

NGHIÊN CỨU XÁC ĐỊNH KIỂU GENE *cagA* VÀ *vacA* CỦA *HELICOBACTER PYLORI* Ở BỆNH NHÂN UNG THƯ DẠ DÀY

Lê Quý Hưng¹, Hà Thị Minh Thi²,

(1) Bệnh viện Đa khoa Khu vực Triệu Hải

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

Tóm tắt

Đặt vấn đề và mục tiêu: *H. pylori* là tác nhân số một gây ung thư dạ dày (UTDD). Vai trò của gene *cagA* và các kiểu gene *vacA* trong ung thư dạ dày là đang còn tranh cãi. Đề tài nhằm các mục tiêu sau: (1) Xác định tỷ lệ nhiễm *H. pylori*, gene *cagA*, các kiểu gene *vacA* ở bệnh nhân UTDD. (2) Đánh giá mối liên quan giữa gene *cagA*, các kiểu gene *vacA* với một số đặc điểm tổn thương nội soi và phân loại mô bệnh học ở bệnh nhân UTDD. **Đối tượng và phương pháp:** Tiến hành nghiên cứu trên 58 bệnh nhân được chẩn đoán xác định UTDD và 116 bệnh nhân không UTDD (nhóm chứng). Tình trạng nhiễm *H. pylori* được xác định bằng kỹ thuật PCR. Gene *cagA* và các kiểu gene *vacA* được xác định bằng kỹ thuật Multiplex PCR. **Kết quả:** Tỷ lệ nhiễm *H. pylori* ở nhóm bệnh nhân UTDD là 55,2%. Tỷ lệ gene *cagA* và gene *vacA* ở nhóm UTDD có nhiễm *H. pylori* lần lượt là 78,1% và 100%. Sự phân bố các kiểu gene *vacA* ở nhóm UTDD là: *vacA* s1/m1 chiếm 34,4%; *vacA* s1/m² là 50,0% và *vacA* s1/m1m2 là 15,6%. Chúng *H. pylori* mang gene *cagA* thì có nguy cơ gây UTDD cao hơn chúng không mang gene *cagA*, với OR = 4,5 và khoảng tin cậy 95% = 1,6-12,2. Chúng *H. pylori* có kiểu gene *vacA* s1/m1 kết hợp với gene *cagA* (+) thì có nguy cơ gây UTDD cao hơn nhiều so với chúng kiểu gene *vacA* s1/m1 nhưng *cagA* (-), với OR = 7,1 và khoảng tin cậy 95% = 1,4 - 36,1. Tỷ lệ có gene *cagA* của *H. pylori* ở phân loại Borrmann III và IV là 100% cao hơn có ý nghĩa thống kê so với tỷ lệ có gene *cagA* của *H. pylori* ở phân loại Borrmann I và II (46,2%). Tỷ lệ gene *cagA* của *H. pylori* ở UTBM tuyến ống (100%) cao hơn có ý nghĩa so với tỷ lệ gene *cagA* của *H. pylori* ở phân loại UTBM tế bào nhẵn (44,4%, $p = 0,002$) và UTBM tuyến chế nhầy (50%, $p = 0,024$). **Kết luận:** Gene *cagA* và kiểu gene *vacA* s1/m1 đều là những yếu tố nguy cơ gây UTDD. Có mối liên quan giữa gene *cagA* của *Helicobacter pylori* với các nhóm phân loại Borrmann và các nhóm phân loại mô bệnh học theo WHO trong ung thư dạ dày.

Từ khóa: *Gene cagA và kiểu gene vacA; Helicobacter pylori; ung thư dạ dày.*

Abstract

DETERMINATION OF *HELICOBACTER PYLORI cagA* GENE AND *vacA* GENOTYPES IN PATIENTS WITH GASTRIC CANCER

Le Quy Hung¹, Ha Thi Minh Thi²

(1) Trieu Hai General Hospital

(2) Dept. of Human Genetics, Hue University of Medicine and Pharmacy

Background: *H. pylori* is the first cause of gastric cancer (GC). However, the role of *cagA* gene and *vacA* gene in GC is still controversial. This study is aimed at determining the rates of *H. pylori* infection, *cagA* gene, *vacA* genotypes in patients with GC; and evaluating the relationship between *cagA* gene, *vacA* genotypes and endoscopic and histopathological features of gastric cancer. **Patients and methods:** Fifty eight GC patients

- Địa chỉ liên hệ: Lê Quý Hưng, email: haminhthi@gmail.com

- Ngày nhận bài: 12/3/2013 * Ngày đồng ý đăng: 20/4/2013 * Ngày xuất bản: 30/4/2013

DOI: 10.34071/jmp.2013.2.16

and one hundred and sixteen non-GC patients (controls) were enrolled. Infection of *H. pylori* was determined by PCR. *cagA* gene and *vacA* genotypes were determined by Multiplex PCR. **Results:** The rate of *H. pylori* was found in 55.2% in GC group. The rate of *cagA* gene and *vacA* gene in GC patients *H. pylori* positive were found in 78.1% and 100%, respectively. *vacA* genotypes s1/m1, s1/m2 and s1/m1m2 were found in 34.4%; 50% and 15.6%, respectively. The risk of GC of *cagA* positive group was higher than *cagA* negative group, with OR = 4.5; 95%CI = 1.6-12.2. The risk of GC of *vacA* s1/m1, *cagA* positive group was higher than *vacA* s1/m1, *cagA* negative group, OR = 7.1; 95%CI = 1.4-36. A statistically significant difference of rate of *cagA* positive was found between Borrmann III/IV group (100%) and Borrmann I/II group (46.2%). A statistically significant difference of rate of *cagA* positive was found between the tubular adenocarcinoma group (100%) and signet-ring cell carcinoma (44.4%, $p = 0.002$), and mucinous adenocarcinoma (50%, $p = 0.024$). **Conclusion:** Gene *cagA* and *vacA* s1/m1 genotype were both risk factors in GC. A significant differences of rate of *cagA* positive were found between Borrmann groups, and between groups of WHO histopathological classification.

Keywords: *cagA* gene and *vacA* genotype, *Helicobacter pylori*, gastric cancer

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Ung thư dạ dày hiện vẫn còn là một trong những bệnh lý gây tử vong hàng đầu ở người. Việt Nam là một trong những nước có tỷ lệ ung thư dạ dày khá cao, đứng đầu trong các loại ung thư đường tiêu hóa, và thường khi phát hiện thì đã ở giai đoạn muộn nên việc điều trị gặp nhiều khó khăn [5]. Vì vậy việc phát hiện sớm các yếu tố nguy cơ nhằm phòng ngừa và làm giảm tỷ lệ ung thư dạ dày là rất cần thiết.

Năm 1994 Tổ chức Y tế Thế giới thông báo *Helicobacter pylori* là tác nhân số một gây ung thư dạ dày [9]. Tuy nhiên không phải khi nào nhiễm vi khuẩn *Helicobacter pylori* đều dẫn đến ung thư dạ dày, với sự phát triển của các kỹ thuật sinh học phân tử, người ta đã xác định được các gene liên quan đến độc lực của vi khuẩn này, trong đó quan trọng nhất là gene *cagA* (cytotoxin-associated gene A) và gene *vacA* (vacuolating cytotoxin gene A). Nhiều nghiên cứu đã cho thấy nhiễm chủng *Helicobacter pylori* mang gene *cagA* dương tính thì có nguy cơ cao gây ung thư dạ dày. Gene *vacA* còn có nhiều biến dị di truyền khác nhau bao gồm các kiểu gene s (s1 và s2) và các kiểu gene m (m1 và m2), trong đó kiểu gene s1m1 được xem là có độc lực cao nhất [15]. Tuy nhiên, vai trò của các gene này trong ung thư dạ dày vẫn đang còn tranh cãi. Vì vậy, chúng tôi tiến hành đề tài này nhằm các mục tiêu:

1. Xác định tỷ lệ nhiễm *Helicobacter pylori*, gene *cagA* và các kiểu gene *vacA* ở bệnh nhân ung thư dạ dày.

2. Đánh giá mối liên quan giữa việc nhiễm *Helicobacter pylori* và các kiểu gene *cagA*, *vacA* với một số đặc điểm tổn thương nội soi và phân loại mô bệnh học ở bệnh nhân ung thư dạ dày.

2. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng nghiên cứu

Đối tượng nghiên cứu: gồm 58 bệnh nhân UTDD (nhóm bệnh) và 116 bệnh nhân không UTDD (nhóm chứng), được chọn trong số những người đã đến nội soi dạ dày và được chỉ định sinh thiết niêm mạc dạ dày để chẩn đoán xác định tại Bệnh viện trường Đại học Y Dược Huế và Bệnh viện Trung ương Huế, từ tháng 8 năm 2011 đến tháng 8 năm 2012.

Loại trừ những trường hợp sau:

- Đã điều trị thuốc diệt *H. pylori* trong vòng 4 tuần trước khi nội soi dạ dày.
- DNA chiết tách từ mảnh sinh thiết không đảm bảo chất lượng.
- UTDD đã điều trị tia xạ, hóa chất, UTDD tái phát.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

Nghiên cứu được thiết kế theo phương pháp mô tả cắt ngang có đối chứng.

Các bước nghiên cứu được tiến hành như sau:

- Lấy mẫu sinh thiết dạ dày tại phòng nội soi Bệnh viện Trường Đại học Y Dược Huế và Bệnh viện Trung ương Huế, mỗi bệnh nhân lấy 2 mảnh ở thân vị và 2 mảnh ở hang vị để chẩn đoán mô bệnh học và lưu trữ trong dung dịch TE.

- Ấch chiết DNA từ mẫu mô niêm mạc dạ dày đã lưu trữ trong TE.

- Thực hiện kỹ thuật PCR với cặp mồi đặc hiệu gene 16S rRNA của *H. pylori* để chẩn đoán nhiễm vi khuẩn này. Trình tự mồi được thiết kế bởi Bickley [6]

Hp-F: 5'-AAGCTTTTAGGGGTGTTAGGGGTTT-3'

Hp-R: 5'-AAGCTTACTTTCTAACACTAACGC-3'

Thành phần phản ứng gồm 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 luân nhiệt: 95°C trong 5 phút; tiếp theo là 30 chu kỳ, mỗi chu kỳ gồm: giai đoạn biến tính 94°C trong 1 phút, giai đoạn gắn mồi 52°C trong 1 phút, giai đoạn kéo dài mồi 72°C trong 1 phút; cuối cùng thêm 72°C trong 10 phút. Thực hiện trên máy Applied Biosystems 2720. Sản phẩm PCR được điện di trên gel agarose 0,8%, điện thế 80 V, 30 phút. Kích thước sản phẩm là 109 bp.

Những trường hợp có nhiễm *H. pylori*, tiếp tục thực hiện kỹ thuật Multiplex PCR với các cặp mồi nhằm xác định gene *cagA* và các kiểu gene *vacA* với quy trình của Chattopadhyay năm 2004 [8]. Các trình tự mồi như sau:

Trình tự mồi	Kích thước sản phẩm	Đọc kết quả
Cag-F: 5'-GTTGATAACGCTGTCGCTTC-3' Cag-R: 5'-GGGTTGTATGATATTTCCATAA-3'	351 bp	Có gene <i>cagA</i>
Vacs-F: 5'-ATGGAAATACAACAAACACAC-3' Vacs-R: 5'-CTGCTTGAATGCGCCAAAC-3'	259 bp 286 bp	Có gene <i>vacA</i> s1 Có gene <i>vacA</i> s2
Vacm-F: 5'-CAATCTGTCCAATCAAGCGAG-3' Vacm-R: 5'-GCGTCAAATAATTCCAAGG-3'	567 bp 642 bp	Có gene <i>vacA</i> m1 Có gene <i>vacA</i> m2

Thành phần phản ứng gồm 12,5 µl GoTaq Green MasterMix (Promega), 10 pmol mỗi mồi Vacs-F và Vacs-R, 20 pmol mỗi mồi còn lại, 100 ng DNA khuôn mẫu và nước cất cho đủ 25 µl. Điều kiện luân nhiệt như phản ứng trên. Sản phẩm PCR được điện di trên gel agarose 2%, điện thế 80 V, trong 2 giờ.

Tiến hành tại Bộ môn Di truyền Y học Trường Đại học Y Dược Huế.

Xử lý số liệu bằng phần mềm Medcalc.

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

3.1. Nhiễm *H. pylori* và các gene *cagA*, *vacA* của vi khuẩn ở bệnh nhân UTDD

Bảng 3.1. Tỷ lệ *H. pylori* và nguy cơ UTDD do nhiễm *H. pylori*

<i>H. pylori</i>	UTDD (n = 58)		Nhóm chứng (n = 116)		OR
	Số lượng	Tỷ lệ %	Số lượng	Tỷ lệ %	
(+)	32	55,2	52	44,8	OR = 1,5 95%CI = 0,8-2,8
(-)	26	44,8	64	55,2	
Tổng	58	100	116	100	

Nhận xét: Tỷ lệ nhiễm *H. pylori* ở nhóm UTDD được nghiên cứu là 55,2%. Sự khác biệt về tỷ lệ này so với nhóm chứng là không có ý nghĩa thống kê.

Bảng 3.2. Tỷ lệ gene *cagA* và nguy cơ UTDD do nhiễm *H. pylori* có *cagA* (+)

Kiểu gene	UTDD		Nhóm chứng		OR
	Số lượng	Tỷ lệ %	Số lượng	Tỷ lệ %	
<i>cagA</i> (+)	25	78,1	23	44,2	OR = 4,5 95%CI = 1,6 - 12,2
<i>cagA</i> (-)	7	21,9	29	55,8	
Tổng	32	100	52	100	

Nhận xét: Ở nhóm UTDD có nhiễm *H. pylori* thì tỷ lệ vi khuẩn này mang gene *cagA* là 78,1%, cao hơn có ý nghĩa thống kê so với nhóm chứng.

Người nhiễm *H. pylori* có chứa gene *cagA* thì nguy cơ UTDD gấp 4,5 lần so với người nhiễm vi khuẩn này nhưng không mang gene *cagA*, với khoảng tin cậy 95% = 1,6 - 12,2.

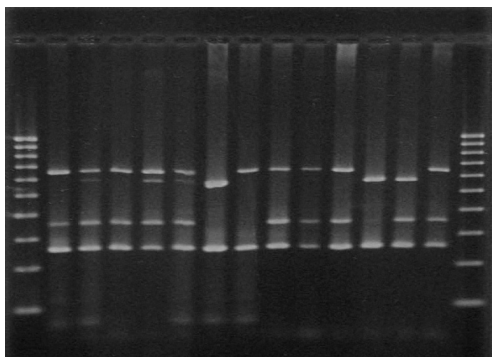
Bảng 3.3. Tỷ lệ các kiểu gene s/m của gene *vacA*

Kiểu gene	UTDD		p
	Số lượng	Tỷ lệ %	
<i>vacA</i> s1/m1	11	34,4	p = 0,014
<i>vacA</i> s1/m2	16	50,0	
<i>vacA</i> s1/m1m2	5	15,6	
Tổng	32	100	

Chú thích: Không gặp trường hợp nào mang kiểu gene *vacA* s2.

Nhận xét: Sự khác biệt về tỷ lệ giữa các kiểu gene *vacA* s1/m1, *vacA* s1/m2 và *vacA* s1/m1m2 là có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$). Đặc biệt tỷ lệ nhiễm hai chủng *H. pylori* khác nhau vừa *vacA* s1/m1 vừa *vacA* s1/m2 là 15,6%.

M 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 M



Cột 12: *cagA* (+), *vacA* s1/m1
Cột 1, 3, 8, 9, 10, 13: *cagA* (+), *vacA* s1/m2
Cột 2, 4, 5: *cagA* (+), *vacA* s1/m1m2
Cột 6, 11: *cagA* (-), *vacA* s1/m1
Cột 7: *cagA* (-), *vacA* s1/m2
M: thang chuẩn 100 bp

Hình 3.1. Hình ảnh điện di các sản phẩm phản ứng Multiplex PCR xác định gene *cagA* và các kiểu gene *vacA***Bảng 3.4.** Nguy cơ UTDD do nhiễm *H. pylori* theo các kiểu gene *vacA* và *cagA*

Gene <i>vacA</i>	Gene <i>cagA</i>	UTDD	Nhóm chứng	OR
<i>vacA</i> s1/m1	<i>cagA</i> (+)	8	6	p = 0,018; OR = 7,1 95%CI = 1,4-36,1
	<i>cagA</i> (-)	3	16	
<i>vacA</i> s1/m2	<i>cagA</i> (+)	12	14	p = 0,139; OR = 2,8 95%CI = 0,7-10,8
	<i>cagA</i> (-)	4	13	

Nhận xét: Người nhiễm *H. pylori* có kiểu gene *vacA* s1/m1 và kết hợp *cagA* dương tính thì có nguy cơ UTDD gấp 7,1 lần so với nhiễm *H. pylori* có kiểu gene *vacA* s1/m1 nhưng *cagA* âm tính, khoảng tin cậy 95% = 1,4 - 36,1. Trong khi đó thì sự khác biệt về nguy cơ UTDD ở người nhiễm *H. pylori* có *vacA* s1/m2, *cagA* dương tính và người nhiễm *H. pylori* có *vacA* s1/m2, *cagA* âm tính không có ý nghĩa thống kê.

3.2. Mối liên quan giữa gene *cagA*, các kiểu gene *vacA* với tổn thương nội soi và đặc điểm mô bệnh học

Bảng 3.5. Mối liên quan giữa gene *cagA* của *H. pylori* với phân loại Borrmann

Phân loại Borrmann	Số lượng <i>cagA</i> (+)	Tỷ lệ %	p
Týp I và II (n = 13)	6	46,2	0,001
Týp III và IV (n = 19)	19	100	
Tổng (n = 32)	25	78,1	

Nhận xét: Tỷ lệ có gene *cagA* của *H. pylori* ở phân loại Borrmann III và IV là 100% cao hơn có ý nghĩa thống kê so với tỷ lệ có gene *cagA* của *H. pylori* ở phân loại Borrmann I và II là 46,2%.

Bảng 3.6. Mối liên quan giữa gene *cagA* của *H. pylori* với phân loại WHO

Mô bệnh học WHO (1997)	<i>cagA</i> (+)	Tỷ lệ %	p
1 - UTBM tuyến ống (n = 19)	19	100	p1-2 = 0,002 p1-3 = 0,024
2 - UTBM tế bào nhẫn (n = 9)	4	44,4	
3 - UTBM tuyến chế nhầy (n = 4)	2	50	
Tổng (n = 32)	25	78,1	

Nhận xét: Tỷ lệ gene *cagA* (+) của *H. pylori* ở UTBM tuyến ống (100%) cao hơn có ý nghĩa so với tỷ lệ gene *cagA* (+) của *H. pylori* ở phân loại UTBM tế bào nhẫn và UTBM tuyến chế nhầy.

* Ngoài ra kết quả nghiên cứu của chúng tôi không tìm thấy mối liên quan giữa các kiểu gene *vacA* với các đặc điểm thương tổn nội soi cũng như mô bệnh học.

4. BÀN LUẬN

4.1. Nhiễm *H. pylori* và các gene *cagA*, *vacA* của vi khuẩn ở bệnh nhân UTDD

Tỷ lệ nhiễm H. pylori

Trong nghiên cứu của chúng tôi tỷ lệ nhiễm *H. pylori* ở nhóm UTDD là 55,2%. Kết quả này không khác biệt so với nghiên cứu của Trần Thị Phương Thảo tại Thừa Thiên Huế năm 2005 trên 30 bệnh nhân UTDD với tỷ lệ nhiễm *H. pylori* là 50% [3] cũng như nghiên cứu tại Mexico của López-Vidal trên 16 bệnh nhân UTDD với tỷ lệ nhiễm *H. pylori* là 38% [11] và nghiên cứu của Lin trên 167 bệnh nhân UTDD với tỷ lệ nhiễm *H. pylori* là 39,5% [10].

Trong khi đó, kết quả của chúng tôi thấp hơn trong nghiên cứu của Lâm Thị Vinh năm 1999 trên 48 bệnh nhân UTDD với tỷ lệ nhiễm *H. pylori* là 66,7% [5] và nghiên cứu của Park năm 2010, tại Hàn Quốc, trên 155 bệnh nhân UTDD, với tỷ lệ nhiễm *H. pylori* lên đến 88,4% [14]. Tuy nhiên, các tác giả trên đều sử dụng test nhanh (CLO-test) để chẩn đoán nhiễm *H. pylori*, những test này thường có độ đặc hiệu không cao so với PCR.

Tỷ lệ H. pylori mang gene cagA

Trong nghiên cứu của chúng tôi, nhóm UTDD và nhóm không UTDD lần lượt có 32 người và 52 người nhiễm *H. pylori*. Kết quả ở bảng 3.2 cho thấy tỷ lệ có gene *cagA* (+) ở các *H. pylori* trong nhóm UTDD là 78,1%, cao hơn ở nhóm chứng (44,2%) có ý nghĩa thống kê. Tỷ lệ mang gene *cagA* ở các *H. pylori* trong nhóm UTDD trong nghiên cứu của chúng tôi không khác biệt so với nhiều nghiên cứu khác như của Trần Ngọc Ánh là 80,9% (n = 42) [1]; Tiwari: 93% (n = 42) [16], López-Vidal: 72% (n = 16) [11]. Như vậy, hầu hết các nghiên cứu đều cho thấy tỷ lệ mang gene *cagA* ở *H. pylori* trên bệnh nhân UTDD là rất cao. Điều này phù hợp với các nhận định cho rằng protein CagA là một độc tố có vai trò quan trọng trong cơ chế bệnh sinh UTDD [15].

Nguy cơ gây UTDD của H. pylori mang gene cagA

Kết quả ở bảng 3.2 còn cho thấy *H. pylori* có gene *cagA* (+) là một yếu tố nguy cơ gây UTDD với OR = 4,5 (khoảng tin cậy 95% = 1,6 - 12,2). Như vậy, người nhiễm chủng *H. pylori* mang gene *cagA* thì nguy cơ UTDD cao gấp 4,5 lần so với

người nhiễm chủng *H. pylori* không mang gene *cagA*. Ghi nhận của chúng tôi cũng phù hợp với nghiên cứu của Trần Ngọc Ánh và của Nomura, nguy cơ do nhiễm *H. pylori* có mang gene *cagA* trong UTDD ở các nghiên cứu của các tác giả này đều cao với OR lần lượt là 4,7 [1] và 4,1 [13].

Tỷ lệ các kiểu gene *vacA* của *H. pylori*

Kết quả ở bảng 3.3 cho thấy gene *vacA* của *H. pylori* có mặt 100% ở tất cả bệnh nhân UTDD nhiễm *H. pylori*. Tác giả Trần Thiện Trung nghiên cứu trên 66 bệnh nhân UTDD cũng thấy tỷ lệ gene *vacA* của *H. pylori* là 100% [4]. Trong nghiên cứu của Trần Ngọc Ánh (n = 42) thì tỷ lệ gene *vacA* của *H. pylori* trong bệnh nhân UTDD cũng rất cao, đến 97,6% [1].

Chúng tôi đã sử dụng kỹ thuật Multiplex PCR để xác định các kiểu gene s/m của gene *vacA* ở *H. pylori*. Kết quả cho thấy không có trường hợp *H. pylori vacA* (+) nào mang kiểu gene s2, ở cả nhóm UTDD và nhóm chứng. Nghiên cứu của Trần Thiện Trung cũng không tìm thấy trường hợp mang kiểu gene s2 nào [4]. Ngoài ra, nghiên cứu năm 2012 của Lê Viết Nho thực hiện trên 94 bệnh nhân loét dạ dày tá tràng cũng cho thấy tỷ lệ *H. pylori vacA* (+) mang kiểu gene *vacA* s2 là 0% [2]. Điều này cho thấy kiểu gene *vacA* s2 rất hiếm gặp trên các chủng *H. pylori* ở nước ta.

Các nghiên cứu *in vitro* cho thấy chủng *H. pylori* mang kiểu gene *vacA* s1/m1 thì tiết nhiều độc tố hơn so với các chủng s1/m2 và s2/m2. Nghiên cứu *in vivo* cũng chứng minh được chủng m1 thì gây thương tổn niêm mạc dạ dày nhiều hơn chủng m2. Chủng s1a thì có liên quan đến thâm nhiễm tế bào lympho và đa nhân trung tính vào niêm mạc dạ dày nhiều hơn chủng s1b và s2. Như vậy, chủng *H. pylori* mang kiểu gene *vacA* là s1/m1 (đặc biệt là s1a/m1) có độc tính cao hơn các chủng mang các kiểu gene còn lại [15].

Kết quả nghiên cứu của chúng tôi ở bảng 3.3 cho thấy sự phân bố các kiểu gene *vacA* trên *H. pylori* như sau: s1/m1 chiếm 34,4%; s1/m2 chiếm 50% và s1/m1m2 là 15,6%, với sự khác biệt có ý nghĩa thống kê, p = 0,014. Trong khi đó, nghiên cứu của Trần Thiện Trung cho thấy s1/m1 chiếm

tỷ lệ cao hơn s1/m2 (63,6% so với 36,4%) [4]. Nghiên cứu của Miehlke tại Đức cũng có tỷ lệ s1/m1 khá cao, đến 70,6% (n = 34) [12]. Đặc biệt, một nghiên cứu ở Nhật Bản của Shimoyama trên 40 bệnh nhân UTDD có nhiễm *H. pylori* thì tất cả đều có gene *vacA* với kiểu gene s1/m1 [15].

Như vậy, nhìn chung tỷ lệ kiểu gene s1/m1 trong nghiên cứu của chúng tôi là khá thấp hơn so với các tác giả khác. Tuy nhiên, đối với nguy cơ gây UTDD của *H. pylori* thì không chỉ liên quan đến gene *vacA* mà còn có sự phối hợp với nhiều gene khác, đặc biệt là gene *cagA*.

Nguy cơ gây ung thư dạ dày do *H. pylori* có mang gene *cagA* kết hợp các kiểu gene *vacA*

Kết quả ở bảng 3.4 cho thấy, khi nhiễm *H. pylori* có kiểu gene *vacA* s1/m1 kết hợp với *cagA* (+) thì nguy cơ ung thư dạ dày sẽ tăng lên 7,1 lần (khoảng tin cậy 95% = 1,4 - 36,1) so với nhiễm *H. pylori* có *vacA* s1/m1 nhưng *cagA* (-). Trong khi đó sự khác biệt về nguy cơ gây ung thư dạ dày do chủng *H. pylori* có kiểu gene *vacA* s1/m2 kết hợp với *cagA* (+) so với chủng *H. pylori* có kiểu gene *vacA* s1/m2 kết hợp với *cagA* (-) là không có ý nghĩa thống kê.

Tác giả Trần Thiện Trung cũng có nhận định chủng *H. pylori* có mang gene *cagA* và gene *vacA* s1/m1 thì có nguy cơ cao liên quan đến bệnh UTDD với OR = 2,118 (khoảng tin cậy 95% = 1,094-4,1) so với chủng *H. pylori* có *cagA* (+) và *vacA* s1/m2 [4].

Như vậy, nghiên cứu của chúng tôi cho thấy việc kết hợp gene *cagA* và *vacA* s1/m1 của *H. pylori* là một yếu tố nguy cơ gây UTDD rất cao, điều này phù hợp với các nghiên cứu về tính chất sinh ung thư của các độc tố *cagA* và *vacA* tương ứng.

4.2. Mối liên quan giữa gene *cagA*, các kiểu gene *vacA* với tổn thương nội soi và đặc điểm mô bệnh học

Mối liên quan giữa gene *cagA* với các phân loại Borrmann

Trong nghiên cứu của chúng tôi cho thấy có mối liên quan giữa tỷ lệ gene *cagA* với các nhóm phân loại Borrmann ở bệnh nhân UTDD có nhiễm *H. pylori*. Tỷ lệ gene *cagA* của *H. pylori* ở phân loại

Borrmann tít III và IV là 100% (n = 19) cao hơn có ý nghĩa thống kê so với tỷ lệ gene *cagA* ở phân loại I và II là 46,2% (n = 13). Nghiên cứu của Lin (2004) trên 58 bệnh nhân UTDD ruột có tỷ lệ kiểu gene *cagA* ở nhóm Borrmann tít III và IV là khá cao 82,6% (n = 23), trong khi đó ở nhóm Borrmann tít I và II thì chỉ là 71% (n = 25) [10]. Sự khác biệt về tỷ lệ *H. pylori* có mang gene *cagA* trong nhóm Borrmann tít III và IV giữa nghiên cứu của chúng tôi và của Lin là không có ý nghĩa thống kê.

Mối liên quan giữa gene *cagA* và kiểu gene *vacA* với phân loại mô bệnh học WHO

Kết quả nghiên cứu tại bảng 3.6 cho thấy 100% *H. pylori* nhiễm ở UTBM tuyến ống đều có gene *cagA*. Trong khi đó tỷ lệ gene *cagA* ở các UTBM tế bào nhẵn và tuyến chế nhầy thì khá thấp, lần lượt là 44,4% và 50,0%, sự khác biệt về tỷ lệ gene *cagA* giữa UTBM tuyến ống và UTBM tế bào nhẵn cũng như với UTBM tuyến chế nhầy là có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$).

Nghiên cứu của chúng tôi không tìm thấy mối liên quan giữa các kiểu gene *vacA* với tổn thương nội soi theo phân loại Borrmann và phân loại mô bệnh học theo WHO.

KẾT LUẬN

5.1. Tỷ lệ nhiễm *Helicobacter pylori* ở nhóm bệnh nhân ung thư dạ dày là 55,2%. Tỷ lệ gene *cagA* (+) ở *Helicobacter pylori* trong nhóm bệnh nhân ung thư dạ dày có nhiễm vi khuẩn này là 78,1%. Tất cả các chủng vi khuẩn *Helicobacter pylori* nhiễm ở nhóm ung thư dạ dày được nghiên cứu đều có gene *vacA*. Sự phân bố các kiểu gene *vacA* ở nhóm ung thư dạ dày là: *vacA* s1/m1 chiếm 34,4%; *vacA* s1/m2 là 50,0% và *vacA* s1/m1m2 là 15,6%.

Chủng *Helicobacter pylori* mang gene *cagA* thì có nguy cơ gây ung thư dạ dày cao hơn chủng không mang gene *cagA*, với OR = 4,5 và khoảng tin cậy 95% = 1,6-12,2. Chủng *Helicobacter pylori* có kiểu gene *vacA* s1/m1 kết hợp với gene *cagA* (+) thì có nguy cơ gây ung thư dạ dày rất cao hơn so với chủng kiểu gene *vacA* s1/m1 nhưng *cagA* (-), với OR = 7,1 và khoảng tin cậy 95% = 1,4 - 36,1.

5.2. Có mối liên quan giữa gene *cagA* của *Helicobacter pylori* với các nhóm phân loại Borrmann và các nhóm phân loại mô bệnh học theo WHO trong ung thư dạ dày.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Trần Ngọc Ánh (2006), *Nghiên cứu các tít của Helicobacter pylori và sự biểu lộ Protein P53 ở bệnh nhân ung thư dạ dày*, Luận án Tiến sĩ Y học, tr. 9-39.
2. Lê Viết Nho (2012), *Nghiên cứu lâm sàng, nội soi, mô bệnh học gene cagA, vacA và hiệu quả của phác đồ Esomeprazole-Amoxicillin-Clarithromycin ở bệnh nhân loét tá tràng Helicobacter pylori (+)*, Luận án Tiến sĩ Y học, tr. 50-81.
3. Trần Thị Phương Thảo, Trần Văn Huy (2005), “Nghiên cứu một số đặc điểm lâm sàng, nội soi và các dấu ấn phân tử của *Helicobacter pylori* trên bệnh nhân ung thư dạ dày tại Bệnh viện Trường Đại học Y khoa Huế”, *Tạp chí Y học thực hành*, 521, tr. 146-152.
4. 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 tít gen *cagA* và *vacA* của *Helicobacter pylori* trong ung thư dạ dày”, *Tạp chí Y học TP.HCM*, 14(4), tr. 25-34.
5. Lâm Thị Vinh (1999), *Nghiên cứu về đặc điểm lâm sàng và nội soi của bệnh nhân ung thư dạ dày tại Bệnh viện Trung ương Huế*, Luận văn Thạc sĩ Y học, tr. 52-55.
6. Bickley J., Owen J.R., Fraser G.A., Pounder E.R. (1993), “Evaluation of the polymerase chain reaction for detecting the urease C gene of *Helicobacter pylori* in gastric biopsy samples and dental plaque”, *J.Med.Microbiol*, 39, pp. 338-344.
7. Cavalcante M.Q.F., Silva C.I.S., Braga-Neto M.B., Fialho A.B.C., Fialho A.N., Barbosa A.M.C., Cruz F.W.S., Roch G.A., Queiroz D.M.M., Braga L.L.B.C. (2012), “*Helicobacter pylori vacA* and *cagA* genotypes in patients from Northeastern Brazil with upper gastrointestinal diseases”, *Mem Inst Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro*, 107(4), pp. 561-563.
8. Chattopadhyay S., Patra R., Ramamurthy T., Chowdhury A., Santra A., Dhali G.K., Bhattacharya S.K., Berg D.E., Nair G.B., Mukhopadhyay A.K. (2004), “Multiplex PCR Assay for Rapid Detection

- and Genotyping of *Helicobacter pylori* Directly from Biopsy Specimens”, *Journal of Clinical Microbiology*, 42(6), pp. 2821-2824.
9. Kamangar F., Dawsey M.S., Blaser J.M., Perez-Perez I.M., Pietinen P., Newschaffer J.C., Abnet C.C., Albanes D., Virtamo J., Taylor R.P. (2006), “Opposing Risk of Gastric Cardia and Noncardia Gastric Adenocarcinomas Associated With *Helicobacter pylori* Seropositivity”, *Journal of the National Cancer Institute*, 98(20), pp. 1445-1452.
 10. Lin J.H., Perng L.C., Lo C.W., Wu W.C., Tseng Y.G., Li F.A., Sun C.I., Ou H.Y. (2004), “*Helicobacter pylori* cagA, iceA and vacA genotypes in patients with gastric cancer in Taiwan”, *World J Gastroenterol*, 10(17), pp. 2493-2497.
 11. López-Vidal Y., Ponce-de-León S., Castillo-Rojas G., Barreto-Zúñiga R., Torre-Delgadillo A. (2008), “High Diversity of vacA and cagA *Helicobacter pylori* Genotypes in Patients with and without Gastric Cancer”, *Genetics in Gastric Cancer*, 3(12).
 12. Miehle S., Kirsch C., Agha-Amiri K., Guxnther T., Lehn N., Malfertheiner P., Stolte M., Ehninger G., and Bayerdorffer E. (2000), “The *Helicobacter pylori* vacA s1, m1 genotype and cagA is associated with gastric carcinoma in germany”, *Int.J.Cancer*, 87, pp. 322-327.
 13. Nomura Y.M.A., Lee J., Stemmermann N.G., Nomura Y.R., Perez-Perez I.G., Blaser J.M. (2002), “*Helicobacter pylori* CagA Seropositivity and Gastric Carcinoma Risk in a Japanese American Population”, *The Journal of Infectious Diseases*, 186, pp. 1138-1144.
 14. Park D-W., Lee K-J., Jin S-H., Lee J-H., Min J-S., Park S-H., Yu H-J., Bang H-Y., Lee J-I. (2010), “Phenotypic Differences of Gastric Cancer according to the *Helicobacter pylori* Infection in Korean Patients”, *J Gastric Cancer*, 10(4), pp. 168-174.
 15. Shimoyama T., Yoshimura T., Mikami T., Fukuda S., Crabtree J.E., Munakata A. (1998), “Evaluation of *Helicobacter pylori* vacA genotype in Japanese patients with gastric cancer”, *J Clin Pathol*, 51, pp. 299-301.
 16. Tiwari K.S., Manoj G., Kumar V.G., Sivaram G., Hassan I.S., Prabhaka Br., Devi U., Jalaluddin S., Kumar K., Ahmed S., Abid Z., Habeeb A.M., Khan A.A., Habibullah M.C. (2007), “Prognostic significance of genotyping *Helicobacter pylori* infection in patients in younger age groups with gastric cancer”, *BMJ*. 84, pp. 193-197.