

TỈ LỆ MANG VÀ BIỂU HIỆN KIỂU HÌNH CÁC GEN *cagA*, *vacA* CỦA VI KHUẨN *HELICOBACTER PYLORI* Ở BỆNH NHÂN VIÊM DẠ DÀY MẠN TÍNH

Đào Trường Giang^{1*}, Nguyễn Hùng Cường¹, Nguyễn Thái Sơn^{1,**}

TÓM TẮT

Mục tiêu: xác định tỷ lệ xuất hiện chủng *H.pylori* có biểu hiện độc tố *CagA*, *VacA* trong những trường hợp mang gen *cagA*, *vacA* ở bệnh nhân viêm dạ dày mạn. **Đối tượng và phương pháp:** nghiên cứu mô tả cắt ngang có phân tích trên bệnh nhân viêm dạ dày mạn có nhiễm *H.pylori* đến khám tại Bệnh viện quân y 103 và Bệnh viện quân y 105 từ 5/2018 – 12/2018, tiến hành soi dạ dày, sinh thiết niêm mạc làm xét nghiệm *H.pylori*, nuôi cấy mảnh sinh thiết, làm mPCR xác định gen *cagA*, *vacA*; lấy máu xét nghiệm huyết thanh học tìm kháng thể *CagA*, *VacA* bằng test *Helicoblot* 2.1. **Kết quả:** 150 bệnh nhân đưa vào nghiên cứu với độ tuổi trung bình là 50,5 tuổi, tỉ lệ nam/nữ là 1,68:1. Có 89,34% trường hợp mang gen *cagA* và 100% mang gen *vacA*, nhưng tỉ lệ có độc tố tương ứng chỉ là 66% và 83,33%. Tỉ lệ bệnh nhân có đồng thời cả 2 độc tố *CagA*, *VacA* là 60,67%, không có cả 2 độc tố là 10,66%, còn lại là có 1 trong 2 độc tố trên. Tỉ lệ sinh độc tố *CagA* ở những trường hợp nhiễm Hp mang gen *cagA* là 74,63%, và tỉ lệ sinh độc tố *VacA* ở những trường hợp nhiễm Hp mang gen *vacA* là 83,33%. **Kết luận:** phát hiện gen *cagA*, *vacA* là chưa đủ để xác định vi khuẩn *H.pylori* thuộc chủng gây bệnh, mà cần phải phát hiện kiểu hình độc tố *CagA*, *VacA*. Tỷ lệ bệnh nhân viêm dạ dày nhiễm *H.pylori* thực sự cần điều trị triệt trừ là 60,67%.

Từ khóa: *Helicobacter pylori*, gen *cagA*, *vacA*, viêm dạ dày mạn.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Vi khuẩn *Helicobacter pylori* (*H.pylori*) đã được chứng minh có khả năng gây bệnh viêm loét dạ dày tá tràng và được WHO xếp vào nhóm I gây ung thư dạ dày [1], [2]. Tuy nhiên không phải trường hợp nhiễm Hp nào cũng có biểu hiện bệnh lý lâm sàng. Do đó hiện nay với những trường hợp viêm dạ dày được xác định có nhiễm *H.pylori*, câu hỏi luôn được đặt ra cho cả người bệnh và bác sỹ điều trị là có cần thiết phải triệt trừ *H.pylori* hay không? Bởi 2 lý do: 1-Cơ sở thực tiễn: Tỷ lệ nhiễm trong dân số lớn, theo các nghiên cứu dịch tễ là

>50% dân số thế giới [3]. Ở Việt Nam trên đối tượng bệnh nhân viêm dạ dày tỉ lệ này là khoảng 60% [4]. Nếu triệt trừ tất cả các trường hợp nhiễm *H.pylori* thì đó là gánh nặng lớn về kinh tế mà hiện nay ngành y tế Việt Nam chưa đáp ứng được. 2-Cơ sở lý luận: *H.pylori* tồn tại dưới 3 quần thể: quần thể ôn hoà, quần thể độc gây bệnh và quần thể trung gian. Chỉ những chủng mang gen *cagA*, *vacA* và biểu hiện ra kiểu hình *CagA*, *VacA* được coi là chủng độc, gây tổn thương dẫn đến viêm teo dạ dày, dị sản, loạn sản và nguy cơ cao gây ung thư dạ dày [5]. Có những trường hợp mang gen nhưng không sinh kiểu hình, vì vậy xác định được mang gen là chưa đầy đủ khả năng gây bệnh của *H.pylori*.

Do đó, việc phát hiện những trường hợp viêm dạ dày có *H.pylori* thuộc chủng độc sẽ giúp điều trị chính xác, phòng ngừa ung thư dạ dày, tránh được điều trị triệt trừ *H.pylori* không cần thiết ở những trường hợp khác. Vì vậy chúng tôi thực hiện nghiên cứu này nhằm mục tiêu xác định tỷ lệ xuất hiện chủng

¹ Bệnh viện Quân y 103

* Tác giả thực hiện chính

Đào Trường Giang

** Tác giả chịu trách nhiệm khoa học

Nguyễn Thái Sơn

Email: ntson65@yahoo.com

Ngày nhận bài: 26/5/2019

Ngày phản biện: 27/5/2019

Ngày chấp nhận đăng: 15/6/2019

H.pylori có biểu hiện độc tố CagA, VacA trong những trường hợp mang gen *cagA*, *vacA* ở bệnh nhân viêm dạ dày mạn.

2. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng nghiên cứu

Gồm 150 bệnh nhân có triệu chứng bệnh lý dạ dày đến khám tại Bệnh viện Quân y 103 và Bệnh viện Quân y 105. Tất cả các bệnh nhân được nội soi tại Bệnh viện Quân y 103 (Học viện Quân y) và Bệnh viện quân y 105 (Tổng cục Hậu cần). Thời gian từ 5/2018 – 12/2018.

Tiêu chuẩn lựa chọn bệnh nhân:

- Trên 18 tuổi
- Có hình ảnh viêm dạ dày mạn trên nội soi dạ dày và mô bệnh học
- Được chẩn đoán xác định nhiễm *H.pylori*

Tiêu chuẩn loại trừ

Chúng tôi không đưa vào nghiên cứu các trường hợp sau

- Đã được điều trị diệt trừ *H.pylori* hoặc dùng giảm tiết trong vòng 4 tuần.
- Có loét dạ dày tá tràng, ung thư dạ dày, đã cắt một phần dạ dày.
- Có tiền sử truyền máu.
- Có bệnh gan nặng, bệnh suy giảm miễn dịch.
- Sử dụng NSAID, corticoid.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

- **Thiết kế nghiên cứu:** Nghiên cứu mô tả cắt ngang có phân tích. Thực hiện thu thập mẫu nghiên cứu như sau: Bệnh nhân được tiến hành khám lâm sàng, nội soi dạ dày đánh giá tổn thương qua hình ảnh, sinh thiết niêm mạc dạ dày làm mô bệnh học và tìm vi khuẩn HP.

- Phương pháp xác định một số chỉ tiêu:

+ Tiêu chuẩn viêm dạ dày mạn tính: chúng tôi thực hiện sinh thiết dạ dày ở hang vị, cố định trong formaldehyd 24h, làm mô bệnh học, nhuộm HE, chẩn đoán tình trạng viêm dạ dày mạn tính. Viêm dạ dày mạn tính được xác định trên mô bệnh học theo hệ thống Sydney dựa chủ yếu vào phân loại Whitehead và cộng sự [1].

+ Tiêu chuẩn xác định nhiễm *H.pylori*: bằng urease test nhanh, nhuộm Giemsa

mảnh sinh thiết và đọc kết quả trên kính hiển vi quang học.

+ Xét nghiệm gen *cagA*, *vacA*: dựa vào các mảnh sinh thiết dạ dày có vi khuẩn *H.pylori*, chúng tôi tiến hành nuôi cấy, phân lập, sử dụng m-PCR để xác định kiểu gen của vi khuẩn *H.pylori* tại labo Trung tâm Y dược học quân sự, Học viện quân y.

+ Xét nghiệm Helicoblot phát hiện độc tố CagA, VacA: sau khi soi dạ dày, bệnh nhân được lấy 5ml máu tĩnh mạch, tách lấy huyết thanh và bảo quản (-20°C), test sử dụng HELICO BLOT 2.1 theo quy trình kỹ thuật của nhà sản xuất, xác định kháng thể kháng độc tố CagA, VacA của *H.pylori* ở huyết thanh người hoặc plasma. Độ nhạy 96% và độ đặc hiệu 95%.

2.3. Phương pháp xử lý số liệu

Số liệu được tính theo số lượng bệnh nhân cho từng nhóm và tỷ lệ %. Phân tích và xử lý số liệu bằng phần mềm SPSS 20.0.

2.4. Đạo đức nghiên cứu

Các bệnh nhân được thông báo rõ về chương trình, mục tiêu nghiên cứu. Tất cả các bệnh nhân đều tình nguyện tham gia nghiên cứu, không chịu sự ép buộc nào. Trong quá trình nghiên cứu, các bệnh nhân có thể rời bỏ nghiên cứu bất cứ lúc nào với bất cứ lý do gì. Các thông tin cá nhân của đối tượng chỉ dùng cho nghiên cứu và được giữ kín.

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

3.1. Đặc điểm của nhóm nghiên cứu

Các bệnh nhân trong nghiên cứu này có độ tuổi trung bình là 50,5 tuổi, tỷ lệ nam/nữ là 1,68:1

3.2. Tỷ lệ mang gen *cagA*, *vacA*

Theo bảng 3.1. có 89.34 % các trường hợp nhiễm *H.pylori* mang gen *cagA*, tất cả các vi khuẩn *H.pylori* trong nhóm nghiên cứu đều có gen *vacA*.

3.3. Tỷ lệ phát hiện độc tố CagA, VacA

Bảng 3.2 cho thấy tỷ lệ mang độc tố CagA và VacA trên bệnh nhân viêm dạ dày có HP (+) lần lượt là 66 % và 83.33 %.

3.4. Phân loại typ Hp theo độc tố CagA, VacA và sự biểu hiện độc tố CagA, VacA

của các gen tương ứng

Từ bảng 3.3 cho thấy 60.67 % các trường hợp viêm dạ dày HP(+) mang đồng thời độc tố CagA, VacA. Tỷ lệ 10.66 % trường hợp viêm dạ dày nhiễm *H.pylori* nhưng không phát

hiện độc tố CagA, VacA.

Số liệu bảng 3.4 cho thấy tỉ lệ biểu hiện của CagA = $100/134 = 74,63\%$; tỉ lệ gen *cagA* không hoạt động = $34/134 = 25,37\%$

Bảng 3.1. Thực trạng vi khuẩn *H.pylori* mang gen *cagA*, *vacA*

Tình trạng gen	<i>cagA</i> (+)	<i>vacA</i> (+)
Số lượng (n=150)	134	150
Tỉ lệ (%)	89,34	100

Bảng 3.2. Thực trạng bệnh nhân có độc tố CagA, VacA

Tình trạng	CagA(+)	VacA(+)
Số lượng (n=150)	99	125
Tỉ lệ (%)	66	83,33

Bảng 3.3. Các typ của *H.pylori* theo biểu hiện độc tố CagA, VacA

Các typ Hp theo độc tố	CagA(+) VacA(+)	CagA(-) VacA(-)	CagA(+) VacA(-)	CagA(-) VacA(+)	Tổng số
Số lượng	91	16	9	34	150
Tỉ lệ %	60,67	10,66	6	22,67	100

Bảng 3.4. Tỉ lệ biểu hiện độc tố CagA trong các trường hợp mang gen *cagA*

Thực trạng gen	gen <i>cagA</i> +	Tỷ lệ %
CagA+	100	74,63
CagA-	34	25,37
Tổng	134	100

Bảng 3.5. Tỉ lệ biểu hiện độc tố VacA trong các trường hợp mang gen *vacA*

Thực trạng gen	gen <i>vacA</i> +	Tỷ lệ %
VacA+	125	83,33%
VacA-	25	16,67%
Tổng	150	100

Từ bảng 3.5, nhận thấy tỉ lệ biểu hiện của VacA là 125/150, tương ứng 83,33%, tỉ lệ gen *vacA* không hoạt động là 25/150, tương ứng 16,67%.

4. BÀN LUẬN

Với sự tiến bộ của sinh học phân tử, các nghiên cứu trước đây đã xác định được gen gây độc *cagA*, *vacA* của *H.pylori* và coi những chủng *H.pylori* có gen này là chủng độc [4], [6], [7]. Tuy nhiên có mang gen chưa chắc đã

có kiểu hình, tức là chưa chắc đã sinh ra độc tố, chưa khẳng định được khả năng gây bệnh của *H.pylori*.

Tỉ lệ mang độc tố CagA và VacA trên những bệnh nhân viêm dạ dày có HP (+) lần lượt là 66% và 83.33%. Trong đó có 60.67% các trường hợp mang đồng thời CagA, VacA; đây là tỉ lệ cao so với các công bố nghiên cứu về sự có mặt đồng thời 2 độc tố CagA, VacA ở người có triệu chứng dạ dày, tá tràng. Điều này đồng nghĩa với các chủng vi khuẩn

H.pylori phân lập ở Việt Nam có tỉ lệ mang độc lực cao so với các công bố quốc tế. Có 10,67% các trường hợp nhiễm *H.pylori* nhưng không phát hiện thấy độc tố CagA, VacA; đây là các trường hợp viêm dạ dày không phải do *H.pylori*. Nghiên cứu Ohnishi N và cs cũng khẳng định protein CagA là một loại oncoprotein [2], đóng vai trò quan trọng trong bệnh sinh của bệnh lý dạ dày tá tràng nhiễm *H.pylori*, đặc biệt trong những trường hợp ung thư dạ dày [2], [3], [4], [5], [8]. Tỷ lệ nhiễm *H.pylori* ở Nhật Bản, Hàn Quốc và Trung Quốc không cao hơn ở các quốc gia Nam Á, nhưng tỷ lệ mắc ung thư dạ dày cao hơn đáng kể. Điều này có thể được giải thích một phần bởi sự đa dạng của các chủng *H.pylori* giữa các quốc gia châu Á. Ở Đông Á, protein CagA là tính gây bệnh cao hơn so với Western CagA [9], [10], [11], [12]. Các chủng *H.pylori* có chứa nhiều typ EPIYA-C ở đầu 3' Western CagA có thể gây ung thư dạ dày nhiều hơn các chủng có ít typ EPIYA-C.

Tỷ lệ mang gen *cagA*, *vacA* biểu hiện ra kiểu hình (tức độc tố CagA, VacA) là rất cao như kết quả ở bảng 3.2, 3.4 và 3.5. Sự mang gen và kiểu hình CagA và VacA của vi khuẩn *H.pylori* liên quan đến khả năng gây bệnh và độc lực của vi khuẩn. Có 25,37 % các trường hợp mang gen *cagA* nhưng không biểu hiện độc tố CagA và 16,67% các trường hợp nhiễm vi khuẩn *H.pylori* có gen *vacA* nhưng không hoạt động, không biểu hiện độc tố VacA.

Kết quả này là minh chứng cho thấy nếu chỉ dựa vào phát hiện gen *cagA*, *vacA* ở những người nhiễm *H.pylori* thì chưa đủ khẳng định là chủng “độc” hay chủng gây bệnh. Các trường hợp bệnh nhân trong nghiên cứu này đều có triệu chứng về tiêu hóa, nội soi và giải phẫu bệnh có viêm dạ dày mạn, xét nghiệm có vi khuẩn *H.pylori* dương tính; tỷ lệ mang gen *cagA*, *vacA* gần như 100% (đồng thời 2 gen *cagA*, *vacA* là 89,34 %, còn lại là mang một gen *vacA*) nhưng tỷ lệ chủng “độc”, biểu hiện đồng thời hai độc tố CagA, VacA 60,67%. Các nghiên cứu trên thế giới cũng chỉ ra mối liên quan protein CagA với ung thư dạ dày [13], [14], [15].

Từ các phân tích trên cho thấy chỉ có 60,67% các trường hợp viêm dạ dày, xét nghiệm có vi khuẩn *H.pylori* dương tính là thực sự cần kê đơn kháng sinh điều trị. Có 10,67% trường hợp nhiễm *H.pylori* có triệu chứng ở dạ dày, tá tràng nhưng không phát hiện thấy độc tố CagA, VacA, những trường hợp được coi là viêm dạ dày do nguyên nhân khác không do vi khuẩn *H.pylori* và không nên dùng kháng sinh; các trường hợp còn lại cần tiếp tục theo dõi và theo nhiều nghiên cứu cho thấy cần hỗ trợ quần thể vi khuẩn “ôn hòa” bằng các probiotic để cơ thể tự cân bằng mà không nên dùng kháng sinh. Điều này giúp giảm sự lạm dụng kháng sinh dẫn đến nguy cơ kháng thuốc ở vi khuẩn và tiết kiệm cho xã hội, an toàn và tối ưu hóa quá trình điều trị cho người bệnh vì những chủng “ôn hòa” không gây bệnh cần được duy trì để ổn định sự cân bằng vi hệ trong cơ thể người.

5. KẾT LUẬN

- Có 89,34 % các trường hợp viêm dạ dày nhiễm *H.pylori* mang gen *cagA*, 100% mang gen *vacA*.
- Tỷ lệ sinh độc tố của gen *cagA*, *vacA* lần lượt là 74,63 % và 83,33%.
- Tỷ lệ mang độc tố CagA và VacA trên bệnh nhân viêm dạ dày có nhiễm *H.pylori* lần lượt là 66 % và 83,33 %.
- Có 25,37 % các trường hợp mang gen *cagA* nhưng không biểu hiện độc tố CagA và 16,67% các trường hợp nhiễm vi khuẩn *H.pylori* có gen *vacA* nhưng không hoạt động, không biểu hiện độc tố VacA.
- Có 60,67% các trường hợp nhiễm *H.pylori* biểu hiện đồng thời CagA, VacA.
- Có 10,67% trường hợp nhiễm *H.pylori* nhưng không phát hiện thấy độc tố CagA, VacA.

Lời cảm ơn

Chúng tôi xin chân thành cảm ơn Ban giám đốc: Bệnh viện Quân y 103 và Bệnh viện Quân y 105, lãnh đạo Khoa Tiêu hóa (Bệnh viện Quân y 103, 105), Labo Sinh y dược (Học viện Quân y) đã giúp đỡ chúng tôi thực hiện nghiên cứu này.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. **Dixon M, Genta R, Yardley J et al (1996)**, Classification and grading of gastritis. The updated Sydney System. International Workshop on the Histopathology of Gastritis, Houston 1994. The American journal of surgical pathology.20(10):1161 - 81.
2. **Ohnishi N, Yuasa H, Tanaka S et al (2008)**, Transgenic expression of *Helicobacter pylori* CagA induces gastrointestinal and hematopoietic neoplasms in mouse. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America. 105(3):1003-8.
3. **Odenbreit S, Puls J, Sedlmaier B (2000)**, Translocation of *Helicobacter pylori* CagA into gastric epithelial cells by type IV secretion. Science (New York, NY). 287(5457):1497-500.
4. **Parsonnet J, Friedman GD, Orentreich N et al (1997)**, Risk for gastric cancer in people with CagA positive or CagA negative *Helicobacter pylori* infection. Gut. 40(3):297-301.
5. **Parsonnet J, Friedman GD, Vandersteen DP et al (1991)**, *Helicobacter pylori* infection and the risk of gastric carcinoma. The New England journal of medicine. 325(16):1127-31.
6. **Cover TL, Glupczynski Y, Lage AP et al (1995)**, Serologic detection of infection with cagA+ *Helicobacter pylori* strains. J Clin Microbiol. 33(6):1496-500.
7. **Correa P (1992)**, Human gastric carcinogenesis: a multistep and multifactorial process--First American Cancer Society Award Lecture on Cancer Epidemiology and Prevention. Cancer research. 52(24):6735-40.
8. **Blaser MJ, Perez-Perez GI, Kleanthous H et al (1995)**, Infection with *Helicobacter pylori* strains possessing cagA is associated with an increased risk of developing adenocarcinoma of the stomach. Cancer research. 55(10):2111-5.
9. **Azuma T (2004)**, *Helicobacter pylori* CagA protein variation associated with gastric cancer in Asia. Journal of gastroenterology. 39(2):97-103.
10. **Higashi H, Tsutsumi R, Muto S et al (2002)**, SHP-2 tyrosine phosphatase as an intracellular target of *Helicobacter pylori* CagA protein. Science (New York, NY). 295(5555):683-6.
11. **Naito M, Yamazaki T, Tsutsumi R et al (2006)**, Influence of EPIYA-repeat polymorphism on the phosphorylation-dependent biological activity of *Helicobacter pylori* CagA. Gastroenterology. 130(4):1181-90.
12. **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. Journal of gastroenterology. 41(7):668-73.
13. **Shimoyama T, Fukuda S, Tanaka M et al (1998)**, CagA seropositivity associated with development of gastric cancer in a Japanese population. Journal of clinical pathology. 1998;51(3):225-8.
14. **Gwack J, Shin A, Kim CS et al (2006)**, CagA-producing *Helicobacter pylori* and increased risk of gastric cancer: a nested case-control study in Korea. British journal of cancer. 2006;95(5):639-41.
15. **Suzuki G, Cullings H, Fujiwara S et al (2007)**, Low-positive antibody titer against *Helicobacter pylori* cytotoxin-associated gene A (CagA) may predict future gastric cancer better than simple seropositivity against *H. pylori* CagA or against *H. pylori*. Cancer epidemiology, biomarkers & prevention : a publication of the American Association for Cancer Research, cosponsored by the American Society of Preventive Oncology. 2007;16(6):1224-8.

SUMMARY**EXPRESSION RATE FOR PHENOTYPE, GENOTYPE OF GEN *cagA*, *vacA* OF *HELICOBACTER PYLORI* IN PATIENT WITH CHRONIC GASTRITIS**

Dao Truong Giang, Nguyen Hung Cuong, Nguyen Thai Son

Military Hospital No 103

Objectives: To determine the occurrence rate of *H.pylori* strains expressing *CagA* and *VacA* toxin in cases of carrying *cagA* and *vacA* genes in patients with chronic gastritis. **Methods:** cross-sectional descriptive study was analyzed on patients with *H.pylori* -infected chronic gastritis at 103 Military Hospital and Military Hospital 105 from 5/2018 - 12/2018. **Results:** 150 patients enrolled in the study with an average age of 50.5 years, the male / female ratio was 1.68: 1. There were 89.34% of cases carrying *cagA* gene and 100% carrying *vacA* gene, but the rate of toxin was respectively only 66% and 83.33%. The proportion of patients with both *CagA* and *VacA* toxin is 60.67%, without both toxins is 10.66%, the rest is 1 in 2 toxins. The rate of *CagA* toxin in *Hp* infected cases carrying *cagA* gene is 74.63%, and *VacA* toxin birth rate in *H.pylori* infected cases carrying *vacA* gene is 83.33%. **Conclusion:** detection of *cagA* and *vacA* genes is not sufficient to identify *H.pylori* bacteria of pathogenic strains, but it is necessary to detect *CagA* and *VacA* phenotypes. The proportion of patients with *H.pylori*-infected gastritis who actually need eradication treatment is 60.67%.

Keywords: *Helicobacter pylori* (*H.pylori*), *cagA*, *vacA* gene; chronic gastritis.