

Nghiên cứu tỷ lệ mang gene *cagA* và kiểu gene *vacA* của vi khuẩn *Helicobacter pylori* ở bệnh nhân bệnh lý dạ dày - tá tràng

Nguyễn Thị Mai Ngân¹, Hà Thị Minh Thi^{1*}

(1) Bộ môn Di truyền Y học, Trường Đại học Y - Dược, Đại học Huế

Tóm tắt

Đặt vấn đề: *H. pylori* là tác nhân gây ung thư dạ dày thuộc nhóm I. Các gene độc lực *cagA* và *vacA* của vi khuẩn này đóng vai trò quan trọng trong cơ chế bệnh sinh. Đề tài nhằm các mục tiêu sau: (1) Xác định tỷ lệ mang gene *cagA* và kiểu gene *vacA smi* của *H. pylori* nhiễm ở các bệnh nhân bệnh lý dạ dày - tá tràng. (2) Khảo sát mối liên quan của gene *cagA* và kiểu gene *vacA smi* với các bệnh lý dạ dày - tá tràng. **Đối tượng và phương pháp:** Tiến hành nghiên cứu trên 115 bệnh nhân có bệnh lý dạ dày - tá tràng nhiễm *H. pylori*. Kiểu gene *cagA* và *vacA* được xác định bằng kỹ thuật PCR. **Kết quả:** Tỷ lệ *H. pylori* mang gene *cagA* là 80%. Hai tổ hợp gene phổ biến nhất là *cagA (+)/vacA s1m1i1* (39,1%) và *cagA (+)/vacA s1m2i1* (25,2%). Chủng *cagA (+)/vacA s1m1i1* có tỷ lệ cao trong bệnh loét dạ dày - tá tràng (59,3%), còn chủng *cagA (+)/vacA s1m2i1* chiếm tỷ lệ cao trong ung thư dạ dày (75%). **Kết luận:** Các chủng *H. pylori* có tỷ lệ mang gene *cagA* khá cao, kiểu gene *vacA smi* đa dạng. Tổ hợp kiểu gene *cagA (+)/vacA s1m1i1* có liên quan loét dạ dày - tá tràng, còn tổ hợp kiểu gene *cagA (+)/vacA s1m2i1* có liên quan với ung thư dạ dày.

Từ khóa: *Helicobacter pylori*, gene *cagA*, gene *vacA*, bệnh lý dạ dày - tá tràng.

Abstract

Prevalence of *cagA* gene and *vacA* genotypes of *Helicobacter pylori* among patients with gastroduodenal diseases

Nguyen Thi Mai Ngan¹, Ha Thi Minh Thi^{1*}

(1) University of Medicine and Pharmacy, Hue University

Background: *Helicobacter pylori* is an agent of gastric cancer that was classified as a group I carcinogen. *cagA* and *vacA* genes of *H. pylori* play important roles in the pathogenesis of gastroduodenal diseases. This research aimed to: (1) To determine the prevalence of *cagA* and *vacA* genotypes of *H. pylori* among patients with gastroduodenal diseases. (2) To investigate the association between *cagA* and *vacA* genotypes and gastroduodenal diseases. **Patients and methods:** One hundred and fifteen gastroduodenal disease patients infected with *H. pylori* were enrolled in this study. *cagA* and *vacA* genotypes were determined by PCR. **Result:** The rate of *cagA*-positive *H. pylori* strains was 80%. The most common genotype combinations were *cagA (+)/vacA s1m1i1* (39.1%) and *cagA (+)/vacA s1m2i1* (25.2%). The *cagA (+)/vacA s1m1i1* strain was predominant in peptic ulcer group (59.3%), whereas the *cagA (+)/vacA s1m2i1* strain accounted for a high rate in gastric cancer group (75%). **Conclusion:** Prevalence of *H. pylori* strains carrying the *cagA* gene was quite high, and *vacA smi* genotypes were diverse. *cagA (+)/vacA s1m1i1* strain was associated with peptic ulcer disease while *cagA (+)/vacA s1m2i1* strain was associated with gastric cancer.

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

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Helicobacter pylori (*H. pylori*) là một loại xoắn khuẩn Gram âm, được Warren và Marshall phân lập lần đầu tiên từ một bệnh nhân bị viêm dạ dày [1]. Khoảng 50% dân số thế giới nhiễm loại vi khuẩn này. *H. pylori* là yếu tố nguy cơ đối với các bệnh lý dạ dày - tá tràng. Từ năm 1994, Tổ chức nghiên cứu ung thư quốc tế (IARC) đã xác nhận *H. pylori* là tác nhân gây ung thư dạ dày thuộc nhóm I [2]. Cơ chế bệnh sinh của bệnh lý dạ dày - tá tràng do nhiễm *H. pylori*

chủ yếu liên quan đến sự biến đổi di truyền giữa các chủng, đặc biệt là ở các gene tạo độc tố như cytotoxin - associated gene A (*cagA*) và vacuolating cytotoxin A (*vacA*).

Gene *cagA* nằm ở đoạn cuối vùng tiểu đảo sinh bệnh *cag* (*cag* pathogenicity island: *cagPAI*), mã hóa cho protein CagA, được tìm thấy ở khoảng 70% chủng *H. pylori*. Sự hiện diện của gene *cagA* liên quan đến nhiều bệnh lý như viêm dạ dày, loét dạ dày - tá tràng cũng như làm tăng nguy cơ ung thư

dạ dày. Gene *vacA* có ở tất cả các chủng *H. pylori*, mã hóa cho độc tố tạo không bào VacA. Sự đa dạng trong kiểu gene của *vacA* được thể hiện ở ba vùng chính, bao gồm vùng s (signal region) với hai allele *s1* và *s2*, vùng i (intermediate region) với hai allele *i1* và *i2*, và vùng m (middle region) với hai allele *m1* và *m2*. Sự kết hợp của các biến thể này tạo nên các chủng với mức độ độc lực khác nhau. Chủng *s1m1* thường có độc lực mạnh; chủng *s2m2* hầu như không có độc lực; còn độc tính của chủng *s1m2* thì phụ thuộc vào kiểu gene *vacA i*, nếu kết hợp với allele *i1* thì có khả năng tạo độc tố không bào, nếu kết hợp allele *i2* thì không có khả năng này [3].

Do đó, việc nghiên cứu tình trạng mang gene *cagA* và kiểu gene *vacA smi* của *H. pylori* ở các bệnh nhân bệnh lý dạ dày - tá tràng sẽ góp phần làm sáng tỏ cơ chế bệnh sinh cũng như xác định được những chủng *H. pylori* có nguy cơ cao gây nên các tình trạng bệnh lý nặng như ung thư. Đây là một trong những cơ sở để quyết định điều trị diệt trừ *H. pylori* có chọn lọc, một trong những mục tiêu của y học chính xác. Chúng tôi tiến hành đề tài này nhằm 2 mục tiêu sau:

(1) Xác định tỷ lệ mang gene *cagA* và kiểu gene *vacA smi* của *H. pylori* nhiễm ở các bệnh nhân bệnh lý dạ dày - tá tràng.

(2) Khảo sát mối liên quan của gene *cagA* và kiểu gene *vacA smi* với các bệnh lý dạ dày - tá tràng.

2. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng nghiên cứu

Bệnh nhân đến nội soi tại Trung tâm Tiêu hóa - Nội soi, Bệnh viện Đại học Y - Dược Huế vì các dấu hiệu gợi ý bệnh lý dạ dày tá tràng như đầy bụng, khó tiêu, đau thượng vị, nôn, buồn nôn, đi cầu phân đen..., kết quả nội soi có tổn thương niêm mạc dạ dày - tá tràng và được chẩn đoán nhiễm *H. pylori*. Thời gian nghiên cứu từ tháng 6/2019 – 4/2021.

Cỡ mẫu: N=115.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

Bước 1: Chọn mẫu tại Trung tâm Tiêu hóa - Nội soi

- Bệnh nhân có kết quả nội soi với thương tổn dạ dày - tá tràng và test nhanh urease dương tính được chọn ngẫu nhiên vào nghiên cứu.

- Mẫu sinh thiết dạ dày sau khi thực hiện test nhanh urease được cho vào ống dung dịch TE và chuyển ngay đến Bộ môn Di truyền Y học, bảo quản ở -20°C.

Bước 2: Tách chiết DNA từ mẫu mô sinh thiết

- Mẫu mô được nghiền nhỏ và tách chiết DNA theo protocol chuẩn của bộ sinh phẩm Wizard Genomic DNA Purification (Promega).

- Kiểm tra nồng độ DNA và độ tinh sạch bằng máy NanoDrop 2000.

Bước 3: Xác định gene *cagA* và các allele *vacA s1/s2, m1/m2* của *H. pylori* bằng kỹ thuật Multiplex-PCR

Sử dụng quy trình Multiplex-PCR được tối ưu hóa bởi Chattopadhyay [4].

- Trình tự mồi như sau:

+ Mồi đặc hiệu gene *cagA* [4]:

cagA-F: GTTGATAACGCTGTCGCCTTC

cagA-R: GGGTTGTATGATATTTCCATAA

+ Mồi xác định các allele *vacA s1/s2* [5]:

VAI-F: ATGGAAATACAACAAACACAC

VAI-R: CTGCTTGAATGCGCCAAAC

+ Mồi xác định các allele *vacA m1/m2* [6]:

VAG-F: CAATCTGTCCAATCAAGCGAG

VAG-R: GCGTCAAAATAATTCCAAGG

- Thành phần phản ứng: 12,5 µl GoTaq Green MasterMix (Promega), 10 pmol mỗi mồi, 100 ng DNA khuôn mẫu và nước cất cho đủ 25 µl.

- Điều kiện nhiệt độ: Biến tính ban đầu: 95°C trong 5 phút; 30 chu kỳ: biến tính: 94°C trong 1 phút, gắn mồi: 52°C trong 1 phút, kéo dài mồi: 72°C trong 1 phút; kéo dài cuối cùng: 72°C trong 10 phút. Thực hiện trên máy luân nhiệt Applied Biosystems 2720.

- Sản phẩm PCR được điện di trên gel agarose 2% có bổ sung Redview, hiệu điện thế 80V, trong 2 giờ, kèm thang chuẩn 100 bp. Xem hình ảnh điện di dưới đèn cực tím.

- Đọc kết quả:

+ Đối với gene *vacA*: Các allele *s1/s2* và *m1/m2* được xác định dựa vào kích thước sản phẩm tương ứng (*vacA s1*: 259 bp, *vacA s2*: 286 bp, *vacA m1*: 567 bp, *vacA m2*: 642 bp).

+ Đối với gene *cagA*:

Các mẫu có sản phẩm khuếch đại kích thước 351 bp: kết luận *cagA* (+).

Các mẫu không có sản phẩm khuếch đại tương ứng đoạn gene *cagA* được tiếp tục thực hiện thêm phản ứng PCR đơn mồi với cặp mồi CAGT-F và CAGT-R đặc hiệu gene *cagA* [7]. Nếu phản ứng này có sản phẩm tương ứng thì kết luận *cagA* (+). Các mẫu không có sản phẩm được thực hiện phản ứng PCR với cặp mồi đặc hiệu vùng «empty *cagPAI*» để khẳng định tình trạng *cagPAI* (-) [8].

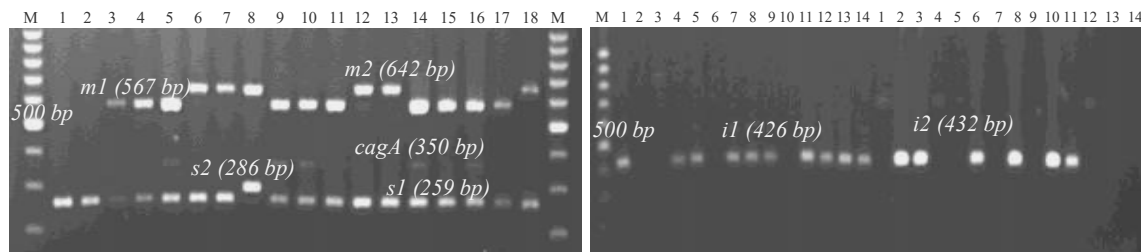
Bước 4: Xác định các allele *vacA i1/i2* của *H. pylori* bằng kỹ thuật PCR

- Trình tự mồi xác định các allele *vacA i1/i2* [9]:

VacF1: GTTGGGATTGGGGGAATGCCG

C1-R: TTAATTTAACGCTGTTTGAAG

C2-R: GATCAACGCTCTGATTGA



Hình 1A

Hình 1B

- Thực hiện hai phản ứng PCR với cùng mỗi xuôi VacF1, mồi ngược lần lượt là C1-R và C2-R để xác định các allele *vacA i1* và *i2*. Điều kiện phản ứng tương tự như trên, chỉ khác nhiệt độ gắn mồi là 55°C.

- Các allele *i1/i2* được xác định dựa vào sự xuất hiện sản phẩm ở phản ứng đặc hiệu, kích thước sản phẩm lần lượt là *vacA i1*: 426 bp và *vacA i2*: 432 bp.

3. KẾT QUẢ

3.1. Tỷ lệ các kiểu gene *cagA* và *vacA* của *H. pylori*

Bảng 1. Tỷ lệ mang gene *cagA* và các kiểu gene *vacA* của *H. pylori*

Kiểu gene	Số ca	Tỷ lệ %
<i>cagA</i>		
Dương tính	92	80,0
Âm tính	23	20,0
<i>vacA</i>		
<i>s1m1i1</i>	46	40,0
<i>s1m2i1</i>	33	28,7
<i>s1m2i2</i>	17	14,8
<i>s2m2i2</i>	1	0,9
<i>s1i1</i> (*)	4	3,5
Nhóm hỗn hợp	14	12,2
Tổng	115	100,0

(*) Không xác định được kiểu gene *vacA m*.

Tỷ lệ *H. pylori cagA* (+) chiếm 80,0%. Tất cả các chủng đều mang gene *vacA*, trong đó kiểu gene *vacA s1m1i1* chiếm tỷ lệ cao nhất (40,0%) và kiểu gene *vacA s2m2i2* chiếm tỷ lệ thấp nhất (0,9%). Ngoài ra, có 14 bệnh nhân nhiễm hỗn hợp nhiều chủng *H. pylori* và 4 chủng không xác định được kiểu gene *vacA m*.

Hình 1A: Kết quả PCR đa mồi xác định gene *cagA* và kiểu gene *vacA sm* của *H. pylori*

M: Thang chuẩn 100 bp. Mẫu 1, 4, 11, 15, 17: *cagA* (-)/ *vacA s1m1*. Mẫu 2: *cagA* (-)/ *vacA s1*, không xác định được *vacA m*. Mẫu 3, 5, 9, 10, 14, 16: *cagA* (+)/ *vacA s1m1*. Mẫu 6, 7, 12, 13, 18: *cagA* (-)/ *vacA s1m2*. Mẫu 8: *cagA* (-)/ *vacA s2m2*.

Hình 1B: Kết quả PCR đơn mồi xác định kiểu gene *vacA i* của *H. pylori*

M: Thang chuẩn 100 bp. 14 giếng đầu và 14 giếng sau theo thứ tự là sản phẩm PCR đặc hiệu kiểu gene *vacA i1* và *vacA i2*. Mẫu 1, 4, 5, 7, 9, 12, 13, 14: *vacA i1*. Mẫu 2, 3, 6, 10: *vacA i2*. Mẫu 8, 11: *vacA i1/i2*

Bảng 2. Mối liên quan giữa các kiểu gene *vacA* và *cagA* của *H. pylori*

Kiểu gene Tổng (%)	<i>cagA</i>		p
	Dương tính (%)	Âm tính (%)	
<i>vacA s</i>			
<i>s1</i>	112 (97,4)	90 (97,8)	22 (95,7)
<i>s2</i>	1 (0,9)	0 (0,0)	1 (4,3)
<i>s1/s2</i>	2 (1,7)	2 (2,2)	0 (0,0)

vacA m	<i>m1</i>	46 (40,0)	45 (48,9)	1 (4,3)	<0,001 (*)
	<i>m2</i>	55 (47,8)	34 (37,0)	21 (91,3)	
	<i>m1/m2</i>	10 (8,7)	9 (9,8)	1 (4,3)	
	Không xác định	4 (3,5)	4 (4,3)	0 (0,0)	
vacA i	<i>i1</i>	89 (77,4)	84 (91,3)	5 (21,7)	<0,001 (*)
	<i>i2</i>	18 (15,7)	2 (2,2)	16 (69,6)	
	<i>i1/i2</i>	8 (7,0)	6 (6,5)	2 (8,7)	

(*) Kiểm định Fisher's exact

Có mối liên quan giữa gene *cagA* với các allele *m1/m2*, *i1/i2* của gene *vacA*. Những chủng *H. pylori cagA* (+) thường kết hợp với các allele *vacA m1* và *vacA i1*, trong khi đó những chủng *cagA* (-) lại thường kết hợp với các allele *vacA m2* và *vacA i2*, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê. Không có mối liên quan giữa sự kết hợp của *cagA* với các kiểu gene *vacA s*.

Bảng 3. Tỷ lệ các tổ hợp kiểu gene giữa *cagA* và *vacA* của *H. pylori*

Kiểu gene <i>cagA/vacA</i>	Số ca	Tỷ lệ %
<i>cagA</i> (+)/ <i>vacA s1m1i1</i>	45	39,1
<i>cagA</i> (+)/ <i>vacA s1m2i1</i>	29	25,2
<i>cagA</i> (+)/ <i>vacA s1m2i2</i>	2	1,7
<i>cagA</i> (+)/ <i>vacA s1i1*</i>	4	3,5
<i>cagA</i> (-)/ <i>vacA s1m1i1</i>	1	0,9
<i>cagA</i> (-)/ <i>vacA s1m2i1</i>	4	3,5
<i>cagA</i> (-)/ <i>vacA s1m2i2</i>	15	13,0
<i>cagA</i> (-)/ <i>vacA s2m2i2</i>	1	0,9
Nhóm hỗn hợp	14	12,2
Tổng	115	100,0

(*) Không xác định được kiểu gene *vacA m*.

Các tổ hợp kiểu gene phổ biến là *cagA*(+)/*vacA s1m1i1* (39,1%) và *cagA*(+)/*vacA s1m2i1* (25,2%). Tổ hợp kiểu gene *cagA*(-)/*vacA s2m2i2* có tỷ lệ thấp nhất.

3.2. Mối liên quan giữa *cagA*, *vacA* của *H. pylori* và các bệnh lý dạ dày – tá tràng

Bảng 4. Phân bố kiểu gene *cagA* theo các nhóm bệnh lý dạ dày tá tràng

Kiểu gene	Viêm dạ dày	Loét dạ dày - tá tràng	Ung thư dạ dày	p (Fisher's exact)
<i>cagA</i> (+)	50 (74,6)	24 (85,7)	18 (90,0)	0,284
<i>cagA</i> (-)	17 (25,4)	4 (14,3)	2 (10,0)	
Tổng	67	28	16	

Không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê về tỷ lệ mang gene *cagA* của các chủng *H. pylori* ở các nhóm bệnh lý dạ dày - tá tràng.

Bảng 5. Mối liên quan giữa các chủng *H. pylori* phổ biến với các nhóm bệnh lý dạ dày – tá tràng

Kiểu gene	Viêm dạ dày	Loét dạ dày - tá tràng	Ung thư dạ dày	p (Fisher's exact)
<i>cagA</i> (+) / <i>vacA s1m1i1</i>	27 (46,6)	16 (59,3)	2 (12,5)	0,0004
<i>cagA</i> (+) / <i>vacA s1m2i1</i>	11 (19,0)	6 (22,2)	12 (75,0)	
Các tổ hợp gene khác*	20 (34,5)	5 (18,5)	2 (12,5)	
Tổng	58	27	16	

(*) Không xét các trường hợp nhiễm hỗn hợp.

Chủng *H. pylori* có tổ hợp kiểu gene *cagA* (+)/*vacA s1m1i1* chiếm tỷ lệ cao hơn trong bệnh lý loét dạ dày – tá tràng so với viêm dạ dày và ung thư dạ dày, trong khi đó chủng tổ hợp *cagA*(+)/*vacA s1m2i1* lại có tỷ lệ đặc biệt cao trong bệnh lý ung thư dạ dày so với viêm dạ dày và loét dạ dày – tá tràng. Sự khác biệt có ý nghĩa thống kê.

4. BÀN LUẬN

4.1. Tỷ lệ các kiểu gene *cagA* và *vacA* của *H. pylori*

H. pylori là nguyên nhân hàng đầu của các bệnh lý dạ dày - tá tràng, đã được IARC xếp vào nhóm I của tác nhân gây ung thư dạ dày. Những chủng *H. pylori* mang gene *cagA* (+) được xem là yếu tố nguy cơ cao. Hầu hết các nghiên cứu trên thế giới cho thấy khoảng 70% chủng *H. pylori* có mang gene *cagA* và tỷ lệ này thay đổi tùy theo khu vực địa lý. Nghiên cứu của chúng tôi phát hiện tỷ lệ *H. pylori cagA* (+) là 80,0% (Bảng 1). Kết quả này tương đương với một số nghiên cứu khác cũng được thực hiện tại miền Trung như nghiên cứu của tác giả Hà Thị Minh Thi thực hiện từ năm 2012 đến năm 2017 cho thấy tỷ lệ *cagA* (+) là 71,4% [10] và nghiên cứu của tác giả Phan Trung Nam (2017) là 84% [8]. Tuy nhiên, những nghiên cứu được thực hiện ở các vùng khác của Việt Nam lại cho thấy tỷ lệ chủng *H. pylori cagA* (+) rất cao, lên đến 95,7% theo nghiên cứu của tác giả Trần Thiện Trung (2010) thực hiện ở thành phố Hồ Chí Minh [11] và 95% theo nghiên cứu của tác giả Nguyễn Lâm Tùng (2010) tại cả thành phố Hồ Chí Minh và Hà Nội [12].

Gene *vacA* hiện diện ở tất cả các chủng *H. pylori* và có tính đa hình cao. Độc lực liên quan gene *vacA* tùy thuộc vào các allele thuộc các vùng s, m, i của gene. Từ trước đến nay, phần lớn các nghiên cứu về kiểu gene *vacA* chỉ tập trung vào hai vùng s và m của gene này. Gần đây, vai trò của các allele *i1* và *i2* trong bệnh lý dạ dày - tá tràng bắt đầu được các nhà khoa học trên thế giới quan tâm nghiên cứu. Tuy nhiên, các tác giả ở Việt Nam hầu như chỉ mới tập trung nghiên cứu vùng s và m, chỉ có một vài tác giả nghiên cứu vùng i, nhưng các kỹ thuật sinh học phân tử nhằm xác định các kiểu gene này đều được thực ở nước ngoài như Ý [8] và Nhật Bản [12]. Chúng tôi là nhóm nghiên cứu trong nước đầu tiên xác định kiểu gene *vacA* ở cả ba vùng s, m và i. Kết quả cho thấy chủng *H. pylori vacA s1m1i1* chiếm tỷ lệ cao nhất 40,0%, kế đến là *vacA s1m2i1* chiếm 28,7% và *s1m2i2* chiếm 14,8%, những chủng khác có tỷ lệ rất thấp (Bảng 1). Nghiên cứu của tác giả Phan Trung Nam cũng ghi nhận kiểu gene *vacA s1i1m1* chiếm ưu thế với tỷ lệ 56%, tiếp sau đó lần lượt là *vacA s1m2i1* 35% và *s1m2i2* 6,8% [8].

Trong nghiên cứu này, chúng tôi chỉ phát hiện một chủng mang kiểu gene *vacA s2m2i2*. Tác giả Phan Trung Nam nghiên cứu trên 88 bệnh nhân cũng chỉ phát hiện được 2 trường hợp tương tự [8]. Kiểu gene *vacA s2m2i2* có tỷ lệ thấp ở các chủng *H. pylori* trên thế giới và rất hiếm ở Việt Nam. Hiện nay, ngoài chúng tôi và tác giả Phan Trung Nam chưa có tác giả Việt Nam nào công bố các chủng này. Một số nghiên cứu ở những nơi khác trên thế giới như ở Macau (Trung Quốc) và Iran còn phát hiện các tổ hợp gene khác chưa được ghi nhận ở Việt Nam như *s1m1i2*, *s2m1i1*, *s2m1i2* và *s2m2i1* [3], [13].

Nghiên cứu của chúng tôi còn phát hiện 12,2% bệnh nhân nhiễm đồng thời nhiều chủng *H. pylori* (Bảng 1). Tình trạng nhiễm đa chủng *H. pylori* cũng được ghi nhận trong các nghiên cứu khác như nghiên cứu của tác giả Pinto-Ribeiro (2016) thực hiện trên 272 bệnh nhân bệnh lý dạ dày – tá tràng thì có đến 37,5% trường hợp nhiễm đa chủng [3]; nghiên cứu của tác giả Trần Thiện Trung (2013) trên 172 bệnh nhân nhiễm *H. pylori* thì có 17 trường hợp nhiễm hỗn hợp *vacA m1/m2* và 1 trường hợp có hỗn hợp kiểu gene *vacA s1/s2* [14].

Ngoài ra, kết quả phân tích mối liên quan giữa sự kết hợp gene *cagA* với các kiểu gene *vacA smi* ở Bảng 2 cho thấy các chủng *H. pylori cagA* (+) có xu hướng kết hợp với các kiểu gene *vacA m1, i1*, trong khi đó những chủng không mang gene *cagA* lại thường kết hợp với các kiểu gene *vacA m2, i2* ($p < 0,001$). Điều này được thể hiện qua tỷ lệ các tổ hợp gene được trình bày ở Bảng 3, cụ thể tổ hợp gene chiếm tỷ lệ cao nhất là *cagA* (+)/*vacA s1m1i1*, đứng hàng thứ hai là *cagA* (+)/*vacA s1m2i1*. Các nghiên cứu trên thế giới cho thấy rằng độc lực của *H. pylori* có liên quan đến sự hiện diện của gene *cagA*, đồng thời các kiểu gene *vacA s1* được ghi nhận có khả năng tạo độc tố mạnh hơn các kiểu gene *vacA s2* và *vacA i1* mạnh hơn *vacA i2* [3], [9]. Như vậy, có thể thấy rằng trong các chủng *H. pylori* lưu hành tại Việt Nam thì tỷ lệ của các chủng có độc lực mạnh là khá cao.

4.2. Mối liên quan giữa *cagA*, *vacA* của *H. pylori* và các bệnh lý dạ dày - tá tràng

Các nghiên cứu về dịch tễ học phân tử trên thế giới cho thấy sự đa dạng di truyền của *H. pylori* có thể là nguyên nhân dẫn đến nhiều hậu quả khác nhau trên lâm sàng. Nhiều nghiên cứu đã làm rõ vai trò của các yếu tố độc lực của *H. pylori*, trong số đó protein CagA và các biến thể của protein VacA là những yếu tố được quan tâm nhất.

Trong nghiên cứu này, chúng tôi nhận thấy rằng tỷ lệ các chủng *H. pylori cagA* (+) đều rất cao ở mỗi nhóm bệnh lý dạ dày - tá tràng. Tỷ lệ này lên đến 90% trong nhóm ung thư dạ dày, các nhóm loét dạ dày –

tá tràng và viêm dạ dày có tỷ lệ *H. pylori cagA* (+) lần lượt là 85,7% và 74,6%. Tuy nhiên, phân tích ở Bảng 4 cho thấy sự khác biệt này không có ý nghĩa thống kê. Nghiên cứu của các tác giả Phan Trung Nam và Nguyễn Lâm Tùng cũng đưa ra kết luận tương tự [8], [12]. Tác giả Shiota đã nhận định rằng các chủng *H. pylori* ở châu Á có tỷ lệ *cagA* (+) rất cao, vì vậy hầu như không có sự khác biệt về tỷ lệ *cagA* (+) giữa các nhóm bệnh lý dạ dày - tá tràng, và *cagA* không phải là chỉ điểm sinh học duy nhất để đánh giá các hậu quả lâm sàng do *H. pylori* gây ra [15].

Mặc dù tất cả các chủng *H. pylori* đều có gene *vacA* nhưng độc tính tạo không bào thay đổi rất đáng kể giữa các chủng và sự khác biệt này phụ thuộc vào các kiểu gene ở vùng *smi*. Chủng *vacA s1m1* có khả năng tạo không bào mạnh, trái lại chủng *vacA s2m2* hầu như không thể hiện độc tính, còn những chủng *vacA s1m2* khi kết hợp với *vacA i1* thì có khả năng sinh độc tố nhưng kết hợp với *vacA i2* thì khả năng này không còn nữa [3]. Các nghiên cứu trên thế giới đều cho thấy các chủng *H. pylori* có tổ hợp gene *cagA* (+)/*vacA s1m1i1* và *cagA* (+)/*vacA s1m2i1* là những chủng được xem có độc tính cao nhất, các chủng này cũng chiếm tỷ lệ cao nhất trong nghiên cứu của chúng tôi. Khi khảo sát mối liên quan giữa những tổ hợp gene này với các bệnh lý dạ dày - tá tràng, kết quả ở Bảng 5 cho thấy tổ hợp

gene *cagA* (+)/*vacA s1m1i1* có tỷ lệ cao nhất ở nhóm bệnh lý loét dạ dày - tá tràng với 59,3%, cao hơn có ý nghĩa thống kê so với nhóm viêm dạ dày và ung thư dạ dày. Trong khi đó, tổ hợp gene *cagA* (+) / *vacA s1m2i1* chiếm đến 75% trong nhóm ung thư dạ dày, cao hơn có ý nghĩa thống kê so với nhóm loét dạ dày - tá tràng và viêm dạ dày.

Như vậy, có mối liên quan giữa các tổ hợp gene độc tính cao với các bệnh lý dạ dày - tá tràng. Việc xác định đặc điểm sinh học phân tử của các chủng *H. pylori* giúp xác định được nhóm bệnh nhân nhiễm chủng có độc tính cao, đây là một yếu tố tiên lượng về hậu quả lâm sàng, giúp bác sĩ có kế hoạch điều trị, theo dõi và dự phòng phù hợp.

5. KẾT LUẬN

Qua nghiên cứu gene *cagA* và *vacA* của các chủng *H. pylori* nhiễm trên 115 bệnh nhân dạ dày - tá tràng, chúng tôi rút ra các kết luận như sau:

- Các chủng *H. pylori* có tỷ lệ mang gene *cagA* khá cao (80%), kiểu gene *vacA smi* đa dạng. Hai tổ hợp gene phổ biến nhất là *cagA* (+)/*vacA s1m1i1* (39,1%) và *cagA* (+)/*vacA s1m2i1* (25,2%).
- Tổ hợp kiểu gene *cagA* (+)/*vacA s1m1i1* có liên quan loét dạ dày - tá tràng, còn tổ hợp kiểu gene *cagA* (+)/*vacA s1m2i1* có liên quan với ung thư dạ dày.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Marshall B. J., Warren J. R. (1984). Unidentified curved bacilli in the stomach of patients with gastritis and peptic ulceration. *Lancet*, 1(8390), 1311-1315.
2. IARC Helicobacter pylori Working Group (2014). Helicobacter pylori eradication as a strategy for preventing gastric cancer. *International Agency for Research on Cancer 150 cours Albert Thomas Lyon Cedex 08, France*. Lyon, France, 1-59.
3. Pinto-Ribeiro. I., Ferreira. R. M., Batalha. S., Hlaing. T., Wong. S. I., Carneiro. F., Figueiredo. C. (2016). Helicobacter pylori *vacA* Genotypes in Chronic Gastritis and Gastric Carcinoma Patients from Macau, China. *Toxins*, 8(5), 142.
4. Chattopadhyay S, Patra R, Ramamurthy T, Chowdhury A, Santra A, Dhali G, Bhattacharya S, Berg DE, Nair GB, Mukhopadhyay AK (2004) Multiplex PCR assay for rapid detection and genotyping of *Helicobacter pylori* directly from biopsy specimens. *J Clin Microbiol* 42: 2821-2824.
5. Atherton JC, Cao P, Peek RM, Tummuru MK, Blaser MJ, Cover TL (1995) Mosaicism in vacuolating cytotoxin alleles of *Helicobacter pylori* association of specific *vacA* types with cytotoxin production and peptic ulceration. *J Biol Chem* 270: 17771-17777.
6. Atherton J, Cover T, Twells R, Morales M, Hawkey C, Blaser M (1999) Simple and accurate PCR-based system for typing vacuolating cytotoxin alleles of *Helicobacter pylori*. *J Clin Microbiol* 37: 2979-2982.
7. Yamaoka Y, Malaty H.M., Osato M.S., Graham D.Y., (2000). Conservation of *Helicobacter pylori* genotypes in different ethnic groups in Houston, Texas. *The Journal of infectious diseases*, 181(6), 2083-2086.
8. Phan T. N., Santona A., Tran V. H., Tran T., Le V. A., Cappuccinelli P., Rubino S., Paglietti B. (2017). Genotyping of *Helicobacter pylori* shows high diversity of strains circulating in central Vietnam. *Infection, genetics and evolution: journal of molecular epidemiology and evolutionary genetics in infectious diseases*, 52, 19-25.
9. Rhead J. L., Letley D. P., Mohammadi M., Hussein N., Mohagheghi M. A., Eshagh Hosseini M., Atherton J. C. (2007). A new *Helicobacter pylori* vacuolating cytotoxin determinant, the intermediate region, is associated with gastric cancer. *Gastroenterology*, 133(3), 926-936.
10. Thi Minh Thi Ha, Thanh Nha Uyen Le, Viet Nhan Nguyen, Huy Tran Van (2019). Association of TP53 gene codon 72 polymorphism with *Helicobacter pylori*-positive non-cardia gastric cancer in Vietnam. *Journal of infection in developing countries*, 13(11), 984-991.
11. Trần Thiện Trung, Lê Châu Hoàng Quốc Chương,

Trần Anh Minh, Lý Kim Hương, Hồ Huỳnh Thùy Dương, Nguyễn Tuấn Anh (2010). Kết quả nghiên cứu các týp gen *cagA* và *vacA* của *Helicobacter pylori* trong ung thư dạ dày. *Tạp chí Y Học thành phố Hồ Chí Minh*, 14(4), 25.

12. Nguyen T. L., Uchida T., Tsukamoto Y., Trinh D. T., Ta L., Mai B. H., Le S. H., Thai, K. D., Ho D. D., Hoang H. H., Matsuhisa T., Okimoto T., Kodama M., Murakami K., Fujioka T., Yamaoka Y., Moriyama M. (2010). Helicobacter pylori infection and gastroduodenal diseases in Vietnam: a cross-sectional, hospital-based study. *BMC gastroenterology*, 10, 114.

13. Pouya K., Mohammad K., Mahdi B., Abbas D., Shapoor A. (2020). Association of *cagA*, *cagC*, *virB2*, and

vacA Subtypes of Helicobacter pylori with Adenocarcinoma Development in Iranian Patients. *Jundishapur J Microbiol*, 13(7), e101275.

14. Trần Thiện Trung, Nguyễn Tuấn Anh, Quách Hữu Lộc, Trần Thiện Khiêm, Trần Anh Minh, Trần Ái Anh, Nguyễn Thị Minh Tâm, Hồ Huỳnh Thùy Dương (2013). Kết quả nghiên cứu gen *cagA* và các gen *vacA* của *Helicobacter pylori* trên bệnh nhân viêm dạ dày bằng phương pháp multiplex PCR. *Tạp chí Khoa học Y học Việt Nam*, 8(33), 2102-2109.

15. Shiota S., Suzuki R., & Yamaoka Y. (2013). The significance of virulence factors in Helicobacter pylori. *Journal of digestive diseases*, 14(7), 341–349.