Dương Thị Hồng Diệp, Đỗ Thị Thanh Thuý, Phạm Thị Lệ Hoa (2019), “Phản ứng miễn dịch của tế bào Treg và Th17 ở bệnh nhân nhiễm HBV mạn HBeAg dương: Mô tả hàng loạt ca”, *Tạp chí Y Học Thành phố Hồ Chí Minh*, 23(1), tr. 130-135.

2. Phan Vĩnh Thọ, Lê Thị Thuý Hằng, Lương Bắc An, Nguyễn Thị Tuyết, Dương Thị Hồng Diệp, Đỗ Thị Thanh Thuý, Phạm Thị Lệ Hoa (2020), “Phản ứng miễn dịch của tế bào Treg và Th17 ở bệnh nhân viêm gan siêu vi B mạn đợt bùng phát”, *Tạp chí Y Học Thành phố Hồ Chí Minh*, 24(2), tr. 72-79.

3. Le Thi Thuy Hang, Hoang Kim Tu Trinh, Luong Bac An, Nguyen Thi Tuyet, Phan Vinh Tho, Nguyen Tien Huy, Pham Thi Le Hoa (2023), “Dysregulation of T cell differentiation and the IL17A(+)Foxp3(+)Treg subset in chronic hepatitis B patients with hepatitis flare”, *Viral immunology*, 36(2). doi: 10.1089/vim.2022.0140