

- stroke: a guideline for healthcare professionals from the American Heart Association/American Stroke Association", *stroke*, 49(3), pp. e46-e99.
3. **Thắng T.V.** (2012), "Nghiên cứu một số đặc điểm dịch tễ học đột quỵ não và hiệu quả bài tập phục hồi chức năng tại nhà ở Khánh Hòa", *Luận An Tiễn Sỹ Y Học*, Học Viện Quân Y, Hà Nội, pp.
 4. **Lindsberg P.J., Roine R.O.** (2004), "Hyperglycemia in acute stroke", *Stroke*, 35(2), pp. 363-364.
 5. **Weir C.J., Murray G.D., Dyker A.G. et al** (1997), "Is hyperglycaemia an independent predictor of poor outcome after acute stroke? Results of a long term follow up study", *Bmj*, 314(7090), pp. 1303.
 6. **Stefan N., Kantartzis K., Machann J. et al** (2008), "Identification and characterization of metabolically benign obesity in humans", *Archives of internal medicine*, 168(15), pp. 1609-1616.
 7. **Zhang Z., Yan J., Shi H.** (2013), "Hyperglycemia as a risk factor of ischemic stroke", *Journal of drug metabolism & toxicology*, 4(4), pp.

NGHIÊN CỨU VAI TRÒ CAGPAI CỦA HELICOBACTER PYLORI Ở BỆNH NHÂN UNG THƯ DẠ DÀY

Phạm Hồng Khánh¹, Dương Quang Huy¹, Nguyễn Quang Duật¹,
Trần Thị Huyền Trang², Vũ Văn Khiên²

TÓM TẮT

Đặt vấn đề: Tính nguyên vẹn của đảo bệnh sinh cag (cagPAI) của *H. pylori* được nhiều nghiên cứu cho thấy có liên quan với nguy cơ ung thư dạ dày (UTDD). Tuy nhiên, các kết quả nghiên cứu còn chưa thống nhất. **Mục tiêu:** Nghiên cứu mối liên quan giữa cagPAI của *H. pylori* với UTDD tại Việt Nam. **Đối tượng & phương pháp:** Nghiên cứu cắt ngang 179 bệnh nhân (89 bệnh nhân UTDD và 90 bệnh nhân viêm dạ dày mạn) nhiễm *H. pylori*. Chẩn đoán UTDD và viêm dạ dày mạn (VDDM) dựa trên mô bệnh học. Xác định sự hiện diện của cagPAI thông qua ba gen cagA, cagE, cagT bằng kỹ thuật Realtime-PCR. **Kết quả:** 100% các chủng *H. pylori* mang gen cagPAI dương tính, trong đó tỷ lệ *H. pylori* mang gen cagPAI nguyên vẹn là: 126/179 (70,4%). Nhóm UTDD có tỷ lệ cagPAI nguyên vẹn cao hơn so với nhóm VDDM (79,8% so với 61,1%), sự khác biệt có ý nghĩa thống kê (OR = 2,5; p < 0,01). Ở bệnh nhân UTDD: Không có sự khác biệt về tỷ lệ nhiễm *H. pylori* mang gen cagPAI theo nhóm tuổi, theo giới, đặc điểm đại thể trên nội soi (theo phân loại Borrmann) và trên mô bệnh học (theo phân loại Lauren). **Kết luận:** Tỷ lệ cagPAI của *H. pylori* nguyên vẹn ở bệnh nhân UTDD cao hơn so với tỷ lệ cagPAI ở bệnh nhân VDDM.

Từ khóa: cagPAI, *Helicobacter pylori*, ung thư dạ dày, viêm dạ dày mạn

SUMMARY

INVESTIGATE THE ROLE OF CAGPAI OF HELICOBACTER PYLORI IN GASTRIC CANCER PATIENTS

¹Bệnh viện Quân Y 103 - Học viện Quân Y

²Bệnh viện Trung ương Quân đội 108

Chịu trách nhiệm chính: Phạm Hồng Khánh

Email: phamhongkhanh82@gmail.com

Ngày nhận bài: 26.12.2022

Ngày phản biện khoa học: 14.2.2023

Ngày duyệt bài: 27.2.2023

Background: Many studies have found that the intactness of *H. pylori*'s cag pathogenicity island (cagPAI) is associated with gastric cancer (GC) risk, however the results are inconsistent. **Aim:** This research aims to investigate the relationship between *H. pylori*'s cagPAI intactness and the risk of GC in Vietnam. **Subjects and methods:** A cross-sectional study of 179 patients with *H. pylori* infection, in which 89 patients with gastric cancer and 90 patients with chronic gastritis (CG). Diagnosis of GC and CG is based on histopathology. CagPAI status was determined through the present or absent of three genes cagA, cagE, cagT by realtime-PCR technique. **Results:** 100% of *H. pylori* strains carried cagPAI gene, in which the rate of *H. pylori* carrying the intact cagPAI was 70.4%. The GC group had a higher rate of intact cagPAI than the CG group (79.8% vs 61.1%), the difference was statistically significant (OR = 2.5; p < 0.01). In gastric cancer patients: There was no difference in the prevalence of *H. pylori* carrying the cagPAI gene by age group, gender, macroscopic characteristics on endoscopy (according to Borrmann classification) and on histopathology (according to the Borrmann classification). Lauren's classification). **Conclusion:** The intact cagPAI of *H. pylori* is associated with the risk of gastric cancer in Vietnam.

Keywords: cagPAI, *Helicobacter pylori*, gastric cancer, chronic gastritis

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Đảo bệnh sinh cag (cytotoxin-associated gene pathogenicity island: cagPAI) được phát hiện năm 1996 [1], là một cụm gen với khoảng 30 gen khác nhau. Cụm gen cag gồm 2 đoạn: đoạn phải (cagI) chứa 16 gen và đoạn trái (cagII) chứa 14 gen. Cụm gen cagPAI chứa gen cagA (có nhiệm vụ mã hóa protein cagA, được cho là 1 protein sinh ung thư) và một số gen mã hóa khoảng 18 protein tham gia cấu tạo hệ thống tiết typ IV (HTTT4) [2]. Hệ thống tiết typ IV (HTTT4) có cấu trúc giống như bơm tiêm giúp

vận chuyển protein cagA, peptidoglycan và một số thành phần khác của vi khuẩn vào tế bào vật chủ, sẽ kích thích tế bào vật chủ giải phóng các cytokine viêm (chủ yếu Interleukin 8: IL-8). Dựa vào sự hiện diện của gen cagA, cụm gen cagPAI được phân thành 2 loại: cagPAI âm tính hoặc dương tính. Tuy nhiên, gen cagPAI thường bị mất đoạn và được chia thành 2 loại: cagPAI nguyên vẹn (có đầy đủ các gen) và cagPAI không nguyên vẹn hay một phần cagPAI (thiếu một số gen). Với cagPAI nguyên vẹn có ý nghĩa quan trọng đối với việc lắp ráp HTTT4, có đầy đủ chức năng để phân phối cagA và kích thích tiết IL-8 [3]. Nghiên cứu tìm hiểu tỷ lệ gen cagPAI nguyên vẹn và mối liên quan giữa cagPAI nguyên vẹn với tuổi, giới, hình ảnh đại thể và mô bệnh học ở bệnh nhân UTDD.

II. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng

- Nghiên cứu trên 179 bệnh nhân (UTDD và VDDM) đến khám tại Bệnh viện quân y 103 và Bệnh viện TWQĐ 108 từ 8/2019 đến 5/2022. Chẩn đoán UTDD và VDDM dựa mô bệnh học. Chẩn đoán nhiễm H. pylori khi cả 2 phương pháp urease nhanh và PCR trên mẫu sinh thiết dương tính.

- Tiêu chuẩn loại trừ: bệnh nhân có tiền sử phẫu thuật dạ dày tá tràng, dùng kháng sinh, thuốc có chứa bismuth, thuốc NSAIDs trong vòng 4 tuần, thuốc kháng thụ thể H2 hoặc thuốc ức chế bơm proton trong vòng 2 tuần trước nghiên cứu và bệnh nhân không đồng ý tham gia nghiên cứu.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

- Thiết kế nghiên cứu: nghiên cứu cắt ngang
 - Các bước tiến hành nghiên cứu: Nội soi dạ dày, tá tràng và sinh thiết theo mẫu thông nhất. Đánh giá hình ảnh đại thể UTDD trên nội soi theo phân loại Borrmann, hình ảnh mô bệnh học theo phân loại Lauren. Mảnh sinh thiết tại dạ dày sẽ được trong môi trường vận chuyển xét nghiệm PCR chẩn đoán H. pylori và tỷ lệ gen cagPAI được cố định trong môi trường vận chuyển, sau đó chuyển sang lưu giữ ở -80°C và xử lý tại khoa Sinh học phân tử - Bệnh viện TWQĐ 108.

- DNA của H. pylori từ mảnh sinh thiết được tách bằng kit Monarch® Genomic DNA Purification Kit (NEB, Mỹ), sau đó được tinh sạch và khuếch đại các đoạn gen bằng phản ứng PCR. Xác định cagPAI dương tính hay âm tính dựa sự có mặt hay không của gen cagA. Các trường hợp cagPAI dương tính được chia thành cagPAI nguyên vẹn khi cả 3 gen cagA, cagE, cagT đều

dương tính. cagPAI một phần khi thiếu ít nhất 1 trong 2 gen cagE và cagT.

- Tìm hiểu mối liên quan giữa cag PAI nguyên vẹn ở bệnh nhân UTDD với tuổi (mốc tuổi trung vị: 64), đặc điểm đại thể và mô bệnh học

2.3. Xử lý và phân tích số liệu: Số liệu được xử lý theo thuật toán thống kê y học bằng phần mềm STATA 14.2.

III. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

Trong thời gian nghiên cứu từ tháng 8/2019 đến 5/2022, chúng tôi thu thập được 179 bệnh nhân, trong đó 89 bệnh nhân UTDD và 90 bệnh nhân VDDM. Sau đây là kết quả nghiên cứu:

3.1. Tỷ lệ cagPAI ở bệnh nhân UTDD và VDDM

Bảng 1. Tỷ lệ và đặc tính của gen cagPAI

Gen cag PAI	n (%)
Tỷ lệ gen cagPAI dương tính	179/179 (100%)
Tỷ lệ gen cagPAI nguyên vẹn	126/179 (70,4%)
Tỷ lệ gen cagPAI không nguyên vẹn	53/179 (29,6%)

Nhận xét: H. pylori mang gen cagPAI dương tính: 179/179 (100%), trong đó cag PAI nguyên vẹn: 126/179 (70,4%) và cag PAI không nguyên vẹn 53/179 (29,6%)

Bảng 2. So sánh tỷ lệ cagPAI giữa UTDD và VDDM

Nhóm	Gen cagPAI		P
	cagPAI không nguyên vẹn n (%)	cagPAI nguyên vẹn n (%)	
VDDM (n = 90)	35/90 (38,9%)	55/90 (61,1%)	p < 0,01 OR= 2,5 (95%CI: 1,3 - 5,0)
UTDD (n = 89)	18/89 (20,2%)	71/89 (79,8%)	

Nhận xét: Tỷ lệ nhiễm H. pylori mang gen cagPAI nguyên vẹn nhóm UTDD: 71/89 (79,8%) cao hơn có ý nghĩa (O= 2,5, p < 0,01) so với nhóm tỷ lệ cagPAI ở bệnh nhân VDDM: 55/90 (61,1%).

3.2. Mối liên quan của cag PAI ở bệnh nhân UTDD

3.2.1. Liên quan theo tuổi ở bệnh nhân UTDD.

Trong 89 bệnh nhân UTDD, có 46 bệnh nhân có tuổi ≤ 64 và 43 bệnh nhân có tuổi > 64. Bảng 3 trình bày về tỷ lệ gen cag PAI nguyên vẹn và không nguyên vẹn theo nhóm tuổi ở bệnh nhân UTDD.

Bảng 3. Tỷ lệ gen cagPAI nguyên vẹn và không nguyên vẹn theo tuổi ở bệnh nhân UTDD

Nhóm tuổi	Gen cagPAI		p
	cagPAI không nguyên vẹn n (%)	cagPAI nguyên vẹn n (%)	
≤ 64 tuổi (n = 46)	8/46 (17,4)	38/46 (82,6)	> 0,05
> 64 tuổi (n = 43)	10/43 (23,3)	33/43 (76,7)	

Nhận xét: Không có sự khác biệt về tỷ lệ nhiễm H. pylori mang gen cagPAI nguyên vẹn và không nguyên vẹn theo nhóm tuổi ≤ 64 hoặc > 64 tuổi (p > 0,05)

3.2.2. Liên quan theo giới ở bệnh nhân UTDD

Bảng 4. Tỷ lệ gen cagPAI nguyên vẹn và không nguyên vẹn theo giới tính ở bệnh nhân UTDD

Nhóm tuổi	Gen cagPAI		p
	cagPAI không nguyên vẹn n (%)	cagPAI nguyên vẹn n (%)	
Nữ (n = 18)	3/18 (16,7)	15/18 (83,3)	> 0,05
Nam (n = 71)	15/71 (21,1)	56/71 (78,9)	

Nhận xét: Không có sự khác biệt về tỷ lệ nhiễm H. pylori mang gen cagPAI nguyên vẹn và không nguyên vẹn theo nhóm giới (p > 0,05)

3.2.3. Liên quan theo đặc điểm nội soi UTDD

Bảng 5. Tỷ lệ gen cagPAI nguyên vẹn và không nguyên vẹn theo hình ảnh nội soi ở bệnh nhân UTDD

Đặc điểm nội soi (theo Borrmann)	Gen cagPAI		p
	cagPAI không nguyên vẹn n (%)	cagPAI nguyên vẹn n (%)	
Týp I (n = 5)	1/5 (20,0)	4/5 (80,0)	> 0,05
Týp II (n = 23)	3/23 (13,1)	20/23 (86,9)	
Týp III (n = 61)	14/61 (22,9)	47/61 (77,1)	

Nhận xét: Không có sự khác biệt về tỷ lệ nhiễm H. pylori mang gen cagPAI nguyên vẹn và không nguyên vẹn theo đặc điểm đại thể trên nội soi ở bệnh nhân UTDD (phân loại Borrmann: Týp I, II, III) (p > 0,05)

3.2.4. Liên quan theo mô bệnh học UTDD

Bảng 6. Tỷ lệ gen cagPAI nguyên vẹn và không nguyên vẹn theo mô bệnh học ở bệnh nhân UTDD

Đặc điểm mô bệnh học	Gen cagPAI		p
	cagPAI một phần (n, %)	cagPAI nguyên vẹn (n, %)	

UTDD thể ruột (n = 49)	12/49 (24,5)	37/49 (75,5)	> 0,05
UTDD thể lan toả (n = 36)	6/36 (16,7)	30/36 (83,3)	
UTDD thể hỗn hợp (n = 4)	0/4 (0)	4/4 (100)	

Nhận xét: Không có sự khác biệt về tỷ lệ nhiễm H. pylori mang gen cagPAI giữa các thể mô bệnh học UTDD theo phân loại Lauren.

IV. BÀN LUẬN

H. pylori là loài vi khuẩn có tính đa dạng nhất về mặt di truyền. Tính không đồng nhất trong bộ gen của H. pylori là do sự hoán vị gen, sự tái tổ hợp và sự khác biệt về dịch tễ học cùng với áp lực do hệ thống miễn dịch của vật chủ tạo ra trong quá trình lây nhiễm lâu dài, trong đó đáng chú ý là đảo bệnh sinh cag (cagPAI). Để xác định tính nguyên vẹn của cagPAI cần giải trình tự tất cả 30 gen của đảo bệnh sinh. Công việc này đòi hỏi thời gian, trang bị, kỹ thuật và chi phí cao. Do vậy, các nghiên cứu chỉ tập trung một số gen đại diện, có tính chất quan trọng liên quan đến hệ thống bài tiết týp IV để xác định tính nguyên vẹn của cagPAI [4],[5].

Trong nghiên cứu của chúng tôi, tất cả các chủng H. pylori đều có cagA dương tính, do vậy 100% là cagPAI cũng dương tính. Tính nguyên vẹn của cagPAI được xác định khi có đủ 3 gen là cagA, cagE, cagT, trong đó cagE nằm ở vùng cagI, cagT nằm ở vùng cagII [4]. Sự hiện diện đầy đủ của cả 3 gen (cagA, cagE, cagT) liên quan chặt chẽ đến quá trình viêm dạ dày mạn, tăng nguy cơ loét dạ dày, tá tràng (LDDTT) và UTDD [5],[6].

Dựa trên kết quả PCR, kết quả nghiên cứu (bảng 1) cho thấy: tỷ lệ cagPAI dương tính đạt: 179/179 bệnh nhân (100%). Kết quả cũng cho biết có 126/179 bệnh nhân (70,4%) có cagPAI nguyên vẹn và có 53/179 bệnh nhân (29,6%) có cagPAI không nguyên vẹn (hay còn gọi cagPAI một phần).

Trên thế giới, có khá nhiều nghiên cứu về sự hiện diện của cagPAI ở bệnh nhân có bệnh lý dạ dày nhiễm H. pylori. Tuy nhiên, sự hiện diện của cagPAI không đồng nhất trên các châu lục, thậm chí ở cùng một châu lục hay một quốc gia. Tỷ lệ cagPAI âm tính là 50% ở Tây Ấn Độ, 32% ở Pháp, 9% ở Thụy Điển, 1% ở Nhật Bản, 0% ở Braxin. Tỷ lệ cagPAI nguyên vẹn cũng có sự khác nhau: Mỹ (88%), Nhật Bản (100%), Nam Mỹ (78%), Braxin (24,7%) [7]. Ở Việt Nam, Nguyễn Lâm Tùng và cs [8] nghiên cứu trên 103 chủng H. pylori phân lập từ 2 nhóm VDDM (n = 78) và

loét dạ dày-tá tràng (n = 25) thì tỷ lệ cagPAI chiếm tỷ lệ là: 103/103 bệnh nhân (100%). Kết quả nghiên cứu cũng cho biết tỷ lệ cagPAI nguyên vẹn (intact) cho cả 2 nhóm bệnh là: 91/103 bệnh nhân (88,3%). Tỷ lệ này (88,3%) cao hơn so với kết quả nghiên cứu của chúng tôi (70,4%). Sở dĩ có sự khác biệt này là trong nghiên cứu của Nguyễn Lâm Tùng đã thực hiện nghiên cứu trên 30 gen của đảo bệnh sinh cag.

Khi phân tích tình trạng cagPAI với nhóm bệnh (trình bày bảng 2), chúng tôi nhận thấy, nhóm UTDD có tỷ lệ cagPAI nguyên vẹn: 71/89 bệnh nhân (79,8%) cao hơn so với tỷ lệ cagPAI nguyên vẹn ở nhóm VDDM: 55/90 bệnh nhân (61,1%). Sự khác biệt này có ý nghĩa thống kê ($p < 0,001$).

Như vậy, kết quả này cho thấy chủng H. pylori mang cagPAI nguyên vẹn có thể liên quan với mức độ viêm dạ dày nặng hơn và tăng "nguy cơ" UTDD hơn so với các chủng cagPAI một phần. Kết quả này khá phù hợp với các nghiên cứu khác khi chứng minh H. pylori mang cagPAI nguyên vẹn có độc lực cao hơn chủng chỉ mang một phần cagPAI [4],[9],[8]. Nghiên cứu thực nghiệm đã công bố các chủng H. pylori mang cagPAI một phần giảm khả năng gắn kết của vi khuẩn vào tế bào biểu mô và cảm ứng bài tiết IL-8. Tính nguyên vẹn của cagPAI là điều kiện rất quan trọng cho sự hình thành và phát huy chức năng của HTTT4, từ đó H. pylori gắn lên bề mặt tế bào vật chủ, phá vỡ liên kết tế bào và vận chuyển cagA vào bào tương, kích hoạt một loạt các quá trình phân tử diễn ra bên trong tế bào biểu mô dẫn đến cảm ứng bài tiết các cytokin viêm [3],[10], giúp vi khuẩn tránh được các cơ chế thải loại, sống sót được trong môi trường acid, sinh trưởng và định cư lâu dài trong niêm mạc dạ dày [8].

Về mối liên quan giữa nhiễm H. pylori mang gen cagPAI với nhóm tuổi, hình ảnh đại thể ung thư dạ dày trên nội soi (phân loại của Borrmann), đặc điểm mô bệnh học (phân loại của Lauren), kết quả không tìm thấy mối liên quan giữa cagPAI với các yếu tố trên. Hiện tại, chúng tôi không tìm thấy các tài liệu nào nói về mối tương quan này.

Trong nghiên cứu của chúng tôi cho biết: Nhiễm chủng H. pylori mang cagPAI nguyên vẹn làm tăng "nguy cơ" UTDD lên 2,5 lần so với VDDM. Kết quả này cho thấy, việc xét nghiệm cụm gen cagPAI rất quan trọng nhằm định hướng, chẩn đoán, sàng lọc và tiên lượng UTDD tại Việt Nam.

V. KẾT LUẬN

1. H. pylori mang gen cagPAI dương tính: 179/179 (100%), trong đó cag PAI nguyên vẹn: 126/179 (70,4%) và cag PAI không nguyên vẹn 53/179 (29,6)

2. Tỷ lệ nhiễm H. pylori mang gen cagPAI nguyên vẹn nhóm UTDD: 71/89 (79,8%) cao hơn có ý nghĩa ($O = 2,5$, $p < 0,01$) so với nhóm tỷ lệ cagPAI ở bệnh nhân VDDM: 55/90 (61,1%).

3. Không tìm thấy mối liên quan giữa cagPAI của H. pylori với tuổi, đặc điểm nội soi và mô bệnh học ung thư dạ dày ($p > 0,05$)

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. **Censini Stefano, Christina Lange, Zhaoying Xiang, et al** (1996), "cag, a pathogenicity island of Helicobacter pylori, encodes type I-specific and disease-associated virulence factors", Proceedings of the National Academy of Sciences. 93(25), p. 14648-14653.
2. **Kusters Johannes G, Arnoud HM Van Vliet, and Ernst J Kuipers** (2006), "Pathogenesis of Helicobacter pylori infection", Clinical microbiology reviews. 19(3), p. 449-490.
3. **Fischer Wolfgang, Jürgen Püls, Renate Buhrdorf, et al** (2001), "Systematic mutagenesis of the Helicobacter pylori cag pathogenicity island: essential genes for CagA translocation in host cells and induction of interleukin-8", Molecular microbiology. 42(5), p. 1337-1348.
4. **Ikenoue T., S. Maeda, K. Ogura, et al** (2001), "Determination of Helicobacter pylori virulence by simple gene analysis of the cag pathogenicity island", Clin Diagn Lab Immunol. 8(1), p. 181-186.
5. **Khatoun J, KN Prasad, R Prakash Rai, et al** (2017), "Association of heterogeneity of Helicobacter pylori cag pathogenicity island with peptic ulcer diseases and gastric cancer", Br J Biomed Sci. 74(3), p. 121-126.
6. **Day Andrew S, Nicola L Jones, Jennifer T Lynett, et al** (2000), "cagE Is a Virulence Factor Associated with Helicobacter pylori-Induced Duodenal Ulceration in Children", The Journal of infectious diseases. 181(4), p. 1370-1375.
7. **Mattar Rejane, Sergio Barbosa Marques, Maria do Socorro Monteiro, et al** (2007), "Helicobacter pylori cag pathogenicity island genes: clinical relevance for peptic ulcer disease development in Brazil", Journal of medical microbiology. 56(1), p. 9-14.
8. **Nguyen LT, T Uchida, Y Tsukamoto, et al** (2010), "Clinical relevance of cagPAI intactness in Helicobacter pylori isolates from Vietnam", European journal of clinical microbiology infectious diseases. 29(6), p. 651-660.
9. **Nilsson C., A. Sillén, L. Eriksson, et al** (2003), "Correlation between cag pathogenicity island composition and Helicobacter pylori-associated gastroduodenal disease", Infect Immun. 71(11), p. 6573-6581.
10. **Amieva M. and R. M. Peek, Jr.** (2016), "Pathobiology of Helicobacter pylori-Induced Gastric Cancer", Gastroenterology. 150(1), p. 64-78.