

## Xác định đa hình *CYP2C19*\*2 và *CYP2C19*\*3 ở bệnh nhân bệnh lý dạ dày - tá tràng có nhiễm *Helicobacter pylori* bằng kỹ thuật PCR-RFLP

Hà Thị Minh Thi<sup>1,2,3\*</sup>, Nguyễn Thị Mai Ngân<sup>1,3</sup>, Lê Phan Tường Quỳnh<sup>1,3</sup>, Lê Mỹ Diễm<sup>1,3</sup>, Ngô Thị Diệu Hương<sup>1,3</sup>

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

(2) Viện Y Sinh học, Trường Đại học Y - Dược, Đại học Huế

(3) Trung tâm Sàng lọc - Chẩn đoán trước sinh và sơ sinh, Bệnh viện Trường Đại học Y - Dược Huế

### Tóm tắt

**Đặt vấn đề:** Dược lý di truyền là một trong những lĩnh vực cốt lõi của y học chính xác. Gene *CYP2C19* mã hóa enzyme cytochrome P450 2C19 tham gia chuyển hóa thuốc ức chế bơm proton ở gan. Allele mã hoá protein không chức năng thường gặp nhất là *CYP2C19*\*2 và *CYP2C19*\*3. **Mục tiêu:** (1) Thiết lập quy trình xác định các đa hình *CYP2C19*\*2 và *CYP2C19*\*3 bằng kỹ thuật PCR-RFLP; (2) Xác định tỷ lệ các kiểu gene *CYP2C19* theo đa hình \*2 và \*3 ở bệnh nhân bệnh lý dạ dày - tá tràng có nhiễm *H. pylori*. **Đối tượng và phương pháp:** DNA được tách chiết từ 112 mẫu mô sinh thiết niêm mạc dạ dày. Xác định các đa hình *CYP2C19*\*2 và \*3 bằng kỹ thuật PCR-RFLP. Kiểm chứng ngẫu nhiên 10% mẫu bằng giải trình tự Sanger. **Kết quả:** Tất cả các mẫu được kiểm chứng đều cho kết quả tương đồng. Tần suất các allele \*1, \*2 và \*3 của gene *CYP2C19* lần lượt là 67,9%, 29% và 3,1%. Tỷ lệ các nhóm có kiểu gene chuyển hóa bình thường, chuyển hoá trung gian và chuyển hoá kém lần lượt là 45,5%, 44,7% và 9,8%. **Kết luận:** Nhóm kiểu gene chuyển hoá trung gian/kém chiếm tỷ lệ cao. PCR-RFLP là kỹ thuật xác định đa hình *CYP2C19*\*2 và *CYP2C19*\*3 chính xác và có giá thành thấp. Có thể ứng dụng để xác định các đa hình ở bệnh nhân dạ dày - tá tràng làm cơ sở điều trị theo hướng cá nhân hoá.

**Từ khóa:** *CYP2C19*\*2, *CYP2C19*\*3, PCR-RFLP, bệnh lý dạ dày - tá tràng, dược lý di truyền.

## Determining the *CYP2C19*\*2 and *CYP2C19*\*3 polymorphisms among patients with gastroduodenal diseases by PCR-RFLP technique

Hà Thị Minh Thi<sup>1,2,3\*</sup>, Nguyễn Thị Mai Ngân<sup>1,3</sup>, Lê Phan Tường Quỳnh<sup>1,3</sup>, Lê Mỹ Diễm<sup>1,3</sup>, Ngô Thị Diệu Hương<sup>1,3</sup>

(1) Department of Medical Genetics, University of Medicine and Pharmacy, Hue University

(2) Institute of Biomedicine, University of Medicine and Pharmacy, Hue University

(3) Center of Prenatal and Neonatal Screening-Diagnosis, Hospital of Hue University of Medicine and Pharmacy

### Abstract

**Background:** Pharmacogenetics is at the heart of precision medicine. The *CYP2C19* gene encodes the cytochrome P450 2C19 enzyme which is involved in the metabolism of proton pumps inhibitors in liver. The most common alleles encoding non-functional proteins are *CYP2C19*\*2 and *CYP2C19*\*3. **Objectives:** (1) Establish a process to identify *CYP2C19*\*2 and \*3 polymorphisms by PCR-RFLP technique; (2) Determine the prevalence of *CYP2C19* genotypes by \*2 and \*3 polymorphisms among *H. pylori*-positive patients with gastroduodenal diseases. **Materials and methods:** DNA samples were extracted from 112 gastric biopsy specimens. The *CYP2C19*\*2 and \*3 polymorphisms were identified by PCR-RFLP technique. Confirming the results in 10% of the samples randomly by Sanger sequencing. **Results:** The PCR-RFLP results of validated samples were in 100% concordance with sequencing results. The frequencies of the \*1, \*2 and \*3 alleles of the *CYP2C19* gene were 67.9%, 29% and 3.1%, respectively. The proportion of groups with normal metabolizer, intermediate metabolizer and poor metabolizer genotypes were 45.5%, 44.7% and 9.8%, respectively. **Conclusion:** The intermediate/poor metabolizer genotype accounted for a high rate. PCR-RFLP is an accurate and cost-effective method to determine *CYP2C19*\*2 and *CYP2C19*\*3 polymorphisms. This technique can be applied to identify polymorphisms in patients with gastroduodenal disorders as a guidance for personalized therapy.

**Keywords:** *CYP2C19*\*2, *CYP2C19*\*3, PCR-RFLP, gastroduodenal diseases, pharmacogenetics.

## 1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Thuốc ức chế bơm proton (PPIs) được sử dụng rộng rãi trên lâm sàng để ức chế tiết acid dịch vị trong điều trị và dự phòng nhiều bệnh lý khác nhau như trào ngược dạ dày thực quản, viêm loét dạ dày - tá tràng, viêm thực quản [1]. PPIs còn đóng vai trò quyết định trong các phác đồ điều trị tiết trừ *H. pylori* [2]. Ngoài vai trò ức chế tiết acid dạ dày, các thuốc PPIs còn có thể làm tăng hiệu lực của kháng sinh bằng cách giảm sự phân hủy kháng sinh trong dịch vị, tạo điều kiện cho quá trình tiết trừ *H. pylori* [3]. Nhiều nghiên cứu cho thấy sự khác biệt trong hiệu quả điều trị giữa các nhóm quần thể cùng sử dụng một loại PPIs; một trong những nguyên nhân được chú ý là sự tương tác giữa thuốc và các yếu tố di truyền, trong đó các đa hình trên gene *CYP2C19* đóng vai trò quan trọng.

Gene *CYP2C19* nằm trên nhiễm sắc thể 10q23.33 mã hóa cho cytochrome P450 2C19 (*CYP2C19*). Đây là enzyme chính tham gia vào quá trình chuyển hóa các loại thuốc ở gan, bao gồm cả PPIs. Hiện nay, gene *CYP2C19* được ghi nhận có 39 allele, trong đó phần lớn các allele mã hóa cho protein có hoạt tính enzyme bình thường [4]. Các allele được gọi theo danh pháp dấu sao (\*), trong đó *CYP2C19\*1* là allele hoang dại và mã hoá protein hoạt tính bình thường. Allele mã hoá protein không chức năng thường gặp nhất là *CYP2C19\*2* với sự thay thế một nucleotide ở exon 5 (rs4244285, c.681G>A), tiếp đến là *CYP2C19\*3*, có sự thay thế một nucleotide ở exon 4 (rs4986893, c.636G>A). Các đa hình không chức năng khác hầu như rất hiếm gặp [1]. Dựa vào kiểu gene theo các biến thể (\*) của *CYP2C19* người ta chia ra các nhóm mức độ chuyển hoá thuốc khác nhau, bao gồm chuyển hoá **chuyển hóa bình thường** (NM: normal metabolizer) tương ứng với kiểu gene có hai allele hoang dại (wild-type) là *\*1/\*1*, **chuyển hóa trung gian** (IM: intermediate metabolizer) tương ứng với kiểu gene dị hợp tử (*\*1/\*2* hoặc *\*1/\*3*) và **chuyển hóa thấp** (PM: poor metabolizer) tương ứng với kiểu gene gồm 2 allele mất chức năng (*\*2/\*2*, *\*2/\*3* hoặc *\*3/\*3*). Ngoài ra, còn có đa hình *CYP2C19\*17* gây hậu quả tăng chức năng, vì vậy còn có nhóm **chuyển hoá nhanh** (RM: rapid metabolizer) với kiểu gene *\*1/\*17* và **chuyển hoá siêu nhanh** (UM: ultrarapid metabolizer) với kiểu gene *\*17/\*17*. Tuy nhiên, đa hình *\*17* này chỉ phổ biến trong quần thể người châu Âu và châu Phi, trong khi đó hầu như rất hiếm ở châu Á [5], [1]. Đặc biệt ở Việt Nam, tần suất đa hình *\*17* ghi nhận chỉ khoảng 2% [6], [7].

Ngoại trừ rabeprazole hầu như rất ít chuyển hoá bởi enzyme *CYP2C19*, các PPIs khác như omeprazole, esomeprazole, lansoprazole... đều được chuyển hoá bởi enzyme này với tỷ lệ trên 70% hoặc trên 80% [8].

Do đó, những biến đổi trên gene có thể ảnh hưởng trực tiếp đến hoạt tính của enzyme, từ đó ảnh hưởng đến hiệu quả của thuốc trên lâm sàng và tác dụng không mong muốn. Sự phân bố của các đa hình gene *CYP2C19* thay đổi tùy theo từng quần thể, trong khi đó hiện nay ở Việt Nam có rất ít công bố về tần suất các đa hình này. Đặc biệt, hầu như chưa có công bố tần suất các đa hình này ở bệnh nhân dạ dày - tá tràng thuộc khu vực miền Trung. Các đa hình *CYP2C19\*2* và *\*3* đều là các đa hình đơn nucleotide, liên quan đến vị trí cắt của các enzyme *MspI* và *BamHI*. Điều này cho phép có thể thực hiện kỹ thuật PCR-RFLP (polymerase chain reaction - restriction fragment length polymorphism) để xác định đa hình. Đây là kỹ thuật dựa trên nền tảng PCR (PCR-based technique) có giá thành phù hợp, có thể thực hiện tại các cơ sở y tế có phòng xét nghiệm sinh học phân tử cơ bản. Vì vậy, chúng tôi tiến hành đề tài nhằm hai mục tiêu sau:

(1) Thiết lập quy trình xác định các đa hình *CYP2C19\*2* và *CYP2C19\*3* bằng kỹ thuật PCR-RFLP.

(2) Xác định tỷ lệ các kiểu gene *CYP2C19* theo đa hình *\*2* và *\*3* ở bệnh nhân bệnh lý dạ dày - tá tràng nhiễm *H. pylori*.

## 2. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

### 2.1. Đối tượng nghiên cứu

Bệnh nhân bệnh lý dạ dày - tá tràng có nhiễm *H. pylori* được nội soi tại Trung tâm Tiêu hóa - Nội Soi, Bệnh viện Trường Đại học Y - Dược Huế.

Cỡ mẫu: N = 112

#### • Tiêu chuẩn chọn bệnh

- Kết quả nội soi chẩn đoán bệnh dạ dày - tá tràng như: viêm dạ dày, loét dạ dày - tá tràng...

- Được chẩn đoán xác định nhiễm *H. pylori* bằng xét nghiệm nhanh urease trên mẫu mô sinh thiết niêm mạc dạ dày lấy qua nội soi.

#### • Tiêu chuẩn loại trừ

- Có dùng thuốc ức chế bơm proton trong vòng 2 tuần, bismuth và kháng sinh trong vòng 4 tuần trước nội soi.

- DNA được tách chiết từ mẫu mô sinh thiết niêm mạc dạ dày không đảm bảo về số lượng và chất lượng cho xét nghiệm PCR.

### 2.2. Phương pháp nghiên cứu

Nghiên cứu mô tả cắt ngang từ tháng 5 năm 2020 đến tháng 7 năm 2022 tại Bệnh viện Trường Đại học Y - Dược Huế. Các bước nghiên cứu được tiến hành như sau:

**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

nhạy 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, Đại học 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: Thực hiện PCR để khuếch đại vùng chứa các đa hình CYP2C19\*2 và \*3 (bước PCR)**

- Cặp mồi đặc hiệu vùng gene CYP2C19 có chứa đa hình \*2 (thuộc exon 5) có trình tự như sau:

\*2F (mồi xuôi):

5'-AATTACAACCAGAGCTTGGC-3'

\*2R (mồi ngược):

5'-TATCACTTTCATAAAAGCAAG-3' [9]

- Cặp mồi đặc hiệu vùng gene CYP2C19 có chứa đa hình \*3 (thuộc exon 4) có trình tự như sau:

\*3F (mồi xuôi):

5'-AAATTGTTTCCAATCATTTAGCT-3'

\*3R (mồi ngược):

5'-ACTTCAGGGCTTGGTCAATA-3' [9]

- Thực hiện các phản ứng PCR khuếch đại lần lượt các vùng gene chứa đa hình \*2 và \*3. Thể tích phản ứng là 25 µl bao gồm: 12,5 µl GoTaq Green Master Mix (2'), 1 µl (10 pmol/ µl) mỗi mồi (mồi xuôi và

mồi ngược tương ứng từng đa hình), 1 µl (100 ng/ µl) DNA khuôn mẫu, 9,5 µl nước cất vô trùng đã khử nuclease.

- Phản ứng PCR được thực hiện trên máy Applied Biosystems 2720 Thermal Cycler (Thermo Fisher Scientific), với điều kiện nhiệt độ: Biến tính ban đầu 95°C - 8 phút, sau đó thực hiện 35 chu kỳ mỗi chu kỳ gồm biến tính ở 95°C trong 1 phút, gắn mồi ở 50°C (đa hình \*2) hoặc 52°C (đa hình \*3) trong 1 phút, kéo dài ở 72°C trong 1 phút; và tiếp tục kéo dài ở 72°C trong 10 phút nữa.

- Sản phẩm PCR được kiểm tra bằng cách điện di trên gel agarose 2%, có bổ sung thuốc nhuộm DNA RedView. Kích thước sản phẩm dự kiến đối với các vùng chứa đa hình CYP2C19\*2 và \*3 được khuếch đại lần lượt là 168 bp và 271 bp.

**Bước 4: Thực hiện cắt sản phẩm PCR bằng enzyme cắt hạn chế (bước RFLP)**

- Enzyme MspI và BamHI lần lượt được sử dụng cho các phản ứng cắt để xác định đa hình CYP2C19\*2 và \*3.

- Thành phần phản ứng: 15 µl sản phẩm PCR, 3 µl đệm (10X), 3 µl enzyme cắt hạn chế (10 U/µl), 9 µl nước cất vô trùng đã khử nuclease.

- Ủ nhiệt độ 37°C trong bể ổn định nhiệt, thời gian 24 giờ.

- Sản phẩm cắt được điện di trên gel agarose 2%, hiệu điện thế 80 V, thời gian 1 giờ 30 phút.

- Kiểu gene tương ứng các đa hình được xác định theo Bảng 1:

**Bảng 1.** Đặc điểm của sản phẩm sau khi cắt bằng enzyme cắt hạn chế tương ứng các kiểu gene theo đa hình CYP2C19\*2 và CYP2C19\*3

Kiểu gene	Số băng	Kích thước (bp)
<i>Theo đa hình CYP2C19*2</i>		
GG	2	117, 51
GA	3	168, 117, 51
AA	1	168
<i>Theo đa hình CYP2C19*3</i>		
GG	2	175, 96
GA	3	271, 175, 96
AA	1	271

**Bước 5: Kiểm chứng kết quả bằng giải trình tự Sanger**

- Sản phẩm PCR tương ứng với các kiểu gene khác nhau được chọn ngẫu nhiên để giải trình tự tại công ty 1<sup>st</sup> BASE (Malaysia) trên máy ABI PRISM 3730xl Genetic Analyzer. Nhận kết quả dưới dạng file .ab1 và .seq.

- Sử dụng phần mềm BioEdit để đọc trình tự nucleotide từ các file trên.

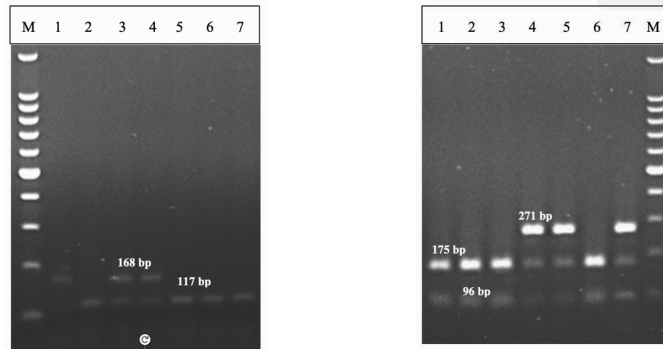
- Sử dụng công cụ BLAST của NCBI để đối chiếu trình tự nucleotide với các trình tự chuẩn trên GenBank để phân tích kết quả.

- Đối chiếu kết quả xác định đa hình \*2 và \*3 của gene CYP2C19 bằng PCR-RFLP với kết quả giải trình tự.

### 3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

#### 3.1. Thiết lập quy trình xác định các đa hình CYP2C19\*2 và CYP2C19\*3 bằng kỹ thuật PCR-RFLP

##### 3.1.1. Kết quả xác định đa hình CYP2C19\*2 và CYP2C19\*3 bằng kỹ thuật PCR-RFLP



Hình 1. Hình ảnh điện di sản phẩm cắt đoạn DNA chứa CYP2C19\*2 (trái) và \*3 (phải)

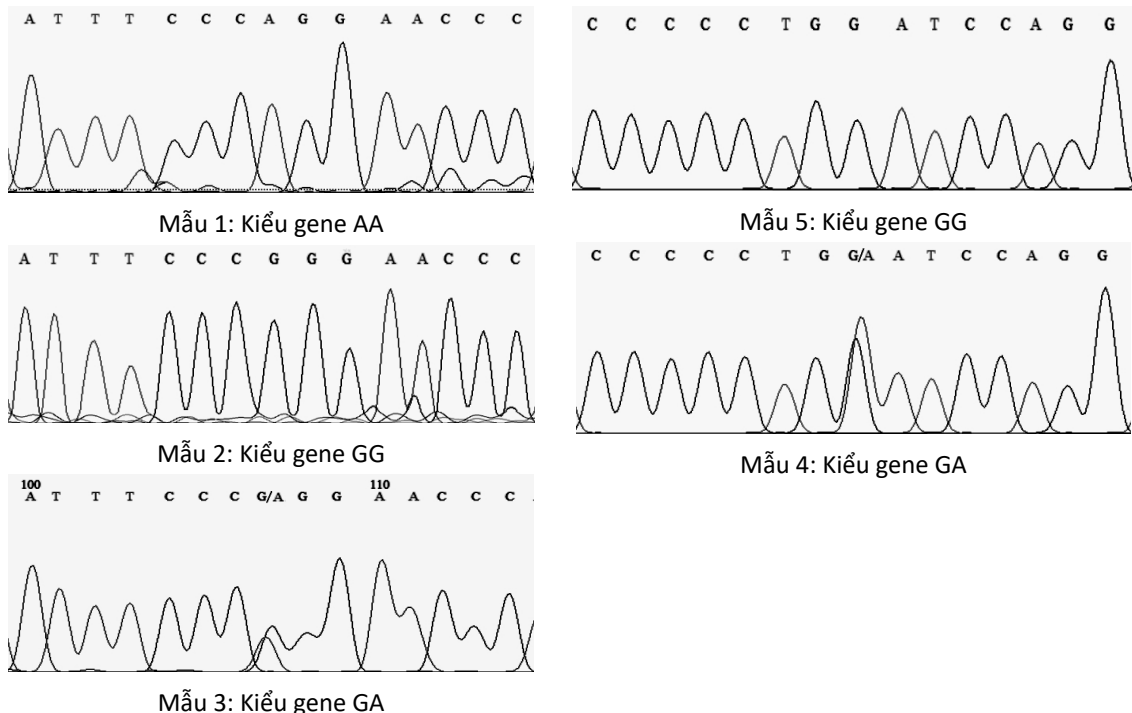
Hình 1. Hình ảnh điện di sản phẩm cắt đoạn DNA chứa CYP2C19\*2 (trái) và \*3 (phải)

Nhận xét: Các sản phẩm phản ứng cắt bằng enzyme cắt hạn chế xuất hiện rõ ràng, cho phép xác định kiểu gene tương ứng các đa hình CYP2C19\*2 và \*3 như trình bày ở bảng 2.

Bảng 2. Kết quả xác định kiểu gene các mẫu đại diện ở hình 1

Đa hình	Mẫu 1	Mẫu 2	Mẫu 3	Mẫu 4	Mẫu 5	Mẫu 6	Mẫu 7
*2	AA	GG	GA	GA	GG	GG	GG
*3	GG	GG	GG	GA	GA	GG	GA
Kiểu gene phối hợp	*2/*2	*1/*1	*1/*2	*2/*3	*1/*3	*1/*1	*1/*3

##### 3.1.2. Kiểm chứng kết quả xác định đa hình CYP2C19\*2 và CYP2C19\*3 bằng giải trình tự Sanger



Hình 2. Kết quả giải trình tự CYP2C19\*2 (bên trái) và CYP2C19\*3 (bên phải)

Nhận xét: Có sự phù hợp hoàn toàn giữa kết quả xác định đa hình CYP2C19\*2 và \*3 của hai kỹ thuật PCR-RFLP và giải trình tự Sanger.

### 3.2. Tỷ lệ các kiểu gene CYP2C19 theo đa hình \*2 và \*3 ở bệnh nhân bệnh lý dạ dày - tá tràng

**Bảng 3.** Đặc điểm nhóm bệnh nhân nghiên cứu

Đặc điểm	Số bệnh nhân	Tỷ lệ (%)
<b>Giới tính</b>		
Nam	52	46,4
Nữ	60	53,6
<b>Tuổi</b>		
≤ 40 tuổi	59	52,7
> 40 tuổi	53	47,3
<b>Bệnh lý</b>		
Loét dạ dày	12	10,7
Loét tá tràng	30	26,8
Viêm dạ dày mạn	70	62,5
<b>Tổng</b>	<b>112</b>	<b>100,0</b>

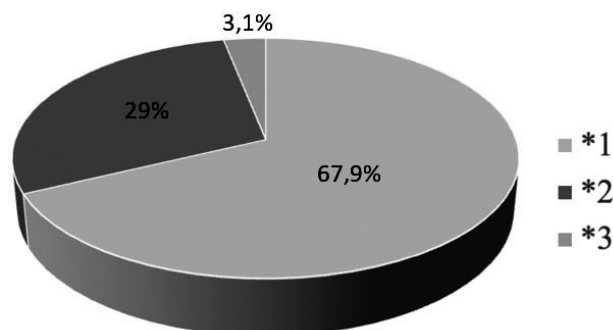
Nhận xét: Tỷ lệ nam nữ tương đương nhau trong nhóm bệnh lý dạ dày tá tràng. Không có sự chênh lệch đáng kể về nhóm tuổi trên và dưới 40 tuổi. Phần lớn các bệnh nhân trong nhóm nghiên cứu là viêm dạ dày mạn.

**Bảng 4.** Phân bố kiểu gene theo vị trí đa hình CYP2C19\*2 và \*3

Kiểu gene	Số lượng	Tỷ lệ (%)	p-HWE
<b>CYP2C19*2</b>			
GG	55	49,1	0,512
GA	49	43,8	
AA	8	7,1	
<b>CYP2C19*3</b>			
GG	105	93,8	0,732
GA	7	6,2	
AA	0	0	
<b>Tổng</b>	<b>112</b>	<b>100,0</b>	

Chú thích: HWE là Hardy-Weinberg.

Nhận xét: Các kiểu gene theo đa hình CYP2C19\*2 và \*3 đều đạt cân bằng Hardy-Weinberg.



**Hình 3.** Biểu đồ phân bố các allele được nghiên cứu của gene CYP2C19

Nhận xét: Allele \*1 (allele hoang dại) chiếm tỷ lệ cao nhất 67,9%, tiếp đến là \*2 chiếm 29%, trong khi đó \*3 chiếm tỷ lệ rất thấp, chỉ 3,1%.

**Bảng 5.** Phân bố kiểu gene *CYP2C19* và mức độ chuyển hoá thuốc theo kiểu gene

Mức độ chuyển hoá thuốc	Kiểu gene phối hợp	Số lượng	Tỷ lệ (%)
Chuyển hoá bình thường	*1/*1	51	45,5
Chuyển hoá trung gian	*1/*2	46	41,1
	*1/*3	4	3,6
Chuyển hoá kém	*2/*2	8	7,1
	*2/*3	3	2,7
	*3/*3	0	0
<b>Tổng</b>		<b>112</b>	<b>100,0</b>

Nhận xét: Nhóm chuyển hóa bình thường và chuyển hoá trung gian chiếm tỷ lệ cao, lần lượt là 45,5% và 44,7%; chuyển hóa kém chỉ chiếm 9,8%.

**Bảng 6.** Phân bố các nhóm chuyển hoá thuốc theo tuổi, giới tính và bệnh lý dạ dày - tá tràng

Đặc điểm	Chuyển hóa bình thường, n (%)	Chuyển hóa trung gian, n (%)	Chuyển hóa kém n (%)	p
Tuổi				
£ 40 tuổi	24 (47,1)	28 (56,0)	7 (63,6)	0,497
> 40 tuổi	27 (52,9)	22 (44,0)	4 (36,4)	
Giới tính				
Nam	22 (43,1)	26 (52,0)	4 (36,4)	0,525
Nữ	29 (56,9)	24 (48,0)	7 (63,6)	
Bệnh lý				
Viêm dạ dày	36 (70,6)	28 (56,0)	6 (54,5)	0,270
Loét dạ dày - tá tràng	15 (29,4)	22 (44,0)	5 (45,5)	
Tổng	51	50	11	

Nhận xét: Không có sự khác biệt về các đặc điểm tuổi, giới tính và chẩn đoán bệnh lý dạ dày – tá tràng giữa các nhóm mức độ chuyển hoá thuốc ( $p > 0,05$ ).

#### 4. BÀN LUẬN

##### 4.1. Thiết lập quy trình xác định các đa hình *CYP2C19*\*2 và *CYP2C19*\*3 bằng kỹ thuật PCR-RFLP

Dược lý di truyền là một trong những lĩnh vực cốt lõi của y học chính xác. Việc xác định kiểu gene dược lý hứa hẹn hỗ trợ các nhà lâm sàng trong chọn lựa phác đồ điều trị theo hướng cá nhân hoá, nhằm nâng cao hiệu quả điều trị và giảm thiểu tác dụng không mong muốn. Ngày nay, Cục Quản lý Thực phẩm và Dược phẩm Hoa Kỳ (FDA: Food and Drug Administration) đã công bố các thông tin về dược lý di truyền liên quan đến hơn 190 loại thuốc [8]. Khuyến cáo xét nghiệm đa hình gene *CYP2C19* là một trong những khuyến cáo đầu tiên về xét nghiệm dược lý di truyền trên lâm sàng, liên quan đến hơn 15 loại thuốc khác nhau, trong đó có 4 loại PPIs gồm omeprazole, esomeprazole, lansoprazole, và pantoprazole [10], [11].

Gene *CYP2C19* có nhiều biến thể allele, trong đó ba biến thể cấp 1 gồm \*2, \*3 và \*17 là những biến thể đã có bằng chứng lâm sàng rõ ràng. Tuy nhiên, theo một số khảo sát trong nước, biến thể \*17 chiếm tỷ lệ rất thấp ở quần thể người Việt Nam, chỉ khoảng 2% [6], [7]. Vì vậy, trong nghiên cứu này, chúng tôi chỉ thiết lập quy trình xác định các đa hình *CYP2C19*\*2 và \*3 bằng kỹ thuật PCR-RFLP, một kỹ thuật sinh học phân tử có khả năng xác định chính xác các đa hình đơn nucleotide liên quan vị trí nhận biết của enzyme cắt hạn chế, giá thành hợp lý. Kết quả ở Hình 1 cho thấy các sản phẩm của phản ứng cắt xuất hiện rõ ràng, phù hợp với kích thước dự kiến cho xét nghiệm xác định đa hình *CYP2C19*\*2 và \*3. Các mẫu ngẫu nhiên đại diện cho các kiểu gene \*1/\*1, \*1/\*2, \*1/\*3, \*2/\*2, \*2/\*3 được giải trình tự Sanger để kiểm chứng. Trong mẫu của chúng tôi không có người mang kiểu gene đồng hợp tử \*3/\*3. Đây là



kiểu gene rất hiếm gặp ở hầu hết các quần thể. Các nghiên cứu ở Việt Nam của Nguyễn Thị Thuý Mậu và Nguyễn Hải Hà đều không tìm thấy kiểu gene \*3/\*3 [12], [7]. Hiện nay, chỉ có rất ít công bố ở Việt Nam có phát hiện người mang kiểu gene \*3/\*3, mỗi nghiên cứu chỉ phát hiện 1 người [6], [13], [14]. Hiện nay, giải trình tự theo phương pháp Sanger được xem là tiêu chuẩn vàng trong xác định các đa hình/đột biến do thay thế một cặp nucleotide. Kết quả kiểm chứng ở Hình 2 cho thấy các mẫu đại diện của chúng tôi có kết quả xác định đa hình theo phương pháp PCR-RFLP phù hợp với giải trình tự Sanger, chứng tỏ quy trình xác định đa hình *CYP2C19*\*2 và \*3 bằng kỹ thuật PCR-RFLP của chúng tôi có tính chính xác cao. Ngoài ra, việc thực hiện xác định các đa hình này trên mẫu DNA tách chiết từ mô niêm mạc dạ dày lấy qua nội soi đã được sử dụng trong chẩn đoán nhiễm *H. pylori* bằng xét nghiệm nhanh urease đã mang lại lợi ích cho bệnh nhân là không cần phải lấy thêm mẫu máu hoặc mẫu mô khác.

#### 4.2. Tỷ lệ các kiểu gene *CYP2C19* theo đa hình \*2 và \*3 ở bệnh nhân bệnh lý dạ dày - tá tràng

Trong nghiên cứu này chúng tôi khảo sát đa hình *CYP2C19*\*2 và \*3 trên 112 bệnh nhân bệnh lý dạ dày tá tràng, bao gồm 12 bệnh nhân loét dạ dày, 30 bệnh nhân loét tá tràng và 70 bệnh nhân viêm dạ dày. Không có sự chênh lệch về phân bố giới tính và các nhóm tuổi (Bảng 3).

Các sự phân bố các kiểu gene tương ứng tại mỗi vị trí đa hình *CYP2C19*\*2 và \*3 đều đạt cân bằng Hardy-Weinberg, chứng tỏ có sự ổn định của các kiểu gene và allele trong quần thể (Bảng 4). Biểu đồ phân bố các allele được nghiên cứu của gene *CYP2C19* ở Hình 3 cho thấy allele hoang dại \*1 chiếm tỷ lệ cao nhất (67,9%), tiếp đến là allele \*2 chiếm 29%, allele \*3 chiếm tỷ lệ khá thấp, chỉ 3,1%. Sự phân bố tần suất các allele này phù hợp với nhiều nghiên cứu trong khu vực như nghiên cứu của Trần Ngọc Lưu Phương trên 251 bệnh nhân viêm loét dạ dày tá tràng tại Việt Nam có tần suất các allele \*1, \*2 và \*3 lần lượt là 65,3%, 28,7% và 6% ( $p > 0,05$ ) [15]; nghiên cứu của Yang tại Malaysia ( $n = 142$ ) với tần suất các allele lần lượt là 64,4%, 28,9% và 6,7% ( $p > 0,05$ ) [16]. Tuy nhiên, vẫn có một số nghiên cứu có sự khác biệt nhỏ, như nghiên cứu của Sugimono trên 265 người Nhật Bản có tần suất allele \*3 cao hơn nhiều so với kết quả của chúng tôi, 12,8% so với 3,1% ( $p < 0,05$ ) [5].

Sự phân bố các kiểu gene phối hợp tại các vị trí đa hình \*2 và \*3 được trình bày ở Bảng 5 cho thấy

chiếm tỷ lệ cao nhất là kiểu gene đồng hợp tử allele hoang dại \*1/\*1 (45,5%), tương ứng nhóm chuyển hoá bình thường. Tiếp đến là kiểu gene \*1/\*2 (41,1%) tương ứng chuyển hoá trung gian. Các kiểu gene còn lại chiếm tỷ lệ thấp. Sự phân bố các kiểu gene trong nghiên cứu của chúng tôi phù hợp với các nghiên cứu trong nước như các nghiên cứu của Huỳnh Võ Hoài Thanh, Trần Hoà [17], [14].

Kết quả ở Bảng 5 cho thấy các nhóm chuyển hóa trung gian và chuyển hoá kém chiếm tỷ lệ lần lượt là 44,7% và 9,8%. Phân bố của các nhóm mức độ chuyển hoá thuốc không có sự khác biệt khi khảo sát theo tuổi, giới, cũng như bệnh lý dạ dày - tá tràng (Bảng 6). Vấn đề cần quan tâm là ảnh hưởng của các kiểu gene đến chuyển hoá thuốc, từ đó có thể tác động đến hiệu quả điều trị và tác dụng không mong muốn. Nhiều nghiên cứu cho thấy kiểu gene *CYP2C19* tương ứng với chuyển hóa thấp và trung gian có thể làm chậm quá trình đào thải thuốc PPIs (được chuyển hoá bởi *CYP2C19*) dẫn đến tăng hiệu quả điều trị viêm loét dạ dày - tá tràng, viêm thực quản, cũng như tiết trừ *H. pylori*, so với kiểu gene tạo hoạt tính protein chuyển hóa bình thường [18], [19]. Đồng thời, những người có kiểu gene này sẽ bị phơi nhiễm với nồng độ thuốc cao hơn, vì vậy nếu điều trị kéo dài (trên 12 tuần) và đã có hiệu quả trên lâm sàng thì nên xem xét giảm liều 50% [1]. Nghiên cứu của chúng tôi còn có hạn chế là chưa khảo sát được allele \*17. Tuy nhiên, như đã phân tích ở trên, allele \*17 chiếm tỷ lệ rất thấp trong quần thể người Việt Nam. Trong những nghiên cứu tiếp theo, chúng tôi sẽ khảo sát thêm đa hình \*17.

## 5. KẾT LUẬN

Qua nghiên cứu trên 112 bệnh nhân bệnh lý dạ dày - tá tràng, chúng tôi có một số kết luận như sau:

**5.1.** Đã thiết lập được quy trình xác định các đa hình *CYP2C19*\*2 và \*3 bằng kỹ thuật PCR-RFLP, có thể ứng dụng để xác định các đa hình ở bệnh nhân bệnh lý dạ dày - tá tràng làm cơ sở điều trị theo hướng cá nhân hoá.

**5.2.** Tần suất các allele \*1, \*2 và \*3 của gene *CYP2C19* lần lượt là 67,9%, 29% và 3,1%. Tỷ lệ các nhóm chuyển hóa bình thường, chuyển hoá trung gian và chuyển hoá kém lần lượt là 45,5%; 44,7% và 9,8%.

**Lời cảm ơn:** Đề tài này được hỗ trợ kinh phí từ Quỹ nghiên cứu khoa học của Đại học Huế, mã số đề tài DHH 2021 - 04 - 149.

## TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Lima JJ, Thomas CD, Barbarino J, Desta Z, Van Driest SL, El Rouby N, et al. Clinical Pharmacogenetics Implementation Consortium (CPIC) Guideline for CYP2C19 and Proton Pump Inhibitor Dosing. *Clin Pharmacol Ther.* 2021 Jun 1;109(6):1417–23.
2. Malfertheiner P, Megraud F, Rokkas T, Gisbert JP, Liou JM, Schulz C, et al. Management of *Helicobacter pylori* infection: the Maastricht VI/Florence consensus report. *Gut.* 2022 Sep 1;71(9):1724–62.
3. Kuo CH, Lu CY, Shih HY, Liu CJ, Wu MC, Hu HM, et al. CYP2C19 polymorphism influences *Helicobacter pylori* eradication. Vol. 20, *World Journal of Gastroenterology*. WJG Press; 2014. p. 16029–36.
4. Gaedigk A, Boone EC, Scherer SE, Lee S been, Numanagic I, Sahinalp C, et al. CYP2C8, CYP2C9, and CYP2C19 Characterization Using Next-Generation Sequencing and Haplotype Analysis: A GeT-RM Collaborative Project. *Journal of Molecular Diagnostics.* 2022 Apr 1;24(4):337–50.
5. Sugimoto K, Uno T, Yamazaki H, Tateishi T. Limited frequency of the CYP2C19\*17 allele and its minor role in a Japanese population. *Br J Clin Pharmacol.* 2008 Mar;65(3):437–9.
6. Phạm Thị Hồng Nhung, Vũ Ngọc Trung, Nguyễn Thị Thuý Mậu, Đỗ Thị Lệ Hằng, Nguyễn Thanh Thuý, Vũ Thị Thơm, et al. Xây dựng quy trình phân tích đa hình gen CYP2C19 ở bệnh nhân hội chứng động mạch vành cấp. *Tạp chí Y học Việt Nam.* 2016;449(1):172–6.
7. Nguyễn Hải Hà, Lê Thị Bích Thảo, Nguyễn Thị Thanh Hoa, Lê Thị Thu Hiền. Nghiên cứu đa hình kiểu gen CYP2C19\*2, \*3 và \*17 trên người Việt Nam mắc bệnh động mạch vành. *Tạp chí Công nghệ Sinh học.* 2020;18(1):41–8.
8. El Rouby N, Lima JJ, Johnson JA. Proton pump inhibitors: from CYP2C19 pharmacogenetics to precision medicine. Vol. 14, *Expert Opinion on Drug Metabolism and Toxicology*. Taylor and Francis Ltd; 2018. p. 447–60.
9. Ibrahim Khalil S, Omer Elkhawad A. A study of CYP2C19\*2, \*3 and \*7 in different Sudanese ethnic groups and their response to omeprazole based triple therapy in. *Biomedical Research.* 2018;29(13):2743–65.
10. Swen JJ, Nijenhuis M, De Boer A, Grandia L, Maitland-Van Der Zee AH, Mulder H, Rongen GAPJM, et al. Pharmacogenetics: From bench to byte an update of guidelines. *Clin Pharmacol Ther.* 2011 May;89(5):662–73.
11. Pratt VM, Del Tredici AL, Hachad H, Ji Y, Kalman L V., Scott SA, et al. Recommendations for Clinical CYP2C19 Genotyping Allele Selection: A Report of the Association for Molecular Pathology. Vol. 20, *Journal of Molecular Diagnostics*. Elsevier B.V.; 2018. p. 269–76.
12. Nguyễn Thị Thuý Mậu, Vũ Ngọc Trung, Nguyễn Hữu Hiếu, Nguyễn Thanh Thuý, Vũ Thị Thơm, Đinh Đoàn Long, et al. Bước đầu đánh giá mối liên quan giữa đa hình gen CYP2C19 và độ ngưng tập tiểu cầu trên bệnh nhân nhồi máu cơ tim cấp tại một số bệnh viện ở Hà Nội. *Tạp chí Khoa học Đại học Quốc gia Hà Nội.* 2017 Dec 4;33(2):68–74.
13. Vũ Ngọc Trung. Nghiên cứu tần suất đa hình gene CYP2C19 và mối liên quan với kết quả điều trị chống ngưng tập tiểu cầu ở người bệnh hội chứng mạch vành cấp. *Luận án Tiến sĩ Y học. Đại học Y Hà Nội;* 2021.
14. Trần Hoà. Nghiên cứu mối liên quan giữa kiểu gene giảm chức năng CYP2C19\*2, \*3 và tiên lượng ở bệnh nhân được can thiệp đặt stent động mạch vành có điều trị clopidogrel. *Luận án Tiến sĩ Y học. Đại học Y Dược thành phố Hồ Chí Minh;* 2020.
15. Trần Ngọc Lưu Phương, Phạm Hùng Vân. Tính đa hình của Enzym CYP2C19 trên bệnh nhân Việt Nam bị viêm loét dạ dày tá tràng do nhiễm *H. pylori* đã được điều trị. *Tạp chí Khoa học Tiêu hoá Việt Nam.* 2014;9(37):2391–9.
16. Yang YS, Wong LP, Lee TC, Mustafa AM, Mohamed Z, Lang CC. Genetic polymorphism of cytochrome P450 2C19 in healthy Malaysian subjects. *Br J Clin Pharmacol.* 2004 Sep;58(3):332–5.
17. Huỳnh Võ Hoài Thanh, Nguyễn Thị Diễm, Phạm Thị Ngọc Nga. Khảo sát đặc điểm đa hình gen CYP2C19 ở bệnh nhân nhồi máu cơ tim cấp tại bệnh viện đa khoa Hoàn Mỹ Cửu Long năm 2021-2022. *Tạp chí Y Dược học Cần Thơ.* 2022;48:70–7.
18. Furuta T, Ohashi K, Kamata T, Takashima M, Kosuge K, Kawasaki T, et al. Effect of Genetic Differences in Omeprazole Metabolism on Cure Rates for *Helicobacter pylori* Infection and Peptic Ulcer. *Ann Intern Med.* 1998;129(12):1027–30.
19. Lin YA, Wang H, Gu ZJ, Wang WJ, Zeng XY, Du YL, et al. Effect of CYP2C19 gene polymorphisms on proton pump inhibitor, amoxicillin, and levofloxacin triple therapy for eradication of *Helicobacter Pylori*. *Medical Science Monitor.* 2017 Jun 3;23:2701–7.