

**ĐẠI HỌC HUẾ  
TRƯỜNG ĐẠI HỌC Y - DƯỢC**

**THÁI THỊ HỒNG NHUNG**

**NGHIÊN CỨU CÁC GENE *oipA*, *babA2*, *cagE*  
VÀ *cagA* CỦA VI KHUẨN *HELICOBACTER  
PYLORI* Ở CÁC BỆNH NHÂN VIÊM, LOÉT  
DẠ DÀY TÁ TRÀNG**

**Ngành: NỘI KHOA**

**Mã số : 9 72 01 07**

**TÓM TẮT LUẬN ÁN TIẾN SĨ Y HỌC**

**HUẾ - 2024**

Công trình được hoàn thành tại:  
**TRƯỜNG ĐẠI HỌC Y - DƯỢC, ĐẠI HỌC HUẾ**

Người hướng dẫn khoa học:

**PGS. TS. HÀ THỊ MINH THI**

Phản biện 1:

Phản biện 2:

Phản biện 3:

Luận án sẽ được bảo vệ tại Hội đồng chấm luận án cấp.....

Vào lúc.....giờ.....ngày.....tháng.....năm 2024

Có thể tìm hiểu luận án tại:

- Thư viện Trường Đại học Y - Dược, Đại học Huế
- Thư viện Quốc gia
- Trung tâm học liệu - Đại học Huế

## ĐẶT VẤN ĐỀ

### 1. TÍNH CẤP THIẾT CỦA ĐỀ TÀI

Vi khuẩn *Helicobacter pylori* (*H. pylori*) là tác nhân chính gây viêm dạ dày mạn, loét dạ dày tá tràng, ung thư dạ dày. Mặc dù tỷ lệ nhiễm *H. pylori* khá cao (48,5%), chỉ 10-20% bệnh nhân nhiễm *H. pylori* tiến triển loét dạ dày tá tràng và 1-2% tiến triển ung thư dạ dày. Điều này có thể được lý giải là do sự khác biệt về đặc điểm độc lực của các chủng *H. pylori*. Hiện nay, bên cạnh vai trò của gene *cagA* mã hóa yếu tố độc lực kinh điển CagA của *H. pylori*, vai trò của các gene *cag* mã hóa protein thuộc hệ thống tiết loại IV (T4SS) và các gene mã hóa các protein màng ngoài của *H. pylori* được quan tâm. Gene *cagE* mã hóa protein CagE thuộc T4SS. Gene *babA2* mã hóa protein màng ngoài BabA, là chất kết dính được phát hiện đầu tiên của *H. pylori*. Gene *oipA* mã hóa protein màng ngoài OipA, có trạng thái "bật/tắt" tùy thuộc vào số lần lặp lại của các dinucleotide CT ở vùng 5' của gene, được điều chỉnh bởi cơ chế bắt cặp sai do hiện tượng trượt của mạch. Tại Việt Nam, hiện chưa có nghiên cứu đồng thời các gene *oipA*, *babA2*, *cagE* và *cagA* của *H. pylori*. Vì vậy, chúng tôi tiến hành đề tài "**Nghiên cứu các gene *oipA*, *babA2*, *cagE* và *cagA* của vi khuẩn *Helicobacter pylori* ở các bệnh nhân viêm, loét dạ dày tá tràng**".

### 2. MỤC TIÊU NGHIÊN CỨU

1. Xác định tỷ lệ mang các gene và tổ hợp gene *oipA* "bật/ tắt", *babA2*, *cagE* và *cagA* của *Helicobacter pylori* ở bệnh nhân viêm, loét dạ dày tá tràng.

2. Khảo sát mối liên quan giữa từng gene và tổ hợp các gene *oipA* "bật/ tắt", *babA2*, *cagE* và *cagA* của *Helicobacter pylori* với các thể bệnh viêm, loét dạ dày tá tràng.

### 3. Ý NGHĨA KHOA HỌC VÀ THỰC TIỄN

Nghiên cứu cung cấp tỷ lệ mang các gene *oipA* “bật/ tắt”, *babA2*, *cagE* và *cagA* của *H. pylori* và mối liên quan giữa chúng và bệnh viêm, loét dạ dày tá tràng.

Kết quả nghiên cứu góp phần cung cấp thông tin về các chủng *H. pylori* mang các gene độc lực cao, có liên quan với tăng nguy cơ loét dạ dày tá tràng và viêm dạ dày mạn có tổn thương tiền ung thư. Đây là một trong những cơ sở để quyết định diệt trừ *H. pylori* có chọn lọc, nhằm dự phòng tiến triển tổn thương dạ dày tá tràng nặng do nhiễm các chủng *H. pylori* độc lực cao.

### 4. ĐÓNG GÓP CỦA LUẬN ÁN

Nghiên cứu ghi nhận tỷ lệ chủng *H. pylori* mang gene *oipA* “bật” là 96% , *babA2* (+) là 74,6%, *cagE* (+) là 83,8%, *cagA* (+) là 83,8%, góp phần làm rõ đặc điểm phân tử của vi khuẩn này tại Việt Nam.

Kết quả nghiên cứu cung cấp thông tin về các chủng *H. pylori* mang các gene và tổ hợp gene độc lực cao có liên quan với tăng nguy cơ loét dạ dày tá tràng và viêm dạ dày mạn có tổn thương tiền ung thư, góp phần làm sáng tỏ vai trò của các gene này trong sự phát triển bệnh viêm loét dạ dày tá tràng do nhiễm *H. pylori*.

### 5. BỐ CỤC CỦA LUẬN ÁN

Luận án gồm 117 trang: đặt vấn đề 3 trang, tổng quan tài liệu 29 trang, đối tượng và phương pháp nghiên cứu 24 trang, kết quả nghiên cứu 26 trang, bàn luận 30 trang, kết luận 2 trang, kiến nghị 1 trang. Luận án có 30 bảng, 12 hình, 7 biểu đồ, 141 tài liệu tham khảo (20 tài liệu tiếng Việt và 121 tài liệu tiếng Anh).

## Chương 1: TỔNG QUAN TÀI LIỆU

### 1.1. ĐẠI CƯƠNG VỀ VI KHUẨN *H. PYLORI*

#### 1.1.1. Dịch tễ học

Tỷ lệ nhiễm *H. pylori* trên toàn thế giới là 48,5%; tại Việt Nam, từ 55,4% đến 63,7%. Yếu tố nguy cơ nhiễm *H. pylori* gồm điều kiện kinh tế xã hội thấp. Đường lây truyền của *H. pylori*: đường miệng-miệng, phân-miệng, dạ dày- miệng.

#### 1.1.2. Đặc điểm vi sinh của *H. pylori* và các phương pháp chẩn đoán nhiễm *Helicobacter pylori*

##### 1.1.2.1. Đặc điểm vi sinh của *H. pylori*

*H. pylori* là vi khuẩn Gram âm, dài từ 2-4  $\mu\text{m}$ , hình cong hoặc xoắn ốc, với 2 - 6 lông roi ở một đầu. *H. pylori* là vi khuẩn vi ái khí, mọc chậm và cần môi trường nuôi cấy chuyên biệt trong phòng xét nghiệm.

##### 1.1.2.2. Các phương pháp chẩn đoán nhiễm *H. pylori*

\* *Phương pháp xâm lấn*: mô học, nuôi cấy, xét nghiệm urease nhanh.

\* *Phương pháp không xâm lấn*: xét nghiệm ure hơi thở, xét nghiệm kháng nguyên trong phân, huyết thanh học.

\* *Phương pháp sinh học phân tử*: phản ứng khuếch đại chuỗi DNA (PCR: Polymerase chain reaction)

#### 1.1.3. Cơ chế gây bệnh của *H. pylori*

Quá trình xâm nhập và gây bệnh của *H. pylori* tại dạ dày tá tràng gồm các bước: (1) Sống sót trong môi trường axit dạ dày thông qua enzyme urease (2) Di chuyển đến biểu mô dạ dày bằng lông roi (3) Gắn với thụ thể trên màng tế bào biểu mô dạ dày bằng chất kết dính (4) Tiết độc tố gây tổn thương tế bào.

### ***1.1.4. Bệnh viêm loét dạ dày tá tràng do nhiễm *H. pylori****

#### ***1.1.4.1. Viêm dạ dày mạn và các tổn thương tiền ung thư***

##### ***Định nghĩa viêm dạ dày mạn***

Viêm dạ dày mạn là những thương tổn mạn tính của biểu mô phủ ở niêm mạc dạ dày, có thể dẫn đến những biến đổi mô bệnh học quan trọng như teo tuyến niêm mạc, dị sản ruột, loạn sản, trên cơ sở đó ung thư dạ dày có thể phát triển.

##### ***Các tổn thương tiền ung thư dạ dày do nhiễm *H. pylori****

Quá trình hình thành ung thư dạ dày kiểu ruột do nhiễm *H. pylori* được mô tả bởi Correa, trải qua các giai đoạn tiền ung thư: viêm teo niêm mạc dạ dày → dị sản ruột → loạn sản, và cuối cùng là ung thư biểu mô tuyến dạ dày.

Viêm teo dạ dày là một tổn thương tiền ung thư biểu hiện qua thay đổi mô học với sự hiện diện của các tế bào viêm mạn gồm tế bào lympho và tương bào ở lớp đệm và mất các tuyến dạ dày.

Dị sản ruột là sự biến đổi của niêm mạc biểu mô dạ dày thành biểu mô ruột.

Loạn sản được đặc trưng bởi những thay đổi về hình thái, cấu trúc của các tuyến và tế bào biểu mô tuyến ở niêm mạc dạ dày. Các thay đổi mô bệnh học gồm tế bào không điển hình, rối loạn cấu trúc tuyến, và biệt hóa bất thường.

#### ***1.1.4.2. Loét dạ dày tá tràng do nhiễm *H. pylori****

Loét dạ dày tá tràng (LDDTT) là những tổn thương khu trú của niêm mạc dạ dày tá tràng, độ sâu đến lớp cơ niêm và đường kính tối thiểu là 5mm, được chẩn đoán qua nội soi. Nhiễm *H. pylori* có liên quan đến khoảng 70% loét dạ dày và 80% loét tá tràng.

## 1.2. CÁC GENE *oipA* “bật/tắt”, *babA2*, *cagE* VÀ *cagA* CỦA VI KHUẨN *HELICOBACTER PYLORI*

### 1.2.1. Gene *oipA* và protein *OipA*

Protein *OipA* (*OipA*: Outer inflammatory protein A) là một protein màng ngoài đóng vai trò vừa là protein tiền viêm vừa là yếu tố kết dính của *H. pylori*. Gene *oipA* mã hóa protein màng ngoài *OipA*, có trạng thái “bật/tắt” tùy thuộc vào số lần lặp lại của các dinucleotide CT (C (cytosine), T (thymine)) ở vùng 5' của gene, được điều chỉnh bởi cơ chế bắt cặp sai do hiện tượng trượt của mạch (SSM: slipped strand mispairing). Mô hình CT lặp lại có tính đặc trưng theo vùng địa lý. Gene *oipA* “bật” mã hóa protein *OipA* có chức năng kết dính và cảm ứng tiết interleukin-8 (IL-8), và được một số nghiên cứu ghi nhận có liên quan với tăng nguy cơ loét dạ dày tá tràng và ung thư dạ dày.

### 1.2.2. Gene *babA2* và protein *BabA*

Protein *BabA* (*BabA*: Blood group antigen binding adhesin) có trọng lượng phân tử từ 75-80 kDa, và là phân tử kết dính được nhận diện đầu tiên của *H. pylori*. Protein *BabA* được mã hóa bởi gene *babA2*. Gene *babA2* có liên quan đến tăng nguy cơ phát triển loét dạ dày tá tràng ở các nước phương Tây; tuy nhiên, mối liên quan này chưa được xác nhận ở các nước Đông Á. Ngoài ra, một số nghiên cứu báo cáo gene *babA2* có liên quan với tăng nguy cơ dị sản ruột và ung thư dạ dày.

### 1.2.3. Gene *cagE* và protein *CagE*

Protein *CagE* là thành phần của hệ thống tiết loại IV (T4SS) của đảo sinh bệnh *CagPAI*. Gene *cagE* mã hóa protein *CagE*. Gene *cagE* thường được nghiên cứu như là gene chỉ điểm sự hiện

diện *cagPAI*, được báo cáo là có liên quan đến các bệnh lý dạ dày tá tràng nặng.

#### 1.2.4. Gene *cagA* và protein *CagA*

Protein liên quan độc tố tế bào *CagA* là yếu tố độc lực chính của *H. pylori*, được mã hóa bởi gene *cagA* nằm ở đoạn cuối đầu 3' của đảo sinh bệnh *cag* (*cagPAI*). Gene *cagA* được báo cáo là có liên quan loét dạ dày tá tràng và ung thư dạ dày.

### 1.3. CÁC NGHIÊN CỨU TRONG VÀ NGOÀI NƯỚC

#### 1.3.1. Các nghiên cứu ngoài nước

Năm 2012, Sahara ghi nhận gene *cagA* (+) liên quan với tăng nguy cơ LDDTT (OR= 2,83, 95%CI: 1,50 - 5,34, p = 0,001).

Năm 2013, Liu ghi nhận gene *oipA* “bật” có liên quan đáng kể với tăng nguy cơ LDDTT (OR = 3,97, 95%CI: 2,89-5,45) và ung thư dạ dày (OR = 2,43, 95%CI: 1,45-4,07).

Năm 2017, Khatoon ghi nhận tỷ lệ chủng *H. pylori* mang gene *cagA* (+), *cagE* (+) lần lượt là 73% và 83%. Gene *cagE* (+) làm tăng nguy cơ LDDTT gấp 5 lần (95%CI: 2,31–8,22) và nguy cơ ung thư dạ dày gấp 3 lần (95%CI: 1,82–6,13).

Năm 2020, Bartpho nghiên cứu tại Thái Lan cho thấy gene *babA2* (+) không liên quan đến tăng nguy cơ tổn thương tiền ung thư dạ dày.

#### 1.3.2. Các nghiên cứu trong nước

Năm 2010, Nguyễn Lâm Tùng nghiên cứu tại Hà Nội và Thành Phố Hồ Chí Minh ghi nhận tỷ lệ chủng *H. pylori* mang gene *cagA* (+) là 95%, mang gene *cagE* (+) là 88%, mang gene *oipA* “bật” là 100%.



Năm 2021, Nguyễn Thị Mai Ngân nghiên cứu tại Huế, ghi nhận tỷ lệ chủng *H. pylori* mang gene *cagA* (+) là 80%. Không có mối liên quan giữa gene *cagA* và bệnh lý dạ dày tá tràng.

## **Chương 2: ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU**

### **2.1. ĐỐI TƯỢNG NGHIÊN CỨU**

Các bệnh nhân viêm, loét dạ dày tá tràng có nhiễm *H. pylori* đáp ứng tiêu chuẩn chọn bệnh và tiêu chuẩn loại trừ, từ tháng 5/2021 - 10/2022 tại Bệnh viện Trường Đại Học Y Dược Cần Thơ.

#### **2.1.1. Tiêu chuẩn chọn mẫu**

- Bệnh nhân có triệu chứng lâm sàng gợi ý bệnh lý viêm, loét dạ dày tá tràng như đau thượng vị, nóng rát vùng thượng vị, nôn buồn nôn, ợ hơi, ợ chua, đầy bụng, khó tiêu, chán ăn.

- Bệnh nhân được chẩn đoán có bệnh lý viêm loét dạ dày tá tràng, bao gồm:

+ Viêm dạ dày mạn được chẩn đoán xác định dựa vào tổn thương viêm trên hình ảnh nội soi và viêm dạ dày mạn trên mô bệnh học.

+ Loét dạ dày tá tràng được chẩn đoán xác định dựa vào tổn thương loét ở dạ dày tá tràng trên hình ảnh nội soi.

- Bệnh nhân có kết quả chẩn đoán nhiễm *H. pylori* dương tính ở cả hai phương pháp xét nghiệm nhanh urease và nuôi cấy từ mẫu sinh thiết niêm mạc dạ dày.

#### **2.1.2. Tiêu chuẩn loại trừ**

- Bệnh nhân dùng thuốc kháng thụ thể Histamin H2 hoặc thuốc ức chế bơm proton trong vòng 2 tuần, dùng kháng sinh hoặc bismuth trong vòng 4 tuần trước nội soi.

- Bệnh nhân có tiền sử phẫu thuật ở thực quản, dạ dày, tá tràng, hoặc có rối loạn đông cầm máu trước đó.
- DNA tách chiết từ *H. pylori* phân lập không đảm bảo chất lượng và số lượng để thực hiện các xét nghiệm sinh học phân tử.
- Bệnh nhân có tín hiệu giải trình tự gene *oipA* bị nhiễu, hoặc có kết quả PCR của *cagA*, *cagE*, *cagPAI* empty không tương thích.

## 2.2. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

**2.2.1. Thiết kế nghiên cứu:** tiến cứu, mô tả cắt ngang.

**2.2.2. Cỡ mẫu:** được tính theo công thức:

$$n \geq \frac{Z_{1-\alpha/2}^2 \times p(1-p)}{d^2}$$

Với  $Z_{1-\alpha/2} = 1,96$  ( $\alpha = 0,05$ ),  $d=0,08$ ,  $p_1=0,8$ ,  $p_2=0,5$ , cỡ mẫu chung tối thiểu:  $n \geq 151$ . Cỡ mẫu thực tế là 173 mẫu.

### 2.2.3. Cách tiến hành nghiên cứu

- Chọn bệnh nhân đến nội soi tiêu hóa trên tại Trung tâm Nội Soi - Nội Soi Can Thiệp, Bệnh Viện Trường Đại Học Y Dược Cần Thơ có chỉ định sinh thiết niêm mạc dạ dày, tư vấn bệnh nhân đồng ý ký đơn tự nguyện tham gia nghiên cứu.

- Tiến hành nội soi tiêu hóa trên ghi nhận tổn thương viêm hoặc loét và sinh thiết hai mẫu mô niêm mạc dạ dày để làm xét nghiệm urease nhanh và nuôi cấy *H. pylori*. Bệnh nhân nội soi có viêm dạ dày thì sinh thiết thêm hai mẫu mô làm mô bệnh học.

- Các bệnh nhân có xét nghiệm urease nhanh (+) tiếp tục được nuôi cấy, phân lập, định danh *H. pylori* tại phòng xét nghiệm của Bộ Môn Vi Sinh, Trường Đại Học Y Dược Cần Thơ.

- Chủng *H. pylori* phân lập được bảo quản trong dung dịch TE Buffer ở  $-20^\circ$  và chuyển đến Phòng xét nghiệm di truyền phân tử

- Bộ môn Di truyền Y học, Trường Đại Học Y - Dược, Đại Học

Huế để tách chiết DNA, sau đó và thực hiện PCR với cặp mồi đặc hiệu *H. pylori* (*ureC*), và các gene *oipA*, *babA2*, *cagE*, *cagA*.

- Xác định trạng thái “bật/ tắt” của gene *oipA* bằng kỹ thuật giải trình tự Sanger vùng chứa các dinucleotide lặp lại của gene.

#### **2.2.4. Biến số nghiên cứu**

Các biến số nghiên cứu được định nghĩa và liệt kê chi tiết.

#### **2.2.5. Các quy trình, kỹ thuật thực hiện trong nghiên cứu**

Các quy trình, kỹ thuật trong nghiên cứu được mô tả chi tiết.

#### **2.2.6. Phân tích và xử lý số liệu**

Số liệu được phân tích bằng phần mềm SPSS 26.0 và R Statistical Environment v4.2.2. Biến định lượng được mô tả bằng trung bình và độ lệch chuẩn, biến định tính được mô tả bằng tần số và tỷ lệ %. Phép kiểm Chi bình phương (Chi-square test) hoặc Fisher (Fisher’s exact test) được sử dụng để so sánh sự khác biệt giữa các tỷ lệ. Dùng tỷ suất chênh (OR: odds ratio) và khoảng tin cậy 95% (95%CI: confidence interval) trong phân tích hồi quy logistic nhị phân để khảo sát mối liên quan giữa các gene, tổ hợp gene và bệnh viêm loét dạ dày tá tràng. Phân tích hồi quy logistic Firth được sử dụng trong trường hợp phân bố bệnh viêm loét dạ dày tá tràng theo các gene có tần số bằng 0, do khi đó hồi quy logistic nhị phân không thể đưa đến giá trị hữu hạn cho OR và 95% CI, và khi dữ liệu càng thưa thớt sẽ dẫn đến dao động lớn trong ước tính khoảng tin cậy 95%. Các phép kiểm có ý nghĩa thống kê khi  $p < 0,05$ .

#### **2.2.7. Đạo đức trong nghiên cứu**

Nghiên cứu Hội đồng Đạo đức trong Nghiên cứu Y sinh học trường Đại học Y – Dược, Đại học Huế chấp thuận cho thực hiện nghiên cứu với mã số H2021/389.

### Chương 3: KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

#### 3.1. ĐẶC ĐIỂM CHUNG CỦA MẪU NGHIÊN CỨU

##### 3.1.1. Đặc điểm tuổi, giới, tình trạng hút thuốc lá

Tuổi trung bình của bệnh nhân trong nghiên cứu là  $42,60 \pm 15,10$  tuổi. Nhóm tuổi  $\geq 40$  chiếm đa số (53,2%). Giới nam chiếm 49,1%. Bệnh nhân có hút thuốc lá chiếm 20,2%.

##### 3.1.2. Đặc điểm bệnh viêm, loét dạ dày tá tràng

###### 3.1.2.1. Phân bố bệnh viêm, loét dạ dày tá tràng

Trong 173 bệnh nhân nghiên cứu, viêm dạ dày mạn có tổn thương tiền ung thư chiếm 53,7%; loét dạ dày tá tràng chiếm 24,3% (42/173); viêm dạ dày mạn không có tổn thương tiền ung thư chiếm 22,0% (38/173).

###### 3.1.2.2. Mối liên quan giữa nhóm tuổi và giới tính của bệnh nhân với bệnh viêm loét dạ dày tá tràng

Có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê về sự phân bố nhóm tuổi và giới tính bệnh nhân theo bệnh viêm, loét dạ dày tá tràng ( $p < 0,05$ ).

##### 3.1.3. Các triệu chứng lâm sàng

Triệu chứng thường gặp nhất là đau thượng vị chiếm 65,9%.

#### 3.2. CÁC GENE VÀ TỔ HỢP GENE *oipA* “bật/tắt”, *babA2*, *cagE* và *cagA* CỦA VI KHUẨN *HELICOBACTER PYLORI* Ở CÁC BỆNH NHÂN VIÊM, LOÉT DẠ DÀY TÁ TRÀNG

##### 3.2.1. Gene *oipA* của *H. pylori*

###### 3.2.1.1. Tỷ lệ trạng thái “bật/tắt” của gene *oipA*

Tỷ lệ chủng *H. pylori* mang gene *oipA* “bật” chiếm 96,0%, “tắt” chiếm 4%.

### 3.2.1.2. Mô hình CT lặp lại của gene *oipA*

Có tổng cộng 25 kiểu mô hình CT lặp lại (19 mô hình “bật” và 6 mô hình “tắt”). Ở gene *oipA* “bật”, mô hình “2+1+1+1” (31,8%) và “3+1” (26,0%) thường gặp. Có 5 mô hình CT lặp mới của gene *oipA* “bật”.

### 3.2.2. Gene *babA2* của *H. pylori*

Tỷ lệ các chủng *H. pylori* mang gene *babA2* (+) là 74,6%.

### 3.2.3. Gene *cagE* và *cagA* của *H. pylori*

Tỷ lệ chủng *H. pylori* mang gene *cagA* (+) hoặc *cagE* (+) là 83,8%.

### 3.2.4. Môi liên quan giữa các gene *oipA*, *babA2*, *cagE* và *cagA* của *H. pylori*

Có mối liên quan giữa gene *cagA* và các gene *babA2*, *oipA* “bật/tắt”, *cagE* ( $p < 0.05$ ).

Không có mối liên quan giữa gene *oipA* “bật/ tắt” và gene *babA2* ( $p > 0.05$ ).

### 3.2.5. Môi liên quan giữa nhóm tuổi và giới tính với các gene *oipA*, *babA2*, *cagE* và *cagA* của *H. pylori*

Không có mối liên quan giữa nhóm tuổi và giới tính bệnh nhân với sự hiện diện các gene *oipA*, *babA2*, *cagE* và *cagA* của *H. pylori* ( $p > 0.05$ ).

## 3.3. MỐI LIÊN QUAN GIỮA CÁC GENE VÀ TỔ HỢP GENE *oipA* “bật/ tắt”, *babA2*, *cagE* và *cagA* CỦA *H. PYLORI* VÀ BỆNH VIÊM, LOÉT DẠ DÀY TÁ TRÀNG

### 3.3.1. Môi liên quan giữa từng gene *oipA*, *babA2*, *cagE* và *cagA* của *H. pylori* và bệnh viêm, loét dạ dày tá tràng

#### 3.3.1.1. Môi liên quan giữa gene *oipA* “bật/ tắt” và bệnh viêm, loét dạ dày tá tràng

**Bảng 3.15.** Phân tích hồi quy logistic về mối liên quan giữa gene *oipA* “bật/ tắt” của *H. pylori* và bệnh viêm, loét dạ dày tá tràng

Gene <i>oipA</i>	LDDTT so với VDDMKTUT		VDDMCTUT so với VDDMKTUT	
	OR (95%CI)	p*	OR (95%CI)	p
“tắt”	1		1	
“bật”	13,96 (1,49-1856,39)	<b>0,016*</b>	6,89 (1,28-37,27)	<b>0,025</b>

Chủ thích: viêm dạ dày mạn không có tổn thương tiền ung thư (VDDMKTUT) là nhóm chứng để so sánh. VDDMCTUT: viêm dạ dày mạn có tổn thương tiền ung thư, LDDTT: loét dạ dày tá tràng.  
\*: phân tích bằng phép kiểm hồi quy logistic Firth, package (logistf) trong R.

**Nhận xét:** Nhiễm chủng *H. pylori* có mang gene *oipA* “bật” làm tăng nguy cơ LDDTT lên gấp 13,96 lần và tăng nguy cơ VDDMCTUT lên gấp 6,89 lần so với mang *oipA* “tắt”.

### 3.3.1.2. Mối liên quan giữa gene *babA2* của *H. pylori* và bệnh viêm loét dạ dày tá tràng

**Bảng 3.17.** Phân tích hồi quy logistic về mối liên quan giữa gene *babA2* và bệnh viêm, loét dạ dày tá tràng

Gene <i>babA2</i>	LDDTT so với VDDMKTUT		VDDMCTUT so với VDDMKTUT	
	OR (95%CI)	p	OR (95%CI)	p
<i>babA2</i> (-)	1		1	
<i>babA2</i> (+)	0,89 (0,33 - 2,39)	0,822	1,15 (0,48 – 2,74)	0,748

Chủ thích: viêm dạ dày mạn không có tổn thương tiền ung thư (VDDMKTUT) là nhóm chứng để so sánh. VDDMCTUT: viêm dạ dày mạn có tổn thương tiền ung thư, LDDTT: loét dạ dày tá tràng.

**Nhận xét:** Chưa ghi nhận mối liên quan giữa nhiễm chủng *H. pylori* mang gene *babA2* (+) và LDDTT hoặc VDDMCTUT.

3.3.1.3. *Mối liên quan giữa gene cagA, cagE, tổ hợp gene cagA/ cagE và bệnh viêm, loét dạ dày tá tràng*

**Bảng 3.19.** Phân tích hồi quy logistic về mối liên quan giữa gene *cagA, cagE, tổ hợp gene cagA/ cagE* với viêm, loét dạ dày tá tràng

Gene	LDDTT so với VDDMKTUT		VDDMCTUT so với VDDMKTUT	
	OR (95%CI)	P	OR (95%CI)	P
<b>Gene cagA</b>				
<i>cagA</i> (-)	1		1	
<i>cagA</i> (+)	8,15 (1,67-39,71)	<b>0,009</b>	2,12 (0,87-5,17)	0,099
<b>Gene cagE</b>				
<i>cagE</i> (-)	1		1	
<i>cagE</i> (+)	8,15 (1,67-39,71)	<b>0,009</b>	2,12 (0,87-5,17)	0,099
<b><i>cagA/ cagE</i></b>				
<i>cagA/ cagE</i> còn lại	1		1	
<i>cagA</i> (+)/ <i>cagE</i> (+)	8,15 (1,67-39,71)	<b>0,009</b>	1,82 (0,76-4,38)	0,180

Chú thích: viêm dạ dày mạn không có tổn thương tiền ung thư (VDDMKTUT) là nhóm chứng để so sánh. VDDMCTUT: viêm dạ dày mạn có tổn thương tiền ung thư, LDDTT: loét dạ dày tá tràng.

**Nhận xét:** Nhiễm chủng *H. pylori* mang gene *cagA* (+) hoặc gene *cagE* (+) hoặc tổ hợp gene *cagA* (+)/ *cagE* (+) làm tăng nguy cơ LDDTT lên gấp 8,15 lần (95%CI: 1,67-39,71), nhưng không liên quan VDDMCTUT.

### 3.3.2. Mối liên quan giữa các tổ hợp gene *oipA*, *baba2*, *cagE* và *cagA* của *H. pylori* với bệnh viêm, loét dạ dày tá tràng

#### 3.3.2.1. Mối liên quan giữa *cagA/oipA* và viêm, loét dạ dày tá tràng

**Bảng 3.22.** Phân tích hồi quy logistic về mối liên quan giữa tổ hợp gene *cagA/oipA* và bệnh viêm, loét dạ dày tá tràng

Tổ hợp gene <i>cagA/oipA</i>	LDDTT so với VDDMKTUT (n=80)		VDDMCTUT so với VDDMKTUT (n=131)	
	OR (95%CI)	p	OR (95%CI)	p
<i>cagA/oipA</i> còn lại	1		1	
<i>cagA (+)/oipA</i> “bật”	11,67 (2,44- 55,83)	<b>0,002</b>	3,03 (1,28 – 7,17)	<b>0,011</b>

Chú thích: nhóm viêm dạ dày mạn không có tổn thương tiền ung thư (VDDMKTUT) là nhóm chứng để so sánh. VDDMCTUT: viêm dạ dày mạn có tổn thương thương tiền ung thư, LDDTT: loét dạ dày tá tràng

**Nhận xét:** Nhiễm chủng *H. pylori cagA (+)/ oipA* “bật” làm tăng nguy cơ LDDTT lên gấp 11,67 lần và tăng nguy cơ VDDMCTUT lên gấp 3,03 lần so với mang các tổ hợp *cagA/oipA* còn lại.

#### 3.3.2.2. Mối liên quan giữa *cagA/cagE/oipA* và bệnh viêm, loét dạ dày tá tràng

**Bảng 3.28.** Phân tích hồi quy logistic về mối liên quan giữa tổ hợp gene *cagA/cagE/oipA* và bệnh viêm, loét dạ dày tá tràng

Tổ hợp gene <i>cagA/cagE/oipA</i>	LDDTT so với VDDMKTUT(n=80)		VDDMCTUT so với VDDMKTUT(n=131)	
	OR(95%CI)	p	OR (95%CI)	p
<i>cagA/cagE/oipA</i> khác	1		1	
<i>cagA (+)/cagE (+)/</i> <i>oipA</i> “bật”	11,67 (2,44- 55,83)	<b>0,002</b>	2,61 (1,12 -6,06)	<b>0,026</b>

Chú thích: nhóm viêm dạ dày mạn không có tổn thương tiền ung thư (VDDMKTUT) là nhóm chứng để so sánh. VDDMCTUT: viêm dạ dày mạn có tổn thương thương tiền ung thư, LDDTT: loét dạ dày tá tràng



**Nhận xét:** Nhiễm chủng *H. pylori* mang tổ hợp gene *cagA* (+)/*cagE* (+)/*oipA* “bật” làm tăng nguy cơ LDDTT lên gấp 11,67 lần (95%CI: 2,44- 55,83) và tăng nguy cơ VDDMCTUT lên gấp 2,61 lần (95%CI: 1,12 -6,06) so với nhiễm chủng mang các tổ hợp *cagA/ cagE/ oipA* còn lại.

*3.3.2.3. Mối liên quan giữa cagA/ babA2, oipA/ babA2, cagA/ cagE/ babA2 và viêm loét dạ dày tá tràng*

Chưa ghi nhận mối liên quan giữa các tổ hợp gene *cagA* (+)/*babA2* (+), *oipA* “bật”/*babA2*(+), *cagA*(+)/*cagE*(+)/*babA2*(+) với LDDTT và VDDMCTUT và nguy cơ loét dạ dày tá tràng hoặc viêm dạ dày mạn có tiền ung thư ( $p>0.05$ ).

## **Chương 4: BÀN LUẬN**

### **4.1. ĐẶC ĐIỂM CHUNG CỦA MẪU NGHIÊN CỨU**

#### **4.1.1. Đặc điểm tuổi, giới, tình trạng hút thuốc lá**

Tuổi trung bình của mẫu nghiên cứu là  $42,6 \pm 15,1$ , cao hơn Đặng Ngọc Quý Huệ (2018). Nhóm tuổi  $\geq 40$  chiếm 53,2%, nam giới chiếm 49,1%, tương tự Nguyễn Thị Mai Ngân (2021). 20,2% bệnh nhân có hút thuốc lá, cao hơn Đặng Ngọc Quý Huệ (2018).

#### **4.1.2. Đặc điểm viêm loét dạ dày tá tràng**

##### **4.1.2.1. Phân bố bệnh viêm loét dạ dày tá tràng**

Tỷ lệ LDDTT trong nghiên cứu của chúng tôi (24,3%) tương tự với nghiên cứu của Nguyễn Thị Mai Ngân (24,3%); thấp hơn Hà Thị Minh Thi (28,1%). Tỷ lệ VDDMCTUT chiếm 53,7%, khá cao tương tự Nguyễn Quang Chung (2007).

##### **4.1.2.3. Mối liên quan giữa tuổi và giới với viêm loét dạ dày tá tràng**

Có mối liên quan giữa nhóm tuổi và giới tính với bệnh viêm loét dạ dày tá tràng. Bệnh nhân từ 40 tuổi trở và nam giới lên có

tỷ lệ cao hơn trong nhóm LDDTT so với viêm dạ dày mạn, tương đồng với tác giả Nguyễn Thị Mai Ngân (2021), Farzi (2018).

#### **4.1.3. Các triệu chứng lâm sàng**

Đau thượng vị là triệu chứng lâm sàng thường gặp nhất, tương tự Đặng Ngọc Quý Huệ (2018) và Nguyễn Thị Mai Ngân (2021).

### **4.2. CÁC GENE VÀ TỔ HỢP GENE *oipA*, *babA2*, *cagE* và *cagA* CỦA VI KHUẨN *HELICOBACTER PYLORI***

#### **4.2.1. Gene *oipA* của *H. pylori***

##### **4.2.1.1. Tỷ lệ trạng thái “bật/tắt” của gene *oipA***

Tỷ lệ gene *oipA* “bật” là 96%, tương tự với nghiên cứu ở Đông Á, đều ghi nhận trên 90%, như Zhao (2020) ở Trung Quốc (100%), Kim (2021) ở Hàn Quốc (98,7%). Tuy nhiên, kết quả cao hơn nghiên cứu ở phương Tây, như Dossunbekova (2006) ở Đức (59%), Braga (2019) ở Brazil (81,1%). Qua đó cho thấy tỷ lệ gene *oipA* “bật” của *H. pylori* có khác biệt theo vùng địa lý.

##### **4.2.1.2. Mô hình CT lặp lại của gene *oipA***

Kết quả có 19 kiểu mô hình CT lặp lại của gene *oipA* “bật”, cao hơn so với các nghiên cứu khác ở Đông Á và phương Tây, có thể do khác biệt về đặc điểm di truyền theo địa lý của *H. pylori*. Mô hình CT lặp lại của gene *oipA* “bật” thường gặp là “2 + 1 + 1 + 1” và “3 + 1”, tương tự với các nghiên cứu khác ở Đông Á, khác với các nghiên cứu ở phương Tây. Có 5 kiểu mô hình CT lặp lại mới của gene *oipA* “bật” được ghi nhận. Kết quả nghiên cứu cho thấy sự khác biệt về mô hình CT lặp lại của gene *oipA* “bật” theo vùng địa lý.

#### **4.2.2. Gene *babA2* của *H. pylori***

Tỷ lệ gene *babA2* (+) là 74,6%, thấp hơn một số nghiên cứu tại châu Á, như Lee (2021) tại Hàn Quốc (79%) hoặc

Azizimoghaddam (2023) tại Iran (97,1%). Tuy nhiên, kết quả cao hơn Bucci (2023) tại Argentina (53%) hoặc Molina-Castro (2019) tại Costa Rica (44%). Kết quả ghi nhận tỷ lệ *babA2* (+) tại Việt Nam, và góp phần làm rõ giả thuyết về đặc điểm phân tử của các chủng *H. pylori* có khác biệt theo vùng địa lý.

#### **4.2.3. Gene *cagE* và *cagA* của *H. pylori***

##### **\* Gene *cagE***

Tỷ lệ gene *cagE* (+) là 83,8%, tương tự với Khatoun (2017) tại Ấn Độ (83%); thấp hơn Chomvarin (2008) tại Thái Lan (88,4%). Tuy nhiên, kết quả cao hơn El Khadir (2021) tại Ma-rốc (55%) hoặc Lima (2011) tại Brazil (53,2%). Kết quả bước đầu cho thấy tỷ lệ gene *cagE* (+) cao của *H. pylori* tại Việt Nam.

##### **\* Gene *cagA***

Tỷ lệ gene *cagA* (+) là 83,8%. So với các nghiên cứu châu Á, kết quả tương tự với Tserentogtokh (2019) tại Mông Cổ (83,1%), thấp hơn Xue (2020) tại Trung Quốc (97%). So với các nghiên cứu ở châu lục khác, kết quả cao hơn Idowu (2019) tại Nam Phi (62%); hoặc Kishk (2019) tại Ai Cập (53%). So sánh với nghiên cứu trong nước, kết quả tương tự Phan Trung Nam (2017) tại Huế (84%), thấp hơn Phạm Hồng Khánh (2021) tại Hà Nội (98,6%). Sự khác biệt về tỷ lệ mang gene *cagA* (+) giữa các khu vực ở Việt Nam cho thấy tính đa dạng di truyền cao của *H. pylori*.

#### **4.2.4. Mối liên quan giữa các gene *oipA*, *babA2*, *cagE* và *cagA* của *H. pylori***

Nghiên cứu ghi nhận có mối liên quan chặt chẽ giữa gene *cagA* và các gene *oipA*, *babA2*, *cagE* của *H. pylori*, tương đồng với Dabiri (2017), Farzi (2018). Chúng tôi không ghi nhận mối liên quan giữa gene *babA2* (+) và gene *oipA* “bật”, khác so với

Dossumbekova (2006), có thể do sự khác biệt về đặc điểm phân tử của *H. pylori* theo vùng địa lý, và cần thêm các nghiên cứu quy mô lớn hơn để xác định rõ hơn mối liên quan giữa hai gene mã hóa yếu tố kết dính này của *H. pylori* tại Việt Nam.

#### **4.2.5. Mối liên quan giữa nhóm tuổi và giới tính với các gene *oipA*, *babA2*, *cagE* và *cagA* của *H. pylori***

Chúng tôi đánh giá mối liên quan giữa sự hiện diện gene *oipA*, *babA2*, *cagE* và *cagA* của *H. pylori* với đặc điểm nhóm tuổi và giới tính của bệnh nhân nhằm xác định đối tượng bệnh nhân có nguy cơ nhiễm chủng *H. pylori* mang độc lực cao, tuy nhiên chưa ghi nhận mối liên quan này trong nghiên cứu.

### **4.3. MỐI LIÊN QUAN GIỮA CÁC GENE VÀ TỔ HỢP GENE *oipA*, *babA2*, *cagE* và *cagA* CỦA *HELICOBACTER PYLORI* VÀ BỆNH VIÊM, LOÉT DẠ DÀY TÁ TRÀNG**

#### **4.3.1. Mối liên quan giữa từng gene *oipA*, *babA2*, *cagE* và *cagA* của *H. pylori* và bệnh viêm, loét dạ dày tá tràng**

##### **4.3.1.1. Mối liên quan giữa gene *oipA* “bật/ tắt” và bệnh viêm, loét dạ dày tá tràng**

Kết quả ghi nhận gene *oipA* “bật” làm tăng nguy cơ LDDTT lên gấp 13,96 lần (95% CI: 1,5-1856,39). Kết quả tương đồng với nghiên cứu của Yanovich (2022), có khác biệt với Singh (2023). Mối liên quan giữa *oipA* “bật” của *H. pylori* và LDDTT vẫn còn chưa thống nhất giữa các nghiên cứu. Tuy kết quả có 95%CI dao động rộng được lý giải là do cỡ mẫu của chúng tôi chưa đủ lớn, nhưng khoảng này vẫn chứa giá trị 1 và  $p=0,016<0,05$  nên vẫn đủ ý nghĩa thống kê. Kết quả bước đầu cho thấy có mối liên quan giữa *oipA* “bật” của *H. pylori* với tăng nguy cơ LDDTT, có thể

là tiền đề cho các nghiên cứu quy mô lớn hơn về gene *oipA* “bật/tắt” của các chủng *H. pylori* tại Việt Nam.

Gene *oipA* “bật” có liên quan với tăng nguy cơ VDDMCTUT, có khác biệt với Farzi (2018) hoặc Zhao (2020). Sự khác biệt có thể do khác biệt về vùng địa lý, và hơn nữa *oipA* “bật” đã được một số nghiên cứu ghi nhận có liên quan nguy cơ ung thư dạ dày, nên cần nghiên cứu quy mô lớn hơn nhằm xác định rõ hơn mối liên quan giữa gene *oipA* “bật” và nguy cơ VDDMCTUT tại Việt Nam.

#### 4.3.1.2. Mối liên quan giữa gene *babA2* của *H. pylori* và bệnh viêm, loét dạ dày tá tràng

Nghiên cứu ghi nhận không có mối liên quan giữa gene *babA2* (+) và nguy cơ LDDTT hoặc VDDMCTUT, tương tự với Chen (2013) hoặc Molina-Castro (2019). Tuy nhiên, kết quả khác Askari (2021) hoặc Yu (2002). Hiện nay, mối liên quan của *babA2* của *H. pylori* và bệnh dạ dày tá tràng vẫn còn chưa thống nhất giữa các nghiên cứu từ các vùng địa lý khác nhau. Vì vậy, kết quả nghiên cứu bước đầu có thể đóng góp vào sự hiểu biết về gene *babA2* của các chủng *H. pylori* trong mối liên quan với bệnh viêm loét dạ dày tá tràng tại Việt Nam.

#### 4.3.1.3. Mối liên quan giữa gene *cagE*, *cagA*, tổ hợp gene *cagA/cagE* của *H. pylori* và bệnh viêm, loét dạ dày tá tràng

\* Mối liên quan giữa gene *cagE* và bệnh viêm loét dạ dày tá tràng

Kết quả ghi nhận nhiễm chủng *H. pylori* mang gene *cagE* (+) làm tăng nguy cơ LDDTT, tương đồng với nghiên cứu của Khatoon (2017), khác với GholizadeTobnagh (2016) tại Iran. Kết quả nghiên cứu của chúng tôi không ghi nhận mối liên quan giữa gene *cagE* và VDDMCTUT. Kết quả nghiên cứu trên thế giới về

mối liên quan giữa gene *cagE* (+) và nguy cơ tổn thương tiền ung thư dạ dày chưa được ghi nhận, chỉ một số nghiên cứu ghi nhận có mối liên quan với tăng nguy cơ ung thư dạ dày nhưng chưa thống nhất. Cần thêm các nghiên cứu quy mô lớn hơn để khảo sát rõ hơn mối liên quan giữa gene *cagE* (+) của *H. pylori* và sự phát triển các tổn thương tiền ung thư dạ dày tại Việt Nam.

\* *Mối liên quan giữa gene cagA và bệnh viêm, loét dạ dày tá tràng*

Kết quả cho thấy nhiễm chủng *H. pylori* mang gene *cagA* (+) làm tăng nguy cơ LDDTT, tương đồng với Sahara (2012), khác với nghiên cứu của Xue (2021) tại Trung Quốc, Nguyễn Thị Mai Ngân (2021) tại Huế. Kết quả nghiên cứu không ghi nhận mối liên quan giữa gene *cagA* (+) và VDDMCTUT, tương đồng Farzi (2018) tại Iran. Nhìn chung, mối liên quan giữa gene *cagA* (+) của *H. pylori* với loét dạ dày tá tràng và các tổn thương tiền ung thư vẫn còn chưa thống nhất giữa các nghiên cứu, đặc biệt ở các nước châu Á do tần suất gene *cagA* (+) cao. Cần các nghiên cứu quy mô lớn để xác định rõ hơn mối liên quan giữa *cagA* và bệnh dạ dày tá tràng.

#### **4.3.2. Mối liên quan giữa các tổ hợp gene *oipA*, *babA2*, *cagE* và *cagA* của *H. pylori* với bệnh viêm, loét dạ dày tá tràng**

##### **4.3.2.1. Mối liên quan giữa tổ hợp *cagA/oipA* và bệnh viêm, loét dạ dày tá tràng**

Nghiên cứu ghi nhận nhiễm chủng *H. pylori* mang tổ hợp gene *cagA* (+)/ *oipA* “bật” làm tăng nguy cơ LDDTT lên gấp 11,67 lần cao hơn so với nhiễm chủng *H. pylori* có gene *cagA* (+) (gấp 8,15 lần). Bên cạnh đó, kết quả cũng ghi nhận nhiễm chủng *H. pylori* mang tổ hợp *cagA* (+)/ *oipA* “bật” làm tăng nguy cơ VDDMCTUT lên gấp 3,03 lần, trong khi đó lại không ghi nhận mối liên quan với

viêm dạ dày mạn có tổn thương tiền ung thư khi nhiễm chủng *H. pylori* chỉ có *cagA* (+). Thế nên, kết quả nghiên cứu của chúng tôi bước đầu cho thấy có tác động hiệp đồng của hai gene *cagA* (+) và *oipA* “bật” trong sự phát triển loét dạ dày tá tràng và tổn thương tiền ung thư dạ dày.

#### 4.3.2.2. Mối liên quan giữa tổ hợp *cagA/ cagE/ oipA* và bệnh viêm loét dạ dày tá tràng

Kết quả ghi nhận nhiễm chủng *H. pylori* mang tổ hợp gene *cagA* (+)/ *cagE* (+)/ *oipA* “bật” làm tăng nguy cơ LDDTT lên gấp 11,67, cao hơn so với nhiễm chủng *H. pylori* có gene *cagA* (+) hoặc *cagE* (+) (gấp 8,15 lần), và tăng nguy cơ VDDMCTUT lên gấp 2,61 lần trong khi lại không ghi nhận mối liên quan với VDDMCTUT khi nhiễm chủng *H. pylori* chỉ có *cagA* (+) hoặc *cagE* (+). Kết quả nghiên cứu của chúng tôi bước đầu chỉ ra có sự phối hợp chặt chẽ của ba gene *cagA* (+), *cagE* (+) và *oipA* “bật” trong sự phát triển loét dạ dày tá tràng và tổn thương tiền ung thư dạ dày.

#### 4.3.2.3. Mối liên quan giữa *cagA/ babA2*, *oipA/ babA2*, *cagA/ cagE/ babA2* và viêm loét dạ dày tá tràng

Nghiên cứu chưa ghi nhận mối liên quan giữa các tổ hợp gene *cagA* (+)/ *babA2* (+), *oipA* “bật”/ *babA2*(+), *cagA*(+)/ *cagE*(+)/ *babA2*(+) với LDDTT và VDDMCTUT, cần thêm các nghiên cứu quy mô lớn để tiếp tục khảo sát về mối liên quan giữa các tổ hợp gene này và bệnh dạ dày tá tràng.

### HẠN CHẾ CỦA ĐỀ TÀI

Do giới hạn về điều kiện nghiên cứu, ở các bệnh nhân viêm dạ dày chúng tôi chỉ sinh thiết 2 mẫu mô niêm mạc dạ dày để xét nghiệm mô bệnh học. Bên cạnh đó, chúng tôi chưa khảo sát

các týp dị sản ruột, và chưa ghi nhận các trường hợp loạn sản độ cao. Thế nên, chúng tôi chưa đánh giá được tần suất cũng như mối liên quan giữa các gene trong nghiên cứu và các tổn thương dị sản ruột không hoàn toàn hoặc loạn sản độ cao.

## KẾT LUẬN

### 1. Các gene và tổ hợp gene *oipA*, *babA2*, *cagE* và *cagA* của *Helicobacter pylori* ở bệnh nhân viêm, loét dạ dày tá tràng

- Tỷ lệ chủng *H. pylori* mang gene *oipA* “bật” là 96%. Phân tích vùng trình tự tín hiệu ở đầu 5’ của gene *oipA* ghi nhận có tổng cộng 25 mô hình CT lặp lại, với 19 mô hình của gene *oipA* “bật”, phổ biến nhất là mô hình “2+1+1+1” và “3+1”. Có 5 mô hình CT lặp mới của gene *oipA* “bật” được ghi nhận.

- Tỷ lệ chủng *H. pylori* mang gene *babA2* (+) là 74,6%.

- Tỷ lệ chủng *H. pylori* mang gene *cagA* (+) hoặc gene *cagE* (+) là 83,8%, tổ hợp gene *cagA* (+)/ *cagE* (+) là 82,7%.

- Tỷ lệ chủng *H. pylori* mang tổ hợp *cagA* (+)/ *cagE* (+)/ *oipA* “bật”/ *babA2* (+) là 67,6%.

### 2. Mối liên quan giữa các gene và tổ hợp gene *oipA*, *babA2*, *cagE* và *cagA* của *Helicobacter pylori* với bệnh viêm, loét dạ dày tá tràng

#### 2.1. Mối liên quan giữa từng gene *oipA*, *babA2*, *cagE* và *cagA* của *Helicobacter pylori* và bệnh viêm, loét dạ dày tá tràng

- Nhiễm chủng *H. pylori* có mang gene *oipA* “bật” làm tăng nguy cơ loét dạ dày tá tràng lên gấp 13,96 lần (95%CI: 1,5-1856,39) và tăng nguy cơ viêm dạ dày mạn có tổn thương tiền ung thư lên gấp 6,89 lần (95%CI: 1,28-37,27) so với nhiễm chủng mang *oipA* “tắt”.



- Chưa ghi nhận mối liên quan giữa chủng *H. pylori* có mang gene *babA2* (+) và loét dạ dày tá tràng hoặc viêm dạ dày mạn có tổn thương tiền ung thư.

- Nhiễm chủng *H. pylori* có mang gene *cagA* (+) làm tăng nguy cơ loét dạ dày tá tràng lên gấp 8,15 lần (95%CI: 1,67-39,71), nhưng không liên quan nguy cơ viêm dạ dày mạn có tổn thương tiền ung thư so với *cagA*(-).

- Nhiễm chủng *H. pylori* có mang gene *cagE* (+) làm tăng nguy cơ loét dạ dày tá tràng lên gấp 8,15 lần (95%CI: 1,67-39,71), nhưng không liên quan nguy cơ viêm dạ dày mạn có tổn thương tiền ung thư so với *cagE* (-).

## **2.2. Mối liên quan giữa các tổ hợp gene *oipA*, *babA2*, *cagE* và *cagA* của *H. pylori* với bệnh viêm loét dạ dày tá tràng**

- Nhiễm chủng *H. pylori* mang tổ hợp gene *cagA* (+)/ *cagE* (+) làm tăng nguy cơ loét dạ dày tá tràng lên gấp 8,15 lần (95%CI: 1,67-39,71) nhưng không liên quan nguy cơ viêm dạ dày mạn có tổn thương tiền ung thư so với nhiễm chủng mang các tổ hợp *cagA/cagE* còn lại.

- Nhiễm chủng *H. pylori* mang tổ hợp gene *cagA* (+)/ *oipA* “bật” làm tăng nguy cơ loét dạ dày tá tràng lên gấp 11,67 lần (95%CI: 2,44- 55,83) và tăng nguy cơ viêm dạ dày mạn có tổn thương tiền ung thư lên gấp 3,03 lần (95%CI: 1,28 – 7,17) so với nhiễm chủng *H. pylori* mang các tổ hợp *cagA/ oipA* còn lại.

- Nhiễm chủng *H. pylori* mang tổ hợp gene *cagA* (+)/ *cagE* (+)/ *oipA* “bật” làm tăng nguy cơ loét dạ dày tá tràng lên gấp 11,67 lần (95%CI: 2,44- 55,83) và tăng nguy cơ viêm dạ dày mạn có tổn thương tiền ung thư lên gấp 2,61 lần (95%CI: 1,12 -6,06) so với mang các tổ hợp *cagA/ cagE/ oipA* còn lại.

- Chưa ghi nhận mối liên quan giữa các tổ hợp gene *cagA* (+)/*babA2* (+), *oipA* “bật”/*babA2*(+), *cagA*(+)/*cagE*(+)/*babA2*(+) và nguy cơ loét dạ dày tá tràng hoặc viêm dạ dày mạn có tiền ung thư.

## **KIẾN NGHỊ**

Chúng tôi kiến nghị tiếp tục thực hiện các nghiên cứu quy mô lớn về các gene độc lực của *H. pylori*, đặc biệt là nhóm gene mã hóa các protein màng ngoài và các gene *cag* khác thuộc đảo sinh bệnh *cagPAI*, nhằm hiểu rõ hơn về tỷ lệ mang các gene độc lực này của vi khuẩn *H. pylori* tại Việt Nam. Ngoài ra, cần tiếp tục mở rộng đối tượng nghiên cứu ở các bệnh nhân ung thư dạ dày, các bệnh nhân có tổn thương tiền ung thư bao gồm dị sản ruột không hoàn toàn hoặc loạn sản độ cao nhằm khảo sát về mối liên quan giữa các gene mã hóa protein màng ngoài cũng như các gene *cag* khác với các tổn thương này.

Xuất phát từ kết quả nghiên cứu, ở các cơ sở y tế có điều kiện thực hiện các xét nghiệm sinh học phân tử, khi xác định được bệnh nhân nhiễm các chủng *H. pylori* mang tổ hợp gene *cagA* (+)/*oipA* “bật” hoặc *cagA* (+)/*cagE* (+)/*oipA* “bật” cần được điều trị triệt trừ *H. pylori* tích cực nhằm dự phòng tiến triển các tổn thương loét dạ dày tá tràng hoặc các tổn thương tiền ung thư dạ dày.

## CÁC CÔNG TRÌNH KHOA HỌC ĐÃ CÔNG BỐ LIÊN QUAN ĐẾN ĐỀ TÀI

**1. Thái Thị Hồng Nhung,** Nguyễn Thái Hòa, Nguyễn Thị Mai Ngân, Hà Thị Minh Thi (2023), “Nghiên cứu tỷ lệ mang gene *cagE* của vi khuẩn *Helicobacter pylori* và mối liên quan với bệnh lý dạ dày – tá tràng”, *Tạp chí Y Dược học - Trường Đại học Y Dược Huế*, tập 13, số 5, tr. 14-19.

**2. Thi Hong Nhung Thai,** Hong Phong Nguyen, Thi Hai Yen Nguyen, Thi Be Hai Nguyen, Thai Hoa Nguyen, Thi Mai Ngan Nguyen, Thi Minh Thi Ha (2023), “Genetic diversity of the *oipA* gene among *Helicobacter pylori* isolates and clinical outcome in Vietnam”, *Infection, Genetics and Evolution*, 112, 105438. doi: 10.1016/j.meegid.2023.105438.

**3. Thái Thị Hồng Nhung,** Nguyễn Thái Hòa, Nguyễn Hồng Phong, Nguyễn Thị Hải Yến, Nguyễn Thị Bé Hai, Nguyễn Thị Mai Ngân, Hà Thị Minh Thi (2023), “Nghiên cứu tỷ lệ mang gene *cagA* của vi khuẩn *Helicobacter pylori* và mối liên quan với bệnh lý dạ dày – tá tràng”, *Tạp chí Y Dược học Cần Thơ*, 67, tr.13-19.

**HUE UNIVERSITY  
UNIVERSITY OF MEDICINE AND PHARMACY**

**THAI THI HONG NHUNG**

**STUDY ON THE *oipA*, *babA2*, *cagE* AND *cagA*  
GENES OF *HELICOBACTER PYLORI* IN  
PATIENTS WITH GASTRITIS, PEPTIC  
ULCER DISEASE**

**Major: Internal medicine**

**Code: 9720107**

**SUMMARY OF MEDICAL DOCTORAL  
DISSERTATION**

**HUE – 2024**

The research was implemented at:  
**UNIVERSITY OF MEDICINE AND PHARMACY,  
HUE UNIVERSITY**

Supervisor: **Assoc. Prof. HA THI MINH THI**

Reviewer 1:

Reviewer 2:

Reviewer 3:

The thesis will be defended in front of Hue University's doctoral committee

At.....time.....date.....month.....20....

Thesis could be found in:

1. National Library of Vietnam
2. Hue's university learning resource center
3. Library of University of Medicine and Pharmacy, Hue University

## INTRODUCTION

### 1. Rationale for the study

The *Helicobacter pylori* (*H. pylori*) bacterium is the leading cause of chronic gastritis, peptic ulcers, and gastric cancer. Although the prevalence of *H. pylori* infection is relatively high (48.5%), in fact, only 10-20% of patients infected with *H. pylori* progress to peptic ulcers and 1-2% progress to gastric cancer. This could be explained by the differences in the virulence characteristics of *H. pylori* strains. Currently, in addition to the role of the *cagA* gene encoding the classic virulence factor *CagA*, the role of *cag* genes encoding proteins of the type IV secretion system (T4SS) and genes encoding outer membrane proteins of *H. pylori* has been mentioned. The *cagE* gene encodes the *CagE* protein of T4SS. The *babA2* gene encodes the BabA protein, the first identified adhesin of *H. pylori*. The *oipA* gene encodes the protein *OipA*, which has the functional status "on/off" depending on the number of CT repeats in the 5' region, regulated by the slipped strand mispairing mechanism. In Vietnam, there is no study on the four genes of the *oipA*, *babA2*, *cagE*, and *cagA* of *H. pylori*. Therefore, we conducted the study "Study on the *oipA*, *babA2*, *cagE*, and *cagA* genes of *Helicobacter pylori* in patients with gastritis, and peptic ulcer disease."

### 2. Research objectives

1. To determine the prevalence of the genes and the gene combinations of *oipA* "on/off", *babA2*, *cagE*, and *cagA* of *Helicobacter pylori* in patients with gastritis, peptic ulcer disease.

2. To investigate the association between each gene and the gene combinations of *oipA* "on/off," *babA2*, *cagE*, and *cagA* of *Helicobacter pylori* and gastritis, peptic ulcer disease.

### **3. Scientific and practical significance**

The study provides the prevalence of *oipA* “on/off”, *babA2*, *cagE*, and *cagA* genes of *H. pylori* strains and the association between them and gastritis, and peptic ulcer disease. The results provide information about *H. pylori* strains carrying highly virulent genes associated with an increased risk of peptic ulcers and chronic gastritis with precancerous lesions. This serves as one of the keys to the selective eradication of *H. pylori* to prevent the progression of severe gastroduodenal diseases.

### **4. New contributions of the thesis**

The study notes that the prevalence of *H. pylori* strains carrying the *oipA* "on" gene is 96.0%, *babA2* (+) is 74.6%, *cagE* (+) is 83.8%, and *cagA* (+) is 83.8%, contributing to a better understanding of the molecular characteristics of this bacterium in Vietnam.

The study provides information on *H. pylori* strains carrying high-virulence genes and gene combinations, which are associated with an increased risk of peptic ulcers and chronic gastritis with precancerous lesions, elucidating the role of these genes in the development of *H. pylori*-induced gastritis and peptic ulcer disease.

### **5. Thesis layout**

The thesis consists of 117 pages: 3 pages of introduction, 29 pages of literature overview, 24 pages of material and methods, 27 pages of study results, 31 pages of discussion, 2 pages of conclusion, and 1 page of recommendations. The thesis has 31 tables, 12 figures, 7 charts, and 141 references (20 documents in Vietnamese and 121 documents in English).

## **Chapter 1: LITERATURE OVERVIEW**

### **1.1. OVERVIEW OF *HELICOBACTER PYLORI***

#### ***1.1.1. Epidemiology***

The worldwide prevalence of *H. pylori* infection is 48.5%; in Vietnam, it ranges from 55.4% to 63.7%. Risk factors for *H. pylori* infection include low socioeconomic conditions. The transmission routes of *H. pylori* include oral-oral, fecal-oral, and gastric-oral routes.

#### ***1.1.2. The microbiological characteristics of H. pylori and methods for diagnosing Helicobacter pylori infection***

##### ***1.1.2.1. The microbiological characteristics of H. pylori***

*H. pylori* is a Gram-negative bacterium, ranging from 2-4  $\mu\text{m}$  in length, curved or spiral-shaped, with 2-6 flagella at one end. *H. pylori* is a microaerophilic bacterium that grows slowly and requires specialized culture conditions in the laboratory.

##### ***1.1.2.2. Methods for diagnosing Helicobacter pylori infection***

\* *Invasive methods*: histology, culture, rapid urease test.

\* *Non-invasive methods*: ure breath test, stool antigen test, serology.

\* *Molecular biology method*: PCR: Polymerase chain reaction.

#### ***1.1.3. The pathogenic mechanism of H. pylori***

Four steps for colonization and pathogenesis of *H.pylori*: (1) Survival under acidic stomach conditions by urease (2) movement toward epithelium cells via flagella (3) binding to host receptors by adhesins; (4) causing tissue damage by toxin release.

#### ***1.1.4. The H. pylori-induced gastritis, peptic ulcer disease***

##### ***1.1.4.1. Chronic gastritis and precancerous lesions***



### *Definition of chronic gastritis*

Chronic gastritis (CG) is characterized by chronic damage of the gastric mucosal epithelium, which can lead to significant histopathological changes such as atrophy, intestinal metaplasia, and dysplasia, upon which gastric cancer may develop.

### *The H. pylori-induced gastric precancerous lesions*

The process of developing intestinal-type gastric cancer due to *H. pylori* infection, as described by Correa, progresses through a precancerous cascade: atrophy → intestinal metaplasia → dysplasia, and finally gastric carcinoma.

Gastric atrophy is a precancerous lesion characterized by histological changes with the presence of chronic inflammatory cells including lymphocytes and plasma cells in the lamina propria and loss of gastric glands.

Intestinal metaplasia represents a phenotypic change from the normal epithelial cell of the gastric mucosa to an intestinal phenotype.

Dysplasia is characterized by abnormalities in the morphology and structure of glands and glandular epithelial cells in the gastric mucosa. Histological changes include cytological atypia, glandular architectural distortion, and cytoplasmic differentiation.

### *1.1.4.2. The H. pylori-induced peptic ulcers*

Peptic ulcers (PU) are localized defects of the gastroduodenal mucosa, extending at least to the depth of the muscularis mucosa with a minimum diameter of 5mm, diagnosed through endoscopy. *H. pylori* infection is associated with approximately 70% of gastric ulcers and 80% of duodenal ulcers.

## **1.2. THE GENES of *oipA* "on/off", *babA2*, *cagE*, AND *cagA* OF *HELICOBACTER PYLORI***

### *1.2.2. The *oipA* gene and *OipA* protein*

The outer inflammatory protein A (*OipA*) is a pro-inflammatory and adhesin of *H. pylori*. The *oipA* gene encodes the outer membrane protein *OipA*, which has an "on/off" status depending on the number of CT (C (cytosine), T (thymine)) repeats in the 5' region of the gene, regulated by the slipped strand mispairing mechanism. The pattern of CT repeats is geographically specific. The *oipA* "on" gene encodes the functional *OipA* protein, serves as an adhesin, and increases interleukin- 8 (IL-8) production. The *oipA* "on" gene has been shown by several studies associated with an increased risk for peptic ulcers (PU) and gastric cancer.

### *1.2.2. The *babA2* gene and *BabA* Protein*

The BabA protein (BabA: blood group antigen binding adhesin) with a molecular weight of 75-80 kDa, is the first identified adhesin of *H. pylori*. The *babA2* gene encodes the BabA protein. The *babA2* gene is shown to be associated with an increased risk of peptic ulcers (PU) in Western countries; however, this association has not been identified in East Asian countries. Additionally, some studies have reported that the *babA2* gene is associated with an increased risk of intestinal metaplasia and gastric cancer.

### *1.2.3 The *cagE* gene and *CagE* Protein*

The *CagE* protein is a component of the type IV secretion system (T4SS) of the Cag pathogenicity island (CagPAI). The *cagE* gene encodes the *CagE* protein. The *cagE* gene is often

considered a gene marker of the presence of *cagPAI*, which has been reported to be associated with severe gastroduodenal diseases.

#### *1.2.4. The cagA gene and CagA Protein*

The *CagA* protein is the main virulence factor of *H. pylori*, encoded by the *cagA* gene located at the 3' end of the *cag* pathogenicity island (*cagPAI*). The *cagA* gene has been reported to be associated with peptic ulcers (PU) and gastric cancer (GC).

### **1.3. THE INTERNATIONAL AND DOMESTIC STUDIES**

#### *1.3.1. The international studies*

In 2012, Sahara found that the *cagA*(+) gene was related to an increased risk of PU (OR= 2.83, 95%CI: 1.50 - 5.34, p = 0.001).

In 2013, Liu observed a significant association between the *oipA* "on" gene and an increased risk of PU (OR = 3.97, 95%CI: 2.89-5.45) and GC (OR = 2.43, 95%CI: 1.45-4.07).

In 2017, Khatoon found that the prevalence of *cagA*(+) and *cagE*(+) genes was 73% and 83%, respectively. The *cagE*(+) gene increased the risk of PU by 5 times (95%CI: 2.31–8.22) and GC by 3 times (95%CI: 1.82–6.13).

In 2020, Bartpho identified that the *babA2*(+) gene was not associated with an increased risk of precancerous gastric lesions.

#### *1.3.2. The domestic studies*

In 2010, Nguyen Lam Tung studied in Hanoi and Ho Chi Minh City and found that the prevalence of the *cagA*(+) gene, *cagE*(+) gene, and *oipA* "on" gene was 95%, 88%, and 100%, respectively.

In 2021, Nguyen Thi Mai Ngan conducted a study in Hue and found that the prevalence of the *cagA*(+) gene was 80%. There

was no association between the *cagA* gene and gastroduodenal diseases.

## **Chapter 2: STUDY OBJECTS AND METHODS**

### **2.1. STUDY OBJECTS**

Patients with gastritis, peptic ulcer disease infected with *H. pylori* met the inclusion and exclusion criteria from May 2021 to October 2022 at Can Tho University of Medicine and Pharmacy Hospital.

#### **2.1.1. Inclusion criteria**

- Patients have clinical symptoms of gastroduodenal diseases such as epigastric pain, burning, nausea, vomiting, regurgitation, sour belching, bloating, indigestion, and loss of appetite.
- Patients diagnosed with gastritis and peptic ulcer disease, including:
  - Chronic gastritis is confirmed by inflammatory lesions on endoscopic images and chronic inflammation in histopathological assessment.
  - Peptic ulcer disease is confirmed by ulcerative lesions in the stomach and/or duodenum on endoscopic images.
- Patients had a positive diagnosis for *H. pylori* infection in both rapid urease test and culture methods.

#### **2.1.2. Exclusion criteria**

- Patients consumed Histamine H2 receptor antagonists or proton pump inhibitors for the preceding two weeks and antibiotics or bismuth for four weeks before endoscopy.
- Patients had a history of upper gastrointestinal surgery or bleeding disorder.
- DNA extracted from isolated *H. pylori* strains was insufficient for the quality and quantity requirements for molecular biological testing.

- Patients have bad sequencing results of the *oipA* gene or incompatible PCR results for *cagA*, *cagE*, and *cagPAI*-empty.

## 2.2. STUDY METHODS

**2.2.1. Study design:** a cross-sectional study.

**2.2.2. Sample size:** The minimum required sample size was calculated using the formula:

$$n \geq \frac{Z_{1-\alpha/2}^2 \times P(1-P)}{d^2}$$

with  $Z(1-\alpha/2)=1.96$  with  $\alpha = 0.05$ , absolute error  $d = 0.08$ ,  $p=0.5$ , the calculated sample size  $\geq 151$ . The actual sample size was 173 patients.

### 2.2.3. Research procedure

- Patients referred for upper gastrointestinal endoscopy at the Centre of Endoscopy - Interventional Endoscopy, Can Tho University of Medicine and Pharmacy Hospital, were counseled and voluntarily consented to participate in the study.

- An upper gastrointestinal endoscopy was performed to record gastritis or peptic ulcers, and two gastric biopsy samples were taken for a rapid urease test and *H. pylori* culture. Patients with endoscopic gastritis had two additional gastric biopsies for histopathological examination.

- Patients with positive rapid urease test results continued with culture *H. pylori* in the Department of Microbiology, Can Tho University of Medicine and Pharmacy. *H. pylori* was identified using Gram staining and urease, catalase, and oxidase tests.

- Isolated *H. pylori* strains were stored in TE Buffer solution at  $-20^{\circ}\text{C}$  and then transferred to the Molecular Genetics Laboratory - Department of Medical Genetics, University of Medicine and Pharmacy, Hue University for DNA extraction

and then, PCR performed using specific primers for *H. pylori* (*ureC*), and *oipA*, *babA2*, *cagE*, and *cagA* genes.

- The *oipA* gene "on/off" status was determined using the Sanger sequencing of the region containing the CT repeats.

#### **2.2.4. Study variables**

Study variables were defined and listed in detail.

#### **2.2.5. The procedures and techniques used in the study**

The procedures and techniques used were described in detail.

#### **2.2.6. Data analysis**

The data were analyzed using SPSS 26.0 and R Statistical Environment v4.2.2. Quantitative variables were described using means with standard deviations, while categorical variables were described using frequencies and percentages. The chi-square test or Fisher's exact test was used to compare proportions' differences. Odds ratios (OR) and their 95% confidence intervals (95% CI) were calculated in univariate binary logistic regression analysis to investigate the association between genes or gene combinations and gastritis, peptic ulcer disease. Firth logistic regression analysis was used when the distribution of gastritis, peptic ulcer disease according to the studied genes had frequencies as 0, because, in such cases, binary logistic regression could not provide finite values of OR and 95% CI, and with sparse data, substantial fluctuations seen in the 95% CI estimates. Statistical significance was considered when  $p < 0.05$ .

#### **2.2.7. Study Ethics**

The study was approved by the Biomedical Research Ethics Committee, Hue University of Medicine and Pharmacy, Hue University, with code H2021/389.

## Chapter 3: RESULTS

### 3.1. General Characteristics of the Study Sample

#### 3.1.1. Age, Gender, Smoking

The mean age of the studied patients was  $42.60 \pm 15.10$  years. The age group  $\geq 40$  accounted for the majority (53.2%). Males comprised 49.1%. Patients with smoking accounted for 20.2%.

#### 3.1.2. The characteristics of gastritis, peptic ulcer disease

##### 3.1.2.1. The distribution of gastritis, peptic ulcer disease

In 173 studied patients, chronic gastritis with precancerous lesions accounted for 53.7%; peptic ulcers accounted for 24.3%; chronic gastritis without precancerous lesions accounted for 22.0%.

##### 3.1.2.2. The association between age group and gender and gastritis, peptic ulcer disease

There was a statistically significant difference in the distribution of age groups and gender among patients with gastritis, peptic ulcer disease ( $p < 0.05$ ).

#### 3.1.3. The clinical symptoms

The most common clinical symptom in patients was epigastric pain, accounting for 65.9%.

### 3.2. The *oipA* “on/off”, *babA2*, *cagE* and *cagA* GENES OF *HELICOBACTER PYLORI* IN PATIENTS WITH GASTRITIS, PEPTIC ULCER DISEASE

#### 3.2.1. The *oipA* gene of *H. pylori*

##### 3.2.1.1. The percentage of the *oipA* gene “on/off” status

The proportion of *H. pylori* strains carrying the *oipA* “on” gene accounted for 96.0%, and “off” was 4.0%.

### 3.2.1.2. *The CT repeat patterns of the oipA gene*

There were a total of 25 *CT repeat patterns* (19 "on" and 6 "off"). In the *oipA* "on" gene, the "2+1+1+1" (31.8%) and "3+1" patterns (26.0%) were common. There were 5 new *CT repeat patterns* identified in the *oipA* "on" gene.

### 3.2.2. *The babA2 gene of H. pylori*

The proportion of *H. pylori* strains carrying the *babA2* (+) gene accounted for 74.6%.

### 3.2.3. *The cagE and cagA genes of H. pylori*

The proportion of *H. pylori* strains carrying the *cagE* (+) or *cagA* (+) gene accounted for 83.8%.

### 3.2.4. *The association between the genes of oipA "on/off", babA2, cagE, and cagA của H. pylori*

There was a significant association between the *cagA* gene and the *babA2*, *oipA* "on/off", and *cagE* genes ( $p < 0.05$ ). There was no association between the *oipA* "on/off" gene and the *babA2* gene ( $p > 0.05$ ).

### 3.2.5. *The association between the genes of oipA "on/off", babA2, cagE, and cagA of H. pylori and age group and gender*

There was no association between the genes of *oipA* "on/off", *babA2*, *cagE*, and *cagA* of *H. pylori* and age group and gender ( $p > 0.05$ ).

## 3.3. THE ASSOCIATION BETWEEN GENES OR GENE COMBINATIONS OF *oipA* "on/off", *babA2*, *cagE* and *cagA* OF *HELICOBACTER PYLORI* AND GASTRITIS, PEPTIC ULCER DISEASE

### 3.3.1. *The association between each gene of oipA "on/off", babA2, cagE, and cagA of H. pylori and gastritis, peptic ulcer disease*



3.3.1.1. *The association between the oipA “on/off” and gastritis, peptic ulcer disease*

**Table 3.15.** The association between the *oipA* "on/off" gene and gastritis, peptic ulcer disease in logistic regression analysis

Gene <i>oipA</i>	PU vs. CGNPL		CGWPL vs. CGNPL	
	OR (95%CI)	p*	OR (95%CI)	p
“off”	1		1	
“on”	13.96 (1.49-1856.39)	<b>0.016*</b>	6.89 (1.28-37.27)	<b>0.025</b>

Notes: chronic gastritis with non-precancerous lesions (CGNPL) was the reference group. CGWPL: chronic gastritis with precancerous lesions, PU: peptic ulcers.\* Analyzing using Firth logistic regression with the "logistf" package in R

The *oipA* “on” gene of *H. pylori* was associated with a 13.96-fold increased risk of PU and a 6.89-fold increased risk of CGWPL.

3.3.1.2. *The association between the babA2 gene and gastritis, peptic ulcer disease*

**Table 3.17.** The association between the *babA2* gene and gastritis, peptic ulcer disease in logistic regression analysis

<i>babA2</i> gene	PU vs. CGNPL		CGWPL vs. CGNPL	
	OR (95%CI)	p	OR (95%CI)	p
<i>babA2</i> (-)	1		1	
<i>babA2</i> (+)	0.89 (0.33 – 2.39)	0.822	1.15 (0.48 – 2.74)	0.748

Notes: chronic gastritis with non-precancerous lesions (CGNPL) was the reference group. CGWPL: chronic gastritis with precancerous lesions, PU: peptic ulcers

There was no association between the *babA2* (+) gene and PU or CGWPL.

3.3.1.3. *The association between the cagA, cagE gene and gene combination cagA/ cagE and gastritis, peptic ulcer disease*

**Table 3.19.** The association between the *cagA, cagE* gene, and *cagA/ cagE* and gastritis, peptic ulcer disease in logistic regression analysis

Gene	PU vs. CGNPL		CGWPL vs. CGNPL	
	OR (95%CI)	P	OR (95%CI)	P
<b>Gene cagA</b> <i>cagA</i> (-)	1		1	
<i>cagA</i> (+)	8,15 (1.67-39.71)	<b>0.009</b>	2.12 (0.87-5.17)	0.099
<b>Gene cagE</b> <i>cagE</i> (-)	1		1	
<i>cagE</i> (+)	8.15 (1.67-39.71)	<b>0.009</b>	2.12 (0.87-5.17)	0.099
<b><i>cagA/ cagE</i></b> <i>Other cagA/ cagE</i>	1		1	
<i>cagA</i> (+)/ <i>cagE</i> (+)	8.15 (1.67-39.71)	<b>0.009</b>	1.82 (0.76-4.38)	0.180

Notes: chronic gastritis with non-precancerous lesions (CGNPL) was the reference group. CGWPL: chronic gastritis with precancerous lesions, PU: peptic ulcers

The *cagA* (+), *cagE* (+), or *cagA* (+)/ *cagE* (+) of *H. pylori* was associated with an 8.15-fold increased risk of PU, but not associated with CGWPL.

3.3.2. *The association between the gene combinations of oipA, babA2, cagE và cagA and gastritis, peptic ulcer disease*

3.3.2.1. *The association between the cagA/ oipA and gastritis, peptic ulcer disease*

**Table 3.22.** The association between the *cagA/ oipA* of *H. pylori* and gastritis, peptic ulcer disease in logistic regression analysis

<i>cagA/ oipA</i>	PU vs. CGNPL		CGWPL vs. CGNPL	
	OR (95%CI)	P	OR (95%CI)	P
<i>Other cagA/ oipA</i>	1		1	
<i>cagA (+)/oipA</i> “bật”	11.67 (2.44 – 55.83)	<b>0.002</b>	3.03 (1.28 – 7.17)	<b>0.011</b>

Notes: chronic gastritis with non-precancerous lesions (CGNPL) was the reference group. CGWPL: chronic gastritis with precancerous lesions, PU: peptic ulcers

The *cagA (+)/oipA* “on” of *H. pylori* was associated with an 11.67-fold increased risk of PU and a 3.03-fold increased risk of CGWPL.

3.3.2.2. *The association between the cagA/ cagE/ oipA and gastritis, peptic ulcer disease*

**Table 3.28.** The association between the *cagA/cagE/oipA* and gastritis, peptic ulcer disease in logistic regression analysis

<i>cagA/ cagE/ oipA</i>	PU vs. CGNPL		CGWPL vs. CGNPL	
	OR(95%CI)	p	OR (95%CI)	p
<i>OthercagA/cagE/oipA</i>	1		1	
<i>cagA (+)/cagE (+)/</i> <i>oipA</i> “bật”	11,67 (2.44- 55.83)	<b>0.002</b>	2.61 (1.12 -6.06)	<b>0.026</b>

Notes: chronic gastritis with non-precancerous lesions (CGNPL) was the reference group. CGWPL: chronic gastritis with precancerous lesions, PU: peptic ulcers

The *cagA (+)/ cagE (+)/ oipA* “on” of *H. pylori* was associated with an 11.67-fold increased risk of peptic ulcers and a 2.61-fold increased risk of chronic gastritis with precancerous lesions.

*3.3.2.3. The association between the cagA/ babA2, oipA/ babA2, cagA/ cagE/ babA2 and gastritis, peptic ulcer disease*

There was no association between gene combinations of *cagA* (+)/ *babA2* (+), *oipA* “on”/ *babA2*(+), *cagA*(+)/ *cagE*(+)/ *babA2*(+) with peptic ulcers or chronic gastritis with precancerous lesions ( $p > 0.05$ ).

## **Chapter 4: DISCUSSION**

### **4.1. General Characteristics of the Study Sample**

#### ***4.1.1. Age, Gender, Smoking***

The mean age was  $42.6 \pm 15.1$ , higher than Dang Ngoc Quy Hue's study (2018). The age group  $\geq 40$  was 53.2%, with males comprising 49.1%, similar to the findings of Nguyen Thi Mai Ngan (2021). 20.2% of patients were smokers, higher than the findings of Dang Ngoc Quy Hue (2018).

#### ***4.1.2. The characteristics of gastritis, peptic ulcer disease***

##### ***4.1.2.1. The distribution of gastritis, peptic ulcer disease***

The rate of peptic ulcer (PU) (24.3%) was similar to Nguyen Thi Mai Ngan's (24.3%) and lower than Ha Thi Minh Thi's (28.1%). The percentage of chronic gastritis with precancerous lesions (CGWPL) was 53.7%, relatively high and similar to the findings of Nguyen Quang Chung's study (2007).

##### ***4.1.2.2. The association between age group and gender and gastritis, peptic ulcer disease***

There was an association between age group and gender with gastritis, peptic ulcer disease. Patients in the age group  $\geq 40$  and males had a higher rate in the PU group, consistent with Nguyen Thi Mai Ngan (2021) and Farzi (2018).

### **4.1.3. The clinical symptoms**

The epigastric pain is the most common symptom, similar to findings by Dang Ngoc Quy Hue (2018) and Nguyen Thi Mai Ngan (2021).

## **4.2. The *oipA* “on/off”, *babA2*, *cagE* and *cagA* GENES OF *HELICOBACTER PYLORI***

### **4.2.1. The *oipA* gene of *H. pylori***

#### **4.2.1.1. The percentage of the *oipA* gene “on/off” status**

The prevalence of the *oipA* “on” gene of *H. pylori* was 96%, similar to studies in East Asia reporting over 90%, such as Zhao (2020) in China (100%) and Kim (2021) in South Korea (98.7%). However, this result is higher than some studies in Western countries, such as Dossumbekova (2006) in Germany (59%) and Braga (2019) in Brazil (81.1%). This indicates geographical variations in the prevalence of *oipA* “on” gene of *H. pylori*.

#### **4.2.1.2. The CT repeat patterns of the *oipA* gene**

The 19 CT repeat patterns of the *oipA* “on” gene were noted, higher than that of studies in other East Asian and Western countries, which may be due to geographical genetic variations of *H. pylori*. The most common CT repeat patterns of the *oipA* “on” gene are “2 + 1 + 1 + 1” and “3 + 1”, consistent with other studies in East Asia, different from studies in Western countries. Furthermore, five new CT repeat patterns of the *oipA* “on” gene of *H. pylori* were noted. Our results noted geographical differences in CT repeat patterns of the *oipA* “on” gene.

### **4.2.2. The *babA2* gene of *H. pylori***

The rate of the *babA2* (+) gene is 74.6%, lower than some studies in Asia, such as Lee's study (2021) in South Korea (79%) or Azizimoghaddam's study (2023) in Iran (97.1%). However,

the results are higher than Bucci's study (2023) in Argentina (53%) or Molina-Castro's study (2019) in Costa Rica (44%). The results show the rate of *babA2* (+) gene in Vietnam, and the molecular characteristics of *H. pylori* that differ geographically.

#### **4.2.3. The *cagE* and *cagA* genes of *H. pylori***

##### *\* The *cagE* gene*

The proportion of the *cagE* (+) gene is 83.8%, similar to Khatoon's study (2017) in India (83%), lower than Chomvarin's study (2008) in Thailand (88.4%). However, the results are higher than El Khadir's study (2021) in Morocco (55%) or Lima's study (2011) in Brazil (53.2%). The initial results indicate a high proportion of the *cagE* (+) gene in *H. pylori* strains in Vietnam.

##### *\* The *cagA* gene*

The rate of the *cagA* (+) gene is 83.8%, similar to Tserentogtokh's study (2019) in Mongolia (83.1%) but lower than Xue's study (2020) in China (97%). Besides, our result is higher than Idowu's study (2019) in South Africa (62%) or Kishk's study (2019) in Egypt (53%). Compared with some domestic studies, the results are similar to Phan Trung Nam's study (2017) in Hue (84%), and lower than Pham Hong Khanh's study (2021) in Hanoi (98.6%). The difference in the rate of the *cagA* (+) gene among regions in Vietnam demonstrates the high genetic diversity of *H. pylori*.

#### **4.2.4. The association between the genes of *oipA* “on/off”, *babA2*, *cagE*, and *cagA* của *H. pylori***

The study noted a significant relationship between the *cagA* gene and the *oipA*, *babA2*, and *cagE* genes of *H. pylori*, similar to findings by Dabiri (2017) and Farzi (2018). No association

between the *babA2* (+) gene and the *oipA* "on" gene was observed, differing from Dossumbekova (2006). This difference may be due to geographical variations in the molecular characteristics of *H. pylori* and further larger-scale studies are needed to understand better the relationship between these two adhesin-encoding genes of *H. pylori* in Vietnam.

**4.2.5. *The association between the genes of oipA “on/off”, babA2, cagE, and cagA of H. pylori and age group and gender***

We evaluated the relationship between the *oipA*, *babA2*, *cagE*, and *cagA* genes of *H. pylori* with the age groups and gender to identify the patient population at risk of infection with highly virulent strains of *H. pylori*. However, this relationship has not been observed in the study.

**4.3. THE ASSOCIATION BETWEEN GENES OR GENE COMBINATIONS OF *oipA* “on/off”, *babA2*, *cagE* and *cagA* OF *HELICOBACTER PYLORI* AND GASTRITIS, PEPTIC ULCER DISEASE**

**4.3.1. *The association between each gene of oipA “on/off”, babA2, cagE, and cagA of H. pylori and gastritis, peptic ulcer disease***

**4.3.1.1. *The association between the oipA “on/off” gene and gastritis, peptic ulcer disease***

The results showed that the *oipA* "on" gene increased the risk of PU by 13.96 times (95% CI: 1.5-1856.39), consistent with the study by Yanovich (2022) but different from Singh's (2023). The relationship between *oipA* "on" gene of *H. pylori* and PU remains unclear. Although the wide range of the 95% CI of the odds ratio, explained by the relatively small sample size and univariate

analysis in our study, these initial results suggest an association between the *oipA* "on" gene of *H. pylori* and an increased risk of PU, providing a basis for larger-scale studies on the *oipA* "on/off" gene of *H. pylori* strains in Vietnam.

Furthermore, the *oipA* "on" gene was found to be associated with an increased risk of CGWPL, differing from the findings of Farzi (2018) and Zhao (2020). This difference could be attributed to geographical variations. Therefore, larger-scale research is needed to elucidate further the relationship between the *oipA* "on" gene and the risk of CGWPL in Vietnam.

#### 4.3.1.2. *The association between the babA2 gene and gastritis, peptic ulcer disease*

The study found no association between the *babA2*(+) gene and the risk of PU or CGWPL, consistent with Chen (2013) and Molina-Castro (2019). However, the results differ from Askari (2021) or Yu (2002). Currently, the relationship between *babA2* gene of *H. pylori* and gastroduodenal diseases remains inconsistent. Therefore, our preliminary results may contribute to understanding the role of the *babA2* gene in *H. pylori* strains in the development of gastroduodenal diseases in Vietnam.

#### 4.3.1.3. *The association between the cagA, cagE gene, and gene combination of cagA/ cagE and gastritis, peptic ulcer disease*

##### \* *cagE gene*

The results indicated that the *cagE*(+) gene increases the risk of PU, similar to Khatoon (2017) in India but different from GholizadeTobnagh (2016) in Iran. Our study did not find an association between the *cagE* gene and CGWPL. The relationship between the *cagE*(+) gene and the risk of CGWPL has not been



documented, with only a few studies reporting an association with an increased risk of gastric cancer but lacking inconsistency. Further large-scale studies are needed to understand better the relationship between the *cagE*(+) gene of *H. pylori* and the development of CGWPL in Vietnam.

\* *cagA* gene

The results showed that the *cagA* (+) gene increases the risk of PU, similar to Sahara (2012) but different from the study by Xue (2021) in China and Nguyen Thi Mai Ngan (2021) in Hue City. The study did not find an association between the *cagA* (+) gene and CGWPL, similar to Farzi (2018) in Iran. Overall, the relationship between the *cagA*(+) gene of *H. pylori* and PU and CGWPL remains inconsistent, particularly in Asian countries with a high rate of the *cagA*(+) gene.

**4.3.2. The association between the gene combinations of *oipA*, *babA2*, *cagE*, and *cagA* and gastritis, peptic ulcer disease**

**4.3.2.1. The association between the gene combination of *cagA/oipA* and gastritis, peptic ulcer disease**

The study found that the *cagA*(+) and *oipA* "on" increased the risk of PU by 11.67 times, higher than the *cagA*(+) gene (8.15 times). Additionally, the results also observed that the gene combination of the *cagA*(+) and *oipA* "on" increased the risk of CGWPL by 3.03 times, while no association between the *cagA*(+) gene and CGPLW. Therefore, our preliminary results indicate a synergistic effect of the two genes of *cagA*(+) and *oipA* "on" in the development of PU and CGWPL.

**4.3.2.2. The association between the gene combination of *cagA/cagE/oipA* and gastritis, peptic ulcer disease**

The results indicate that the *cagA(+)/cagE(+)/oipA "on"* increased the risk of PU by 11.67 times, higher than the *cagA(+)* or *cagE(+)* genes (8.15 times). Additionally, it increased the risk of CGWPL by 2.61 times, while no association between the *cagA(+)* or *cagE(+)* genes and CGPLW. Our preliminary findings suggest close coordination of the three genes of *cagA(+)*, *cagE(+)*, and *oipA "on,"* in the development of PU and CGWPL.

*4.3.2.3. The association between the gene combination of cagA/ babA2, oipA/ babA2, and cagA/ cagE/ babA2 and gastritis, peptic ulcer disease*

The study did not find any association between the gene combinations of *cagA(+)/babA2(+)*, *oipA"on"/babA2(+)*, *cagA(+)/cagE(+)/babA2(+)* and PU or CGWPL. Further large-scale studies are needed to investigate the relationship between these gene combinations and gastroduodenal diseases.

## **THE LIMITATION OF STUDY**

Due to limitations in the study conditions, we only take two gastric biopsies from patients with chronic gastritis for histopathological examinations. Besides, we did not evaluate the types of intestinal metaplasia or record high-grade dysplasia cases. Therefore, we have not assessed the frequency or relationship between *oipA*, *babA2*, *cagE*, and *cagA* genes and incomplete intestinal metaplasia or high-grade dysplasia.

## **CONCLUSIONS**

**1. The genes and the gene combinations of *oipA "on/off"*, *babA2*, *cagE*, and *cagA* of *Helicobacter pylori* in patients with gastritis, peptic ulcer disease**

The rate of the *oipA* "on" gene was 96%. A total of 25 CT repeat patterns, with 19 patterns of the *oipA* "on" gene, with the most common patterns being "2+1+1+1" and "3+1". Five new CT repeat patterns of the *oipA* "on" gene were identified.

The proportion of the *babA2* (+) gene was 74.6%.

The proportion of the *cagA* (+) or *cagE* (+) gene was 83.8%, and the *cagA* (+)/*cagE* (+) genes was 82.6%.

The proportion of the gene combination of *cagA* (+)/*cagE* (+)/*oipA* "on"/*babA2* (+) was 67.6%.

## **2. The association between each gene and the gene combinations of *oipA* "on/off," *babA2*, *cagE*, and *cagA* of *Helicobacter pylori* and gastritis, peptic ulcer disease**

### ***2.1. The association between each gene of *oipA* "on/off", *babA2*, *cagE*, and *cagA* of *H. pylori* and gastritis, peptic ulcer disease***

- The *oipA* "on" gene of *H. pylori* was associated with a 13.96-fold increased risk of peptic ulcers (95%CI: 1,5-1856,39) and a 6.89-fold increased risk of chronic gastritis with precancerous lesions (95%CI: 1,28-37,27).

- There was no association between the *babA2* (+) gene and peptic ulcers or chronic gastritis with precancerous lesions.

- The *cagA* (+) gene of *H. pylori* was associated with an 8.15-fold increased risk of peptic ulcers (95%CI: 1,67-39,71), but not associated with chronic gastritis with precancerous lesions.

- The *cagE* (+) gene of *H. pylori* was associated with an 8.15-fold increased risk of peptic ulcers (95%CI: 1,67-39,71), but not associated with chronic gastritis with precancerous lesions.

## **2.2. The association between the gene combinations of *oipA*, *babA2*, *cagE* và *cagA* and gastritis, peptic ulcer disease**

- The *cagA* (+)/*cagE* (+) gene combination of *H. pylori* was associated with an 8.15-fold increased risk of peptic ulcers (95%CI: 1,67-39,71), but not associated with chronic gastritis with precancerous lesions.

- The *cagA* (+)/*oipA* “on” gene combination of *H. pylori* was associated with an 11.67-fold increased risk of peptic ulcers (95%CI: 2.44- 55.83) and a 3.03-fold increased risk of chronic gastritis with precancerous lesions (95%CI: 1.28 – 7.17).

-The *cagA* (+)/*cagE* (+)/*oipA* “on” gene combination of *H. pylori* was associated with an 11.67-fold increased risk of peptic ulcers (95%CI: 2.44- 55.83) and a 2.61-fold increased risk of chronic gastritis with precancerous lesions (95%CI: 1.12 -6.06).

- There was no association between gene combinations of *cagA* (+)/*babA2* (+), *oipA* “on”/ *babA2*(+), *cagA*(+)/*cagE*(+)/*babA2*(+) and peptic ulcers or chronic gastritis with precancerous lesions.

## RECOMMENDATIONS

We suggest continuing large-scale studies on the virulence genes of *H. pylori*, especially genes encoding outer membrane proteins and other *cag* pathogenicity island genes, to understand better the prevalence of these virulence genes in *H. pylori* strains in Vietnam. Additionally, it is essential to expand the study population to include gastric cancer patients and patients with incomplete intestinal metaplasia or high-grade dysplasia to investigate the relationship between these virulence genes and these lesions.

Based on the research results, in medical facilities equipped to perform molecular biology tests, when identifying patients infected with *H. pylori* strains to carry the *cagA* (+)/ *oipA* “on” or *cagA* (+)/ *cagE* (+)/ *oipA* “on” gene combinations, aggressive eradication of *H. pylori* should be pursued to prevent the progression of peptic ulcer disease or precancerous gastric lesions.

## THE PUBLISHED ARTICLES RELATED TO THE STUDY

- 1. Thai Thi Hong Nhung, Nguyen Thai Hoa, Nguyen Thi Mai Ngan, Ha Thi Minh Thi** (2023), “The prevalence of the *cagE* gene of *Helicobacter pylori* and its association with gastroduodenal diseases”, *Hue Journal of Medicine and Pharmacy*, Volume 13, no. 5, pp. 14-19.
- 2. Thi Hong Nhung Thai, Hong Phong Nguyen, Thi Hai Yen Nguyen, Thi Be Hai Nguyen, Thai Hoa Nguyen, Thi Mai Ngan Nguyen, Thi Minh Thi Ha** (2023), “Genetic diversity of the *oipA* gene among *Helicobacter pylori* isolates and clinical outcome in Vietnam”, *Infection, Genetics and Evolution*, 112, 105438. doi: 10.1016/j.meegid.2023.105438.
- 3. Thai Thi Hong Nhung, Nguyen Thai Hoa, Nguyen Hong Phong, Nguyen Thi Hai Yen, Nguyen Thi Be Hai, Nguyen Thi Mai Ngan, Ha Thi Minh Thi** (2023), “The prevalence of the *cagA* gene of *Helicobacter pylori* and its association with gastroduodenal diseases”, *Can Tho Journal of Medicine and Pharmacy*, 67, pp.13-19.