

Nghiên cứu đặc điểm phân tử motif EPIYA gene *cagA* của vi khuẩn *Helicobacter pylori* ở bệnh nhân bệnh lý dạ dày – tá tràng

Hà Thị Minh Thi, Huỳnh Vũ Việt Khánh, Nguyễn Thị Mai Ngân,
Trần Văn Huy, Đặng Công Thuận

Trường Đại học Y - Dược, Đại học Huế

Tóm tắt

Đặt vấn đề: Các motif EPIYA gene *cagA* của *H. pylori* đóng vai trò quan trọng trong bệnh lý dạ dày – tá tràng. Đề tài nhằm các mục tiêu: (1) Xác định đặc điểm gene *cagA* theo motif EPIYA của các chủng *H. pylori* trên mẫu mô sinh thiết ở các bệnh nhân bệnh lý dạ dày – tá tràng. (2) Khảo sát mối liên quan giữa motif EPIYA của gene *cagA* và các bệnh lý dạ dày – tá tràng. **Đối tượng và phương pháp:** Tiến hành nghiên cứu trên 89 bệnh nhân bệnh lý dạ dày – tá tràng có nhiễm *H. pylori* mang gene *cagA*. Các motif EPIYA của gene *cagA* được xác định bằng kỹ thuật PCR. **Kết quả:** Phần lớn các chủng *H. pylori cagA* (+) có motif EPIYA type Đông Á, chiếm 89,9%; type Phương Tây chỉ chiếm 10,1%. Có hai chủng Đông Á hiếm gặp là -ABDBD và -AABD. Nhóm loét tá tràng có 80% type Đông Á và 20% type Phương Tây, trong khi ở nhóm ung thư dạ dày có tỷ lệ type Đông Á lên đến 95,8% và type Phương Tây chỉ chiếm 4,2%. **Kết luận:** Motif EPIYA của các chủng *H. pylori cagA* (+) khá đa dạng, với type Đông Á chiếm đa số, có hai chủng hiếm gặp là -AABD và -ABDBD. Chủng *H. pylori* type Đông Á chiếm tỷ lệ cao nhất trong nhóm ung thư dạ dày và thấp nhất trong nhóm loét tá tràng.

Từ khóa: *Helicobacter pylori*, gene *cagA*, motif EPIYA, bệnh lý dạ dày – tá tràng.

Abstract

Molecular characteristics of *cagA* gene EPIYA motifs of *Helicobacter pylori* among patients with gastroduodenal diseases

Ha Thi Minh Thi, Huynh Vu Viet Khanh, Nguyen Thi Mai Ngan,
Tran Van Huy, Dang Cong Thuan

Hue University of Medicine and Pharmacy, Hue University

Background: *cagA* gene EPIYA motifs of *H. pylori* play an important role in the pathogenesis of gastroduodenal disease. This study is aimed at (1) Identify patterns of *cagA* gene EPIYA motifs of *H. pylori* strains from gastric biopsy specimens; (2) Investigate the association between *cagA* gene EPIYA motifs and gastroduodenal diseases. **Patients and methods:** Eighty-nine gastroduodenal disease patients infected with *cagA*-positive *H. pylori* were enrolled in this study. The patterns of *cagA* gene EPIYA motifs were determined by PCR. **Result:** *cagA*-positive *H. pylori* strains with East Asian-type EPIYA motif were predominant (89.9%), whereas strains with Western-type EPIYA motif accounted for only 10.1%. There were two strains with rare East Asian-type EPIYA, as -ABDBD and -AABD. In the duodenal ulcer group, the prevalence of East Asian-type and Western-type EPIYA motifs were 80% and 20%, respectively. Meanwhile, East Asian-type and Western-type EPIYA motifs accounted for 95.8% and 4.2%, respectively in the gastric cancer group. **Conclusion:** *cagA* gene EPIYA motifs of *cagA*-positive *H. pylori* were quite diverse with the predominance of East Asian-type EPIYA motif. There were two rare motifs as -ABDBD and -AABD. The frequency of strains with East Asian-type EPIYA motif was highest in the gastric cancer group, whereas it was lowest in the duodenal ulcer group.

Key words: *Helicobacter pylori*, *cagA* gene, EPIYA motif, gastroduodenal diseases.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Hiện nay, khoảng 50% dân số trên thế giới nhiễm *Helicobacter pylori*. Việt Nam nằm trong khu vực nhiễm vi khuẩn này với tần suất cao [9]. Nhiễm *H. pylori* gây nên nhiều bệnh lý dạ dày – tá tràng như

viêm dạ dày, loét dạ dày, loét tá tràng, rối loạn khó tiêu chức năng (functional dyspepsia), và đặc biệt từ năm 1994 Cơ quan nghiên cứu ung thư quốc tế (IARC) xem *H. pylori* là tác nhân gây ung thư dạ dày nhóm I [11].

Địa chỉ liên hệ: Hà Thị Minh Thi, email: htmthi@huemed-univ.edu.vn

Ngày nhận bài: 22/12/2020; Ngày đồng ý đăng: 26/1/2021; Ngày xuất bản: 9/3/2021

DOI: 10.34071/jmp.2021.1.10

Protein CagA (cytotoxin associated gene A) là một yếu tố tiết điển hình có tính gây độc trực tiếp và tạo thương tổn trên niêm mạc dạ dày tá tràng. Protein này được mã hóa bởi gene *cagA* khu trú tại một đầu của tiểu đảo sinh bệnh *cag* (*cag*-PAI: *cag* pathogenicity island). Tiểu đảo *cag*-PAI chứa nhiều gene mã hóa cho hệ thống tiết type IV, thông qua đó CagA được chuyển vị vào tế bào vật chủ. Nơi đây, diễn ra quá trình phosphoryl hóa trên các gốc tyrosine đặc hiệu trong các motif EPIYA (Glu-Pro-Ile-Tyr-Ala) lặp lại tại đầu C tận của protein. Từ đó, gây nên các biến đổi chi phối hoạt tính sinh học của CagA có liên quan đến khả năng sinh bệnh của *H. pylori*. Dựa trên motif EPIYA các chủng *H. pylori* được chia thành hai type, type Phương Tây gồm EPIYA-A, và -B, tiếp theo sau là một hoặc nhiều EPIYA-C, trong khi đó type Đông Á gồm các EPIYA-A, -B và D. Các chủng *H. pylori* thuộc type Đông Á được xem là có nguy cơ cao gây nên loét và ung thư dạ dày [7]. Tuy nhiên, trong các chủng type Phương Tây thì số lần lặp lại của motif EPIYA-C cũng được xem là yếu tố nguy cơ quan trọng gây ung thư dạ dày [16].

Vì vậy, chúng tôi tiến hành nghiên cứu đề tài này để góp phần làm sáng tỏ các yếu tố bệnh sinh liên quan đặc điểm hệ gene của vi khuẩn, cũng như nhận dạng những quần thể nguy cơ cao để có biện pháp theo dõi và dự phòng, với hai mục tiêu nghiên cứu cụ thể là: *Xác định đặc điểm gene cagA theo motif EPIYA của các chủng Helicobacter pylori trên mẫu mô sinh thiết ở các bệnh nhân bệnh lý dạ dày – tá tràng; Khảo sát mối liên quan giữa motif EPIYA của gene cagA và các bệnh lý dạ dày – tá tràng.*

2. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng nghiên cứu

89 bệnh nhân bệnh lý dạ dày – tá tràng có nhiễm *H. pylori* mang gene *cagA* được nội soi chẩn đoán tại Trung tâm Tiêu hóa – Nội soi, Bệnh viện trường Đại học Y Dược Huế trong thời gian từ tháng 6/2019 đến tháng 8/2020. Tiêu chuẩn chọn bệnh như sau:

- Bệnh nhân có triệu chứng lâm sàng gợi ý bệnh lý dạ dày – tá tràng như đầy bụng, khó tiêu, đau, nóng rát vùng thượng vị, buồn nôn, nôn...

- Kết quả nội soi chẩn đoán bệnh lý dạ dày tá tràng, gồm: viêm dạ dày, loét dạ dày, loét tá tràng và ung thư dạ dày. Đối với bệnh nhân có thương tổn nghi ngờ ung thư dạ dày, có kết quả chẩn đoán xác định của xét nghiệm mô bệnh học.

- Được chẩn đoán xác định nhiễm *H. pylori* có mang gene *cagA*.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

Bước 1: Chọn mẫu tại Trung tâm Tiêu hóa – Nội soi, bệnh viện Trường Đại học Y Dược Huế

Chọn mẫu ngẫu nhiên thuận tiện.

Mỗi bệnh nhân được nội soi và sinh thiết niêm mạc dạ dày. Mẫu sinh thiết được thực hiện xét nghiệm nhanh urease tại phòng Nội soi, nếu dương tính thì cho mẫu vào ống chứa dung dịch TE rồi chuyển đến Bộ môn Di truyền Y học, trường Đại học Y Dược Huế để thực hiện các xét nghiệm sinh học phân tử.

Bước 2: Tách chiết DNA từ mẫu mô sinh thiết

- Mẫu mô sinh thiết được nghiền nhỏ trong dung dịch TE, sau đó tách DNA bằng bộ sinh phẩm Wizard Genomic DNA Purification (Promega) theo protocol chuẩn.

- Dung dịch DNA sau khi tách chiết được đo nồng độ và đánh giá độ tinh sạch bằng máy NanoDrop, rồi lưu trữ ở -20°C cho đến khi phân tích.

Bước 3: Xác định các chủng H. pylori có cagA dương tính bằng kỹ thuật PCR

Cặp mồi đặc hiệu gene *cagA* được thiết kế bởi Chattopadhyay [5] với trình tự như sau:

cag-F: 5'- GTTGATAACGCTGTCGCTTC-3'

cag-R: 5'- GGGTTGTATGATATTTCCATAA-3'

Thành phần phản ứng bao gồm 12,5 µl GoTaq Green MasterMix (Promega), 3 µl mồi mồi (10 µl/pmol), 3 µl DNA (100 ng/µl), 3,5 µl nước cất đã khử nuclease.

Điều kiện luân nhiệt: Biến tính ban đầu: 95°C trong 5 phút; 30 chu kỳ, mỗi chu kỳ gồm: giai đoạn biến tính 95°C trong 40 giây, gắn mồi 56°C trong 30 giây, kéo dài mồi 72°C trong 50 giây; kéo dài cuối cùng 72°C trong 10 phút.

Đọc kết quả: Sản phẩm PCR thu được sẽ được kiểm tra bằng điện di trên gel agarose 1% ở điện thế 80 V trong 1 giờ, có kèm thang chuẩn 100 bp. Xem hình ảnh điện di dưới đèn cực tím. Kích thước sản phẩm là 350 bp.

Bước 4: Xác định các motif EPIYA bằng kỹ thuật PCR

Các phản ứng PCR xác định motif EPIYA đều dùng chung mồi xuôi, có thể là *cag28F* hoặc *cag2* tùy từng mẫu do tính đa dạng của gene *cagA*, các mồi ngược đặc hiệu cho từng motif EPIYA. Các trình tự mồi được trình bày trong Bảng 1 [1], [17].

Bảng 1. Trình tự mồi trong phản ứng PCR xác định các motif EPIYA

Motif cần xác định	Tên mồi	Trình tự (5'-->3')
Mồi xuôi	cag28F	TTCTCAAAGGAGCAATTGGC
	cag2	GGAACCCTAGTCGGTAATG
Mồi ngược EPIYA-A	cagA-P1C	GTCCTGCTTTCTTTTATTAACCTKAGC
Mồi ngược EPIYA-B	cagA-P2TA	TTTAGCAACTTGAGTATAAATGGG
Mồi ngược EPIYA-C	cagAWest	TTTCAAAGGGAAAGGTCCGCC
Mồi ngược EPIYA-D	cagAEast	AGAGGGAAGCCTGCTTGATT

- Điều kiện luân nhiệt: Biến tính ban đầu: 94°C trong 5 phút; 35 chu kỳ, mỗi chu kỳ gồm: giai đoạn biến tính 95°C trong 1 phút, gắn mồi 50°C trong 30 giây, kéo dài mồi 72°C trong 1 phút; kéo dài cuối cùng 72°C trong 10 phút.

- Đọc kết quả: Sản phẩm PCR được kiểm tra bằng điện di trên gel agarose 1% ở điện thế 80 V trong 2 giờ, có kèm thang chuẩn 100 bp. Xem hình ảnh điện di dưới đèn cực tím. Kích thước sản phẩm để xác định EPIYA-A, EPIYA-B, EPIYA-C và EPIYA-D với mồi xuôi cag28F lần lượt là 264 bp, 306 bp, 501 bp và 495 bp. Các sản phẩm sử dụng mồi xuôi cag2 cho ra các sản phẩm tương tự với kích thước ngắn hơn 99 bp.

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

3.1. Đặc điểm chung của nhóm nghiên cứu

Bảng 2. Phân bố nhóm nghiên cứu theo tuổi, giới và các bệnh lý dạ dày – tá tràng của nhóm bệnh nhân nhiễm *H. pylori* có cagA dương tính

Đặc điểm	Số lượng	Tỷ lệ %
Tuổi		
Dưới 40 tuổi	29	32,6
Từ 40 tuổi trở lên	60	67,4
Giới		
Nam	45	50,6
Nữ	44	49,4
Bệnh lý dạ dày – tá tràng		
Ung thư dạ dày	24	27,0
Viêm dạ dày	40	44,9
Loét dạ dày	10	11,2
Loét tá tràng	15	16,9
Tổng	89	100,0

Nhận xét: Trong số các bệnh nhân thuộc nhóm nghiên cứu, nhóm dưới 40 tuổi chỉ chiếm 32,6%; không có sự chênh lệch về giới tính. Bệnh lý chiếm tỷ lệ cao nhất (gần một nửa) là viêm dạ dày, đứng hàng thứ hai là ung thư dạ dày chiếm 27%, còn lại là loét dạ dày và loét tá tràng.

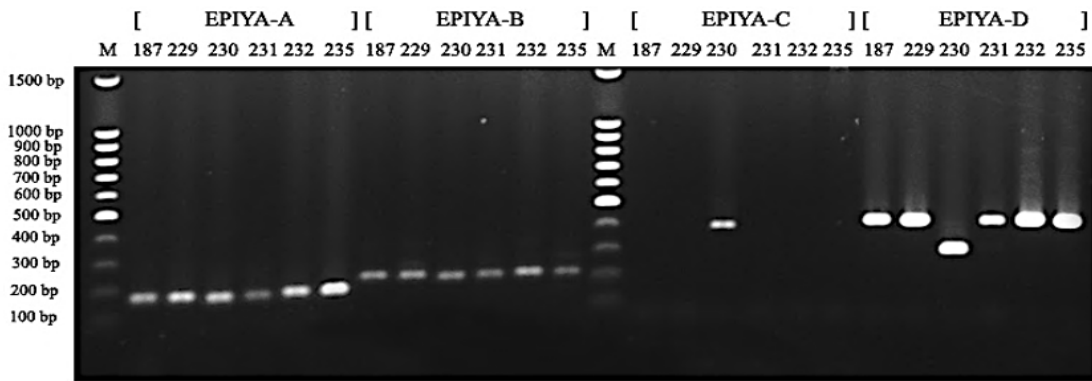
3.2. Đặc điểm motif EPIYA gene cagA của các chủng *Helicobacter pylori*

Bảng 3. Tỷ lệ các motif EPIYA gene cagA của các chủng *Helicobacter pylori*

Motif cagA-EPIYA	Số lượng	Tỷ lệ %
Type Phương Tây (ABC)	9	10,1
Type Đông Á		
(ABD)	80	89,9
(AABD)	(79)	(87,6)
(ABDBD)	(1)	(1,1)
	(1)	(1,1)
Tổng	89	100,0

Nhận xét: Trong số các chủng *H. pylori* có cagA dương tính, motif EPIYA thuộc type Phương Tây chiếm tỷ

lệ 10,1%, còn lại 89,9% là type Đông Á. Đặc biệt có hai chủng có lặp lại của các EPIYA, gồm 1 chủng có lặp lại EPIYA-A và 1 chủng có lặp lại cả EPIYA-B và -D.



Hình 1. Hình ảnh điện di sản phẩm PCR xác định motif EPIYA-ABC và EPIYA-ABD (Sử dụng mồi xuôi *cag2*)
 M: thang chuẩn 100bp
 Cột 187, 229, 231, 232, 235: EPIYA-ABD.
 Cột 230: EPIYA-ABC

3.3. Mối liên quan của các motif EPIYA với các bệnh lý dạ dày – tá tràng

Bảng 4. Phân bố của các motif *cagA*-EPIYA của *H. pylori* theo các đặc điểm của nhóm nghiên cứu

Đặc điểm	Type Phương Tây		Type Đông Á	
	Số lượng	Tỷ lệ %	Số lượng	Tỷ lệ %
Tuổi				
< 40 (n=29)	3	10,3	26	89,7
>= 40 (n=60)	6	10,0	54	90,0
Giới				
Nam (n=45)	5	11,1	40	88,9
Nữ (n=44)	4	9,1	40	90,9
Bệnh lý				
UTDD (n=24)	1	4,2	23	95,8
VDD (n=40)	4	10,0	36	90,0
LDD (n=10)	1	10,0	9	90,0
LTT (n=15)	3	20,0	12	80,0
Tổng	9	10,1	80	89,9

Nhận xét: Không có sự khác biệt về phân bố của hai type EPIYA (Phương Tây và Đông Á) trong các nhóm tuổi, giới. Tỷ lệ type Phương Tây trong nhóm loét tá tràng lên đến 20%, trong khi ở các nhóm ung thư dạ dày, viêm dạ dày và loét dạ dày chỉ lần lượt 4,2%, 10% và 10%.

4. BÀN LUẬN

Chúng tôi thực hiện nghiên cứu trên 89 bệnh nhân bệnh lý dạ dày – tá tràng được nội soi chẩn đoán tại Trung tâm Tiêu hóa – Nội soi, Bệnh viện Trường Đại học Y Dược Huế. Kết quả Bảng 2 cho thấy phần lớn bệnh nhân từ 40 tuổi trở lên, không có sự khác biệt về tỷ lệ giới tính. Tỷ lệ các bệnh lý dạ dày – tá tràng được chọn vào trong nghiên cứu này

là 27% ung thư dạ dày, 44,9% viêm dạ dày, 11,2% loét dạ dày và 16,9% loét tá tràng.

4.1. Đặc điểm motif EPIYA gene *cagA* của các chủng *Helicobacter pylori*

Protein CagA sau khi vào tế bào vật chủ thông qua hệ thống tiết type IV sẽ được phosphoryl hoá tại vùng EPIYA ở đầu carboxyl tận cùng, từ đó gây ra những hoạt tính sinh học của CagA, góp phần vào cơ

chế sinh bệnh học của *H. pylori*. Nhiều nghiên cứu đã cho thấy sự phân bố các motif EPIYA gene *cagA* thay đổi theo khu vực địa lý của các chủng *H. pylori*, cụ thể tại các nước châu Á chiếm phần lớn là các chủng *H. pylori* có EPIYA type Đông Á (chứa EPIYA A, -B, và -D), trong khi *H. pylori* type Phương Tây (chứa EPIYA-A, -B và -C) chủ yếu xuất hiện ở các nước châu Âu, Mỹ, châu Phi và Tây Á.

Chúng tôi đã sử dụng kỹ thuật PCR với các cặp mồi đặc hiệu cho từng loại motif EPIYA đã được chuẩn hóa bởi các tác giả Argent và Schmidt [1], [17]. Hình 1 cho thấy các băng sản phẩm PCR rõ ràng, cho phép xác định các motif EPIYA. Kết quả trình bày ở Bảng 3 cho thấy, trong số 89 bệnh nhân nhiễm *H. pylori* mang gene *cagA*, hầu hết là các chủng *H. pylori* có motif EPIYA thuộc type Đông Á chiếm 89,9% (80/89), các chủng *H. pylori* type phương Tây chiếm tỷ lệ rất thấp, chỉ 10,1%. Kết quả này tương đồng với một nghiên cứu khác cũng thực hiện ở miền Trung của Phan Trung Nam năm 2017, cho thấy chủng *H. pylori* type Đông Á chiếm đa số 89,2% (66/74), và type phương Tây chỉ chiếm 10,8% (8/74) [15]. Điều này cho thấy các motif Phương Tây và Đông Á của các chủng *H. pylori* tại khu vực miền Trung chưa có sự thay đổi về sự phân bố theo thời gian. Tuy nhiên, trong số 8 chủng type Phương Tây của tác giả Phan Trung Nam có 1 chủng có lặp lại EPIYA-C (EPIYA-ABCC), trong khi cả 9 chủng Phương Tây của chúng tôi đều là EPIYA-ABC, không có chủng nào mang -C lặp lại. Theo nhiều nghiên cứu trên thế giới, các chủng type Phương Tây có EPIYA-C lặp lại sẽ có độc tính cao hơn so với các chủng không lặp lại [3]. Nghiên cứu của Uchida trên 103 bệnh nhân từ Hà Nội và Hồ Chí Minh cũng cho kết quả tương tự chúng tôi, với sự ưu thế ở chủng *H. pylori* type Đông Á 95,9% (94/98), chủng *H. pylori* type Phương Tây chỉ chiếm 4,1% (4/98) trên các bệnh nhân bệnh lý dạ dày tá tràng nhiễm *H. pylori cagA* (+) [19].

Các nghiên cứu ở các nước châu Á khác cũng cho thấy sự ưu thế của chủng *H. pylori* type Đông Á. Nghiên cứu của Matsunari và cộng sự tại Nhật Bản trên 291 bệnh nhân nhiễm *H. pylori cagA* (+) cho thấy tỷ lệ *H. pylori* type Đông Á là 81,1% (236/291), type Phương Tây là 18,9% (55/291) [13]. Nghiên cứu của Chen tại Trung Quốc trên 153 bệnh nhân nhiễm *H. pylori cagA* (+), type Đông Á chiếm tỷ lệ 98% và type Phương Tây chiếm 2% [6]. Tuy nhiên, nghiên cứu ở Cambodia (2011), một nước trong khu vực Đông Nam Á và giáp ranh với Việt Nam, lại cho thấy chủng *H. pylori* type Phương Tây chiếm đến 59% (36/61) [4].

Các chủng *H. pylori* type phương Tây xuất hiện phần lớn trong các nghiên cứu ở các nước châu

Âu, châu Mỹ, châu Phi và Tây Á. Các nghiên cứu của tác giả Beltrán-Anaya ở Mexico, Basso ở Ý, Panayotopoulou ở Hy Lạp, Shokrzadeh ở Iran đều không tìm thấy chủng *H. pylori cagA* (+) nào có mang đoạn EPIYA-D trong các bệnh nhân bệnh lý dạ dày tá tràng [2], [3], [14], [18].

Trong nghiên cứu của chúng tôi có hai chủng type Đông Á hiếm gặp, 1 chủng có lặp lại -A (EPIYA-AABD) và 1 chủng lặp lại -BD (EPIYA-ABDBD) (Bảng 2). Các nghiên cứu khác ở Việt Nam như của Phan Trung Nam và Uchida đều không phát hiện các type Đông Á có lặp lại này. Các chủng Đông Á có lặp lại các EPIYA-A, -B, -D khá hiếm gặp nhưng lại khá đa dạng, như nghiên cứu của Matsunari có các chủng lặp lại -AB, -AD, hoặc -B, không có chủng nào lặp lại -A hoặc -BD như nghiên cứu của chúng tôi [13]. Trong khi đó, nghiên cứu của Chen có công bố 2 chủng type Đông Á có lặp lại -BD nhưng không có chủng nào lặp lại -A [6]. Nghiên cứu của Jones ở Hàn Quốc trên 208 chủng *H. pylori* type Đông Á thì phát hiện có 8 chủng có lặp lại, trong đó có các chủng lặp lại -A như của chúng tôi [10].

Nghiên cứu của chúng tôi góp phần cho thấy sự đa dạng về motif EPIYA gene *cagA* của các chủng *H. pylori* tại Việt Nam, điều này có thể giải thích một phần do sự giao lưu của người dân giữa các quốc gia ở các khu vực địa lý khác nhau, đặc biệt nước ta còn giáp ranh và giao lưu mật thiết với Cambodia, nơi có tỷ lệ chủng *H. pylori* type Phương Tây cao hơn *H. pylori* type Đông Á [4].

4.2. Mối liên quan của các motif EPIYA với các bệnh lý dạ dày – tá tràng

Sự xuất hiện của các đoạn motif EPIYA gene *cagA* khác nhau với số lượng khác nhau trên đầu carboxyl tận cùng của protein CagA ảnh hưởng lên kích thước, sự đa hình và chức năng của protein này, từ đó góp phần vào độc lực của vi khuẩn *H. pylori*. Vì vậy, mối liên quan giữa các motif *cagA*-EPIYA và bệnh lý dạ dày tá tràng là mối quan tâm của nhiều nghiên cứu gần đây.

Kết quả ở Bảng 4 cho thấy chủng *H. pylori* type Đông Á chiếm tỷ lệ cao nhất ở nhóm ung thư dạ dày (95,8%), đứng hàng thứ hai là ở các nhóm viêm dạ dày và loét dạ dày (đều chiếm 90%) và thấp nhất là ở nhóm loét tá tràng (chỉ chiếm 80%). Ngược lại, type Phương Tây chiếm đến 20% trong nhóm loét tá tràng, nhưng chỉ chiếm 4,2% trong nhóm ung thư dạ dày.

Một phân tích tổng hợp của tác giả Li và cộng sự vào năm 2017 dựa trên 8 nghiên cứu về mối liên quan giữa các EPIYA-C và EPIYA-D với nguy cơ loét dạ dày - tá tràng và ung thư dạ dày, kết quả đã chỉ ra chủng *H. pylori cagA* (+) chứa một đoạn EPIYA-D

làm tăng nguy cơ ung thư dạ dày ở người châu Á cao gấp 1,91 lần so với *H. pylori cagA (+)* chứa một đoạn EPIYA-C (khoảng tin cậy 95% = 1,19-3,07) [12]. Trước đó, Higashi và cộng sự cũng đã nghiên cứu thấy đoạn EPIYA-D có ái lực với SHP-2 hơn đoạn EPIYA-C do sự khác nhau của các amino acid ở vị trí pY+5 (pY: phosphotyrosine). Do đó, *H. pylori* chủng Đông Á có hoạt động sinh học mạnh hơn chủng *H. pylori* type Phương Tây, gây ra các bệnh lý dạ dày – tá tràng nặng nề hơn [8]. Sự xuất hiện phổ biến của chủng *H. pylori cagA (+)* chứa EPIYA-D trong các bệnh nhân dạ dày – tá tràng trong nghiên cứu của chúng tôi cũng như của các tác giả khác ở Việt Nam phần nào giải thích được tỷ lệ mắc ung thư dạ dày ở Việt Nam cao hơn các nước phương Tây.

Trong nghiên cứu của chúng tôi có hai bệnh nhân nhiễm *H. pylori* type Đông Á đặc biệt là ABDBD và -AABD. Cả hai bệnh nhân này đều thuộc nhóm viêm dạ dày. Nghiên cứu của Jones ở Hàn Quốc trên 208 chủng *H. pylori* type Đông Á, có 8 chủng mang EPIYA type Phương Tây hiếm là -AABD, -BD, -BBD, -ABAB*D và -AB*D (dấu hoa thị biểu hiện cho một

đột biến trên motif EPIYA-B). Điều thú vị là 7 trong số 8 chủng trên đều xuất hiện ở bệnh nhân viêm dạ dày [10]. Những kết quả nghiên cứu này phần nào cho thấy sự đa dạng của motif EPIYA trên gene *cagA* của các chủng *H. pylori* có liên quan đến độc lực của chủng vi khuẩn.

5. KẾT LUẬN

Qua nghiên cứu motif EPIYA trên 89 bệnh nhân bệnh lý dạ dày – tá tràng có nhiễm *Helicobacter pylori* mang gene *cagA* chúng tôi có kết luận như sau:

5.1. Motif EPIYA gene *cagA* của các chủng *Helicobacter pylori* trong nghiên cứu của chúng tôi khá đa dạng, với type Đông Á chiếm đa số (89,9%), đặc biệt có các chủng hiếm mang đoạn lặp lại là -AABD và -ABDBD; type Phương Tây chiếm 10,1%.

5.2. Chủng *Helicobacter pylori* type Đông Á chiếm tỷ lệ cao nhất ở nhóm ung thư dạ dày (95,8%), đứng hàng thứ hai là ở các nhóm viêm dạ dày và loét dạ dày (đều chiếm 90%) và thấp nhất là ở nhóm loét tá tràng (chỉ chiếm 80%).

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Argent R. H., Zhang Y. A.J.C. (2005). Simple method for determination of the number of Helicobacter pylori CagA variable-region EPIYA tyrosine phosphorylation motifs by PCR. *J Clin Microbiol*, **43**(2), 791–795.
2. Basso D., Zambon C. F., Letley D. P. et al (2008). Clinical relevance of Helicobacter pylori cagA and vacA gene polymorphisms. *Gastroenterology*, **135**(1), 91–99.
3. Beltrán-Anaya F. O., Poblete T. M. R.-R.A. (2014). The EPIYA-ABCC motif pattern in CagA of Helicobacter pylori is associated with peptic ulcer and gastric cancer in Mexican population. *BMC Gastroenterol*, **14**, 223–233.
4. Breurec S., Guillard B., Hem S. et al (2011). Expansion of European vacA and cagA alleles to East-Asian Helicobacter pylori strains in Cambodia. *Infect Genet Evol*, **11**(8), 1899–1905.
5. Chattopadhyay S., Patra R., Ramamurthy T. et al (2004). Multiplex PCR assay for rapid detection and genotyping of Helicobacter pylori directly from biopsy specimens. *J Clin Microbiol*, **42**(6), 2821–2824.
6. Chen C. Y., Wang F. Y., Wan H. J. et al (2013). Amino acid polymorphisms flanking the EPIYA-A motif of Helicobacter pylori CagA C-terminal region is associated with gastric cancer in east China: experience from a single center. *J Dig Dis*, **14**(7), 358–365.
7. Hayashi T., Senda M., Suzuki N., et al. (2017). Differential Mechanisms for SHP2 Binding and Activation Are Exploited by Geographically Distinct Helicobacter pylori CagA Oncoproteins. *Cell Rep*, **20**(12), 2876–2890.
8. Higashi H., Tsutsumi R., Fujita A. et al (2002). Biological activity of the Helicobacter pylori virulence factor CagA is determined by variation in the tyrosine phosphorylation sites. *Proc Natl Acad Sci*, **99**, 14428–14433.
9. Hoang TT, Bengtsson C, Phung DC, Sörberg M G.M. (2005). Seroprevalence of Helicobacter pylori infection in urban and rural Vietnam. *Clin Diagn Lab Immunol*, **12**(1), 81–85.
10. Jones K. R., Joo Y. M., Jang S. et al (2009). Polymorphism in the CagA EPIYA Motif Impacts Development of Gastric Cancer. *J Clin Microbiol*, **47**, 959–968.
11. Kamangar F., Dawsey M.S., Blaser J.M., PerezPerez I.M. et al (2006). Opposing Risk of Gastric Cardia and Noncardia Gastric Adenocarcinomas Associated With Helicobacter pylori Seropositivity. *J Natl Cancer Inst*, **98**(20), 1445–1452.
12. Li Q., Liu J., Gong Y. Y. (2017). Association of CagA EPIYA-D or EPIYA-C phosphorylation sites with peptic ulcer and gastric cancer risks: A meta-analysis. *Med*, **96**(17), e6620.
13. Matsunari O., Shiota S., Suzuki R. et al (20112). Association between Helicobacter pylori virulence factors and gastroduodenal diseases in Okinawa, Japan. *J Clin Microbiol*, **50**(3), 876–883.

14. Panayotopoulou E. G., Sgouras D. N., Papadakos K. et al (2007). Strategy To Characterize the Number and Type of Repeating EPIYA Phosphorylation Motifs in the Carboxyl Terminus of CagA Protein in *Helicobacter pylori* Clinical Isolates. *J Clin Microbiol*, 45(2), 488.
15. Pham T., Bui L., Kim G. et al (2019). Cancers in Vietnam-Burden and Control Efforts: A Narrative Scoping Review. *Cancer Control*, 26.
16. Satomi S., Yamakawa A., Matsunaga S. et al (2006). Relationship between the diversity of the cagA gene of *Helicobacter pylori* and gastric cancer in Okinawa, Japan. *J Gastroenterol*, 41(7), 668–673.
17. Schmidt H. M., Goh K. L., Fock K. M. et al (2009). Distinct cagA EPIYA motifs are associated with ethnic diversity in Malaysia and Singapore. *Helicobacter*, 14(4), 256–263.
18. Shokrzadeh L., Baghaei K., Yamaoka Y. et al (2010). Analysis of 3'-end variable region of the cagA gene in *Helicobacter pylori* isolated from Iranian population. *J Gastroenterol Hepatol*, 25(1), 172–177.
19. Uchida. T., Nguyen L. T., Takayama. A. O.T. (2009). Analysis of virulence factors of *Helicobacter pylori* isolated from a Vietnamese population. *BMC Microbiol*, 175.