

**BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO**

**BỘ Y TẾ**

**TRƯỜNG ĐẠI HỌC Y HÀ NỘI**



**PHẠM HUY TÀN**

**NGHIÊN CỨU ĐẶC ĐIỂM LÂM SÀNG, CẬN LÂM SÀNG  
VÀ ĐỊNH LƯỢNG NỒNG ĐỘ EBV-DNA HUYẾT TƯƠNG  
TRONG UNG THƯ VÒM MŨI HỌNG**

Chuyên ngành : Tai – Mũi – Họng

Mã số : 62720155

**TÓM TẮT LUẬN ÁN TIẾN SĨ Y HỌC**

**HÀ NỘI - 2018**

**CÔNG TRÌNH ĐƯỢC HOÀN THÀNH TẠI  
TRƯỜNG ĐẠI HỌC Y HÀ NỘI**

**Người hướng dẫn khoa học:**

- 1. PGS.TS. TRẦN VĂN KHÁNH**
- 2. GS.TS. NGUYỄN ĐÌNH PHÚC**

**Phản biện 1:**

**Phản biện 2:**

**Phản biện 3:**

Luận án sẽ được bảo vệ trước Hội đồng chấm luận án Tiến sỹ cấp Trường họp tại Trường Đại học Y Hà Nội.

*Vào hồi giờ ngày tháng năm 2018.*

Có thể tìm hiểu luận án tại:

- Thư viện Quốc gia Việt Nam
- Thư viện Trường Đại học Y Hà Nội

## **DANH MỤC CÁC CÔNG TRÌNH NGHIÊN CỨU ĐÃ CÔNG BỐ CÓ LIÊN QUAN ĐẾN LUẬN ÁN**

1. Phạm Huy Tần, Trần Huy Thịnh, Trần Thị Thúy Hằng, Nguyễn Đình Phúc, Trần Văn Khánh (2015). Nồng độ EBV - DNA huyết tương của bệnh nhân ung thư vòm mũi họng và mối tương quan với chẩn đoán giai đoạn TNM (tumor nodes metastasis). *Tạp chí nghiên cứu y học*, 95(3), 24-31.
2. Phạm Huy Tần, Trần Huy Thịnh, Trịnh Lê Huy, Phạm Thị Bích Đào, Nguyễn Đình Phúc, Trần Văn Khánh (2017). Khảo sát nồng độ EBV-DNA huyết tương sau điều trị của bệnh nhân ung thư vòm mũi họng và mối liên quan với mức độ đáp ứng. *Tạp chí y học thực hành*, 1044(6), 26-29.
3. Phạm Huy Tần, Trần Huy Thịnh, Nguyễn Thị Thu Hiền, Phạm Thị Bích Đào, Hồ Thị Kim Thanh, Trần Văn Khánh (2017). Sự thay đổi nồng độ EBV-DNA huyết tương của bệnh nhân ung thư vòm mũi họng trước và sau điều trị. *Tạp chí nghiên cứu y học*, 108(3), 104-110.

## ĐẶT VẤN ĐỀ

Ung thư vòm mũi họng (UTVMH) là ung thư thường gặp nhất vùng đầu cổ và mang tính khu vực. Ở Việt Nam, UTVMH là loại ung thư hay gặp nhất trong các ung thư vùng tai mũi họng và đứng hàng thứ 5 trong 10 loại ung thư phổ biến. UTVMH có liên quan đến nhiều yếu tố, đặc biệt là vai trò sinh bệnh học của Epstein Barr Virus (EBV) trong UTVMH. Nhiều công trình nghiên cứu trên thế giới đã khẳng định có mối liên quan giữa nồng độ EBV-DNA huyết tương với đáp ứng điều trị và tiên lượng bệnh.

Ở Việt Nam, đã có những nghiên cứu được thực hiện về ung thư vòm và EBV, tuy nhiên còn nhiều hạn chế. Chính vì vậy chúng tôi thực hiện đề tài **“Nghiên cứu đặc điểm lâm sàng, cận lâm sàng và định lượng nồng độ EBV-DNA huyết tương trong ung thư vòm mũi họng”** với 2 mục tiêu chính:

- 1. Mô tả đặc điểm lâm sàng, cận lâm sàng của ung thư vòm mũi họng.**
- 2. Định lượng nồng độ EBV-DNA huyết tương trước và sau điều trị, đánh giá mối liên quan với một số đặc điểm lâm sàng, cận lâm sàng và kết quả điều trị ung thư vòm mũi họng.**

### **Những đóng góp mới của Luận án:**

1. Nghiên cứu xác định được nồng độ EBV-DNA trung bình của bệnh nhân UTVMH tại Việt Nam.
2. Nghiên cứu tiến hành theo dõi nồng độ EBV-DNA của bệnh nhân UTVMH ở cả trước và sau điều trị để tìm ra sự thay đổi nồng độ EBV-DNA ở bệnh nhân ung thư vòm mũi họng.

3. Nghiên cứu đã chứng minh được mối liên quan giữa nồng độ EBV-DNA huyết tương với giai đoạn bệnh theo T, N và tổng hợp giai đoạn theo TNM, nồng độ EBV-DNA cũng là yếu tố đóng vai trò quan trọng trong việc xác lập thể tích điều trị xạ trị.
4. Nghiên cứu đã chứng minh được mối liên quan giữa nồng độ EBV-DNA huyết tương với đáp ứng điều trị và tiên lượng của bệnh nhân ung thư vòm mũi họng tại Việt Nam.
5. Việc xác định nồng độ EBV-DNA huyết tương đã đóng góp vào hệ thống phân loại chẩn đoán TNM mới nhất hiện nay.

### **Bố cục của Luận án:**

Luận án có 118 trang, bao gồm các phần: đặt vấn đề (2 trang), tổng quan (37 trang), đối tượng và phương pháp nghiên cứu (14 trang), kết quả (30 trang), bàn luận (32 trang), kết luận (2 trang), kiến nghị (1 trang). Luận án có 49 bảng, 19 hình. 123 tài liệu tham khảo trong đó có tài liệu tiếng Việt, tài liệu tiếng Anh.

## **Chương 1**

### **TỔNG QUAN TÀI LIỆU**

#### **1.1. Giải phẫu vòm họng và hạch vùng cổ**

*1.1.1. Sơ lược giải phẫu vòm họng*

*1.1.2. Giải phẫu hạch cổ*

#### **1.2. Dịch tế học ung thư vòm mũi họng**

*1.2.1. Tỷ lệ mắc bệnh*

*1.2.2. Yếu tố nguy cơ*

### **1.3. Chẩn đoán ung thư vòm mũi họng**

#### **1.3.1. Chẩn đoán lâm sàng**

##### *1.3.1.1. Triệu chứng cơ năng*

###### **❖ Các dấu hiệu sớm**

Thường nghèo nàn, bệnh nhân thường không để ý, dễ bỏ qua.

###### **❖ Các dấu hiệu muộn**

Do khối u phát triển tại chỗ và xâm lấn lan rộng gây ra: Triệu chứng về hạch cổ; Triệu chứng về mũi; Triệu chứng về tai; Triệu chứng về mắt; Triệu chứng thần kinh sọ não.

##### *1.3.1.2. Thăm khám lâm sàng*

\* Nội soi tai mũi họng: Nội soi tai mũi họng kết hợp sinh thiết đóng một vai trò to lớn trong chẩn đoán UTMH.

\* Thăm khám hạch cổ

\* Thăm khám các dây thần kinh sọ

\* Thăm khám toàn trạng

#### **1.3.2. Chẩn đoán cận lâm sàng**

##### *1.3.2.1. Chẩn đoán hình ảnh*

\* *X-quang quy ước*

\* *Chụp cắt lớp vi tính sọ não; Chụp cộng hưởng từ:* Giúp đánh giá chính xác vị trí, kích thước, mức độ xâm lấn của khối ung thư vòm. Ngoài ra còn giúp đánh giá tổn thương di căn xa ở phổi, não, gan...

\* *Siêu âm vùng cổ:* Phát hiện các tổn thương hạch vùng cổ và hướng dẫn chọc dò sinh thiết hạch.

\* *Chụp SPECT, PET/CT:* Giúp phát hiện các thay đổi về bệnh học ở mức độ chuyển hóa phân tử

\* *Các xét nghiệm khác*

##### *1.3.2.2. Chẩn đoán EBV: Định liều tải lượng virus huyết thanh:*

*1.3.2.3. Chẩn đoán giải phẫu bệnh lý:* Hay gặp nhất là ung thư biểu mô không biệt hóa

***1.3.3. Chẩn đoán xác định dựa vào kết quả mô bệnh học***

***1.3.4. Chẩn đoán giai đoạn***

*Chẩn đoán giai đoạn theo phân loại AJCC7th 2010*

**1.4. Nguyên tắc điều trị**

Điều trị UTMVH cũng giống như các bệnh ung thư khác là điều trị đa mô thức tùy thuộc vào giai đoạn bệnh

- ❖ Giai đoạn sớm: Xạ trị là phương pháp điều trị chính
- ❖ Giai đoạn trung gian và giai đoạn tiến triển: phác đồ hóa xạ trị đồng thời.
- ❖ Giai đoạn di căn: Điều trị hóa chất toàn thân

**1.5. Virus EBV và ung thư vòm mũi họng**

***1.5.1. Cấu tạo virus EBV***

EBV là một virus trong nhóm gammaherpesvirus, cấu trúc gồm 4 phần (nhân chứa vật chất di truyền; vỏ protein; vỏ trung gian; vỏ ngoài)

***1.5.2. Giả thuyết về cơ chế bệnh sinh EBV và UTMVH***

*1.5.2.1. EBV như là một yếu tố phát sinh và phát triển UTMVH*

*1.5.2.2. Nhiễm EBV của tế bào biểu mô.*

*1.5.2.3. Biểu lộ EBV ở khối u vòm họng*

*1.5.2.4. Sinh học phân tử và sắp xếp gen của EBV trong UTMVH*

***1.5.3. Các kỹ thuật sinh học phân tử xác định EBV***

***1.5.3.1. Kỹ thuật PCR (Polymerase Chain Reaction)***

Nguyên tắc của phản ứng PCR dựa trên cơ sở tính chất biến tính, hồi tính của DNA và nguyên lý tổng hợp DNA nhờ hoạt tính của các DNA polymerase.





### *1.5.3.2. Kỹ thuật PCR định lượng (Realtime-PCR)*

Kỹ thuật PCR định lượng (real-time PCR) là phản ứng khuếch đại gen mà sản phẩm khuếch đại của phản ứng được hiển thị và có thể xác định được ngay trong quá trình phản ứng thông qua hệ thống nhận biết của máy.

### ***1.5.4. Ứng dụng chẩn đoán và điều trị dựa trên mối liên quan giữa EBV và UTMH***

#### *1.5.4.1. Ứng dụng trong chẩn đoán*

Các nghiên cứu gần đây trên thế giới đều đang hy vọng dùng các test để sàng lọc và phát hiện sớm ung thư vòm mũi họng thông qua các test với EBV.

#### *1.5.4.2. Ứng dụng trong điều trị bệnh*

- a) Nồng độ EBV là yếu tố tiên lượng trước điều trị*
- b) Nồng độ EBV trước, trong và sau điều trị*
- c) Điều trị miễn dịch dựa trên EBV*

## **Chương 2**

### **ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU**

#### **2.1. Đối tượng nghiên cứu**

Đối tượng nghiên cứu gồm 119 bệnh nhân được chẩn đoán và điều trị Ung thư vòm mũi họng tại bệnh viện K, Bệnh viện Đại Học Y Hà Nội và trung tâm Gen Protein Trường Đại học Y Hà Nội.

##### ***2.1.1. Tiêu chuẩn lựa chọn bệnh nhân***

- + Có chẩn đoán xác định dựa vào tiêu chuẩn vàng của chẩn đoán mô bệnh học là ung thư vòm mũi họng.

- + Có chẩn đoán tổn thương vòm và lan tràn rộng khối u trên phim chụp CT scan hoặc MRI vòm mũi họng theo quy chuẩn.
- + Có chẩn đoán lâm sàng qua nội soi vòm mũi họng, sinh thiết vòm dưới nội soi, thăm khám hạch cổ, thần kinh sọ và toàn thân.
- + Chẩn đoán phát hiện di căn xa qua siêu âm, hình ảnh và PET-CT.
- + Định lượng nồng độ EBV-DNA huyết tương trước và sau điều trị.
- + Được phân loại giai đoạn bệnh theo TNM - AJCC 2010.
- + Điều trị đầy đủ theo phác đồ của Bệnh viện K trong giai đoạn 2013-2016.
- + Được theo dõi và thăm khám đánh giá kết quả đáp ứng trong và sau quá trình điều trị.

### **2.1.2. Tiêu chuẩn loại trừ**

- + Điều trị khác với phác đồ kể trên, điều trị ở bệnh viện khác.
- + Hồ sơ bệnh án thiếu các tiêu chí về lâm sàng, hình ảnh và mô bệnh học.
- + Các bệnh nhân không tuân thủ hết liệu trình điều trị.
- + Bệnh nhân không đồng ý tham gia nghiên cứu.

## **2.2. Phương pháp nghiên cứu**

### **2.2.1. Thiết kế nghiên cứu**

Mô tả chùm bệnh có theo dõi dọc

### **2.2.2. Cỡ mẫu**

*Cỡ mẫu:*

Để tính cỡ mẫu nghiên cứu, chúng tôi sử dụng công thức tính cỡ mẫu áp dụng cho việc ước tính tỷ lệ trong quần thể.

$$n = Z_{(1-\alpha/2)}^2 \frac{p(1-p)}{\delta^2}$$

Trong đó:

n: cỡ mẫu nghiên cứu

$\alpha$ : là mức ý nghĩa thống kê, chọn  $\alpha = 0,05$  (tương ứng với độ tin cậy 95%)

$Z_{(1-\alpha/2)}$ : tra giá trị từ bảng, tương ứng với giá trị của  $\alpha$  như trên được kết quả  $Z_{(1-\alpha/2)} = 1,96$ .

p: là tỷ lệ bệnh nhân có nồng độ EBV-DNA dương tính trong điều trị (p= 0,5).

$\delta$ : là độ lệch tuyệt đối yêu cầu là  $\pm 10\%$  (0,10)

Áp dụng công thức trên thu được kết quả:

$$n = Z_{1-\alpha/2}^2 \frac{p(1-p)}{\delta^2} = 1,96^2 \frac{0,5 \times 0,5}{0,1^2} = 97$$

Ước tính tỷ lệ bỏ cuộc sau 2 năm: 10%  $\Rightarrow$  số lượng đối tượng nghiên cứu cần khảo sát  $n \geq 100$  bệnh nhân.

### **2.3. Các biến số, chỉ số và nội nghiên cứu**

2.3.1. Đặc điểm chung của đối tượng nghiên cứu

2.3.2. Đặc điểm lâm sàng, cận lâm sàng

2.3.3. Định lượng nồng độ EBV-DNA trước, sau điều trị và mối liên quan với các đặc điểm lâm sàng, cận lâm sàng và kết quả điều trị

## 2.4. Các bước tiến hành nghiên cứu

- *Bước 1: Khai thác thông tin hành chính và các triệu chứng lâm sàng*
- *Bước 2: Thu thập các chỉ số cận lâm sàng, lập quy trình định lượng và đánh giá nồng độ EBV-DNA huyết tương*
- *Bước 3: Chẩn đoán*
- *Bước 4: Thực hiện điều trị*
- *Bước 5: Đánh giá đáp ứng điều trị*
- *Bước 6: Thu thập các thông số nghiên cứu, đánh giá kết quả và viết luận án.*

## 2.5. Các kỹ thuật xét nghiệm đã sử dụng trong nghiên cứu

*Quy trình định lượng nồng độ EBV-DNA trong huyết tương trước và sau điều trị bằng kỹ thuật realtime PCR*

*Tiêu chuẩn đánh giá đáp ứng RECIST*

## 2.6. Phương tiện nghiên cứu

*2.6.1. Trang thiết bị và phương tiện nghiên cứu tại bệnh viện K Trung ương, bệnh viện Đại học y Hà Nội*

*2.6.2. Dụng cụ, trang thiết bị và hoá chất nghiên cứu tại Labo trung tâm nghiên cứu Gen-Protein trường Đại Học Y Hà Nội*

## 2.7. Địa điểm và thời gian nghiên cứu

- *Địa điểm nghiên cứu: Trung tâm nghiên cứu Gen- Protein Trường Đại Học Y Hà nội, Các cơ sở hóa và xạ trị của Bệnh viện K Trung ương, Bệnh viện Đại Học Y Hà nội*
- *Thời gian nghiên cứu: Từ tháng 9 năm 2013 đến tháng 12 năm 2016.*

**2.8. Xử lý số liệu:** Bằng phần mềm Stata 12.0.

**2.9. Đạo đức nghiên cứu:** Tuân thủ đầy đủ theo quy định của Hội đồng đạo đức y học.

### Chương 3

## KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

### 3.1. Đặc điểm lâm sàng và cận lâm sàng của đối tượng nghiên cứu

#### 3.1.1. Đặc điểm chung của đối tượng nghiên cứu

Độ tuổi trung bình là  $47,7 \pm 12,8$  tuổi. Nam giới: 68,1%, nữ chiếm 31,9%.

#### 3.1.2. Đặc điểm lâm sàng

##### 3.1.2.1. Triệu chứng cơ năng

*Bảng 3.1. Tần suất triệu chứng cơ năng (n=119)*

Triệu chứng	Số lượng bệnh nhân	
	n	%
Ngạt mũi	30	25,2
Chảy mũi	20	16,8
Ù tai	66	55,5
Khịt khạc máu	31	26,1
Đau đầu	67	56,3

\* Trước điều trị, triệu chứng cơ năng thường gặp nhất của bệnh nhân UTMH là ù tai (55,5%) và đau đầu (56,3%).

##### 3.1.2.2. Triệu chứng thực thể

\* Hình thái tổn thương đại thể u vòm mũi họng qua nội soi chẩn đoán

*Bảng 3.2. Hình thái đại thể khối u vòm mũi họng*

<b>Hình thái đại thể khối u vòm mũi họng</b>	<b>Số bệnh nhân</b>	
	<b>n</b>	<b>%</b>
Sùi	103	86,5
Hỗn hợp	16	13,5
Tổng	119	100,0

\*Hình thái u sùi qua nội soi là chủ yếu chiếm 86,5%, còn lại là thể hỗn hợp (loét, hoại tử, thâm nhiễm) chiếm 13,5%.

*Bảng 3.3. Tần suất vị trí xuất phát của tổn thương u tại vòm qua nội soi vòm mũi họng (n=119)*

<b>Vị trí</b>	<b>Số lượng bệnh nhân</b>	
	<b>N</b>	<b>%</b>
Thành sau trên	60/119	50,4
Hố Rosenmuler	86/119	72,3
Vùng loa vòi	11/119	9,2
Thành dưới	2/119	1,7

\*Vị trí xuất phát của u vòm có thể một hoặc kết hợp vị trí khác, nhưng tần suất vị trí xuất phát của tổn thương u tại vòm đa số tại hố Rosenmuler (72,3%).

### 3.1.3. Đặc điểm cận lâm sàng của đối tượng nghiên cứu

#### 3.1.3.1. Đặc điểm khối u qua MRI, hoặc CT scanner

Bảng 3.4. Khối u khu trú tại vòm và lan tràn ra ngoài vòm theo MRI hoặc CTscanner (n=119)

Khối u vòm	Tổng số bệnh nhân	
	n	%
Khu trú	30	25,2
Lan tràn	89	74,8
Tổng	119	100,0

\*Đa số bệnh nhân tham gia vào nghiên cứu có kết quả MRI, hoặc CTscanner trước điều trị đa số u vòm lan rộng, xâm lấn nền sọ và tổ chức lân cận (74,8%).

#### 3.1.3.2. Đặc điểm hạch cổ qua siêu âm

Bảng 3.5. Đặc điểm hạch cổ qua thăm khám siêu âm (n=89)

Đặc điểm hạch cổ		Số lượng bệnh nhân	
		n	%
Phát hiện hạch cổ qua siêu âm	Không hạch	30	25,2
	Có hạch	89	74,8
	Tổng số	119	100,0
Số lượng hạch	1-2 hạch	62	69,6
	3-4 hạch	18	20,1
	≥5 hạch	9	10,3
	Tổng số	89	100,0
Cùng bên – đối bên	Cùng bên	50	56,2
	Đối bên	39	43,8
	Tổng số	89	100,0

\* Theo kết quả siêu âm cho 119 ĐTNC có 89 bệnh nhân có triệu chứng hạch cổ chiếm 74,8%. Trong số các bệnh nhân có hạch cổ, đa số có 1-2 hạch cổ (69,6%) và các hạch cổ nằm cùng bên (56,2%)

### 3.1.3.3. Mô bệnh học

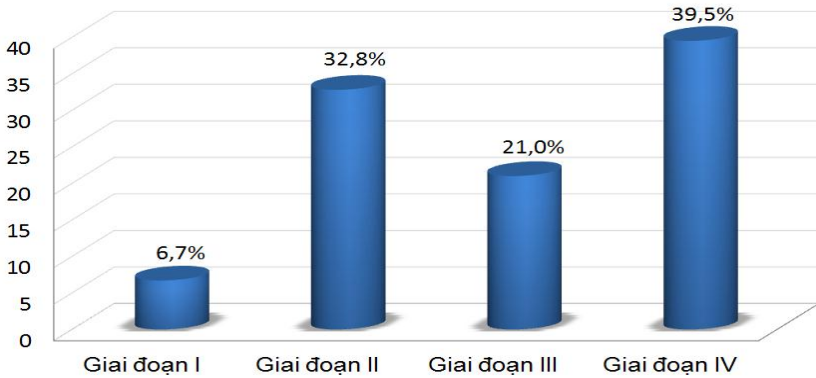
*Bảng 3.6 Chẩn đoán mô bệnh học khối u nguyên phát vòm mũi họng*

Loại mô học	Số lượng bệnh nhân	
	n	%
Type I(Ung thư biểu mô dạng biểu bì sừng hóa), Type II(Ung thư biểu mô dạng biểu bì không sừng hóa)	6	5
Type III(Ung thư biểu mô không biệt hóa)	113	95
Tổng	119	100,0

\*Đa số loại mô bệnh học của bệnh nhân UTMH tham gia vào nghiên cứu là Ung thư biểu mô không biệt hoá (type III) (95,0%). Type I,II rất ít chiếm có 5%.



### 3.1.4. Chẩn đoán TNM của đối tượng nghiên cứu



**Hình 3.1. Chẩn đoán giai đoạn bệnh TNM**

\*Đa số bệnh nhân UTVMH tham gia vào nghiên cứu đang ở giai đoạn IV (39,5%) và giai đoạn II (32,8%) của bệnh theo chẩn đoán TNM.

### 3.1.5. Các phương pháp điều trị được áp dụng cho đối tượng nghiên cứu

*Bảng 3.7. Phương pháp điều trị áp dụng cho đối tượng nghiên cứu*

Phương pháp điều trị		Số lượng bệnh nhân	
		n	%
Hóa xạ trị	Hóa xạ trị đồng thời với cisplatin	39	32,8
	Hóa chất tân bổ trợ kết hợp với xạ trị	10	8,4
	Hóa chất tân bổ trợ kết hợp với hóa xạ trị đồng thời	16	13,4
Xạ trị đơn thuần		54	45,4
Tổng		119	100

\*Phương pháp điều trị phổ biến nhất cho đối tượng nghiên cứu là hóa xạ trị chiếm (54,6%) xạ trị đơn thuần (45,4%)

### 3.1.6. Kết quả điều trị của đối tượng nghiên cứu

Bảng 3.8. Kết quả điều trị của đối tượng nghiên cứu

Kết quả điều trị	n	Tỷ lệ %
Đáp ứng hoàn toàn	88	74
Đáp ứng một phần	28	23,5
Không đáp ứng	3	2,5
Tổng	119	100

\*Đa số bệnh nhân đáp ứng hoàn toàn với điều trị (74,0%), có 23,5% bệnh nhân đáp ứng một phần và chỉ có 2,5% bệnh nhân không đáp ứng với điều trị.

**3.2. Định lượng nồng độ EBV-DNA huyết tương trước và sau điều trị, đánh giá mối liên quan với một số đặc điểm lâm sàng, cận lâm sàng và kết quả điều trị ung thư Vòm Mũi Họng.**

#### 3.2.1. Nồng độ EBV-DNA huyết tương trước và sau điều trị

##### 3.2.1.2. So sánh nồng độ EBV-DNA huyết tương trước và sau điều trị

Bảng 3.9. So sánh nồng độ EBV-DNA huyết tương trước và sau điều trị

Nồng độ EBV-DNA huyết tương	Trước điều trị		Sau điều trị		p
	n	%	n	%	
≥ 300 copies/ ml	88	74	20	16,8	<b>p&lt;0,01</b>
< 300 copies/ ml	31	26	99	83,2	
Tổng	119	100	119	100	
Trung bình(copies/ ml)	143084,1± 298768,2 copies/ml		51580± 80806,0 copies/ ml.		
Trung vị	34000		16250		

Trước điều trị có 74,0% bệnh nhân có nồng độ EBV-DNA huyết tương  $\geq 300$  copies/ ml, sau điều trị giảm xuống còn 16,8%, nồng độ EBV-DNA huyết tương trung bình trước điều trị là  $143084,1 \pm 298768,2$  copies/ml, sau điều trị giảm xuống còn  $51580 \pm 80806,0$  copies/ ml. Sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ( $p < 0,01$ ) giữa nồng độ EBV-DNA huyết tương trước và sau điều trị.

### ***3.2.2. Đánh giá mối liên quan với một số đặc điểm lâm sàng, cận lâm sàng và kết quả điều trị ung thư Vòm Mũi Họng***

*3.2.2.1. Mối liên quan giữa nồng độ EBV –DNA huyết tương với đặc điểm lâm sàng của bệnh nhân*

*3.2.2.2. Mối liên quan giữa nồng độ EBV –DNA huyết tương với đặc điểm cận lâm sàng của bệnh nhân*

*3.2.2.3. Mối liên quan giữa nồng độ EBV-DNA huyết tương với chẩn đoán TNM*

*a) Chẩn đoán T*

Bảng 3.10. Mối liên quan giữa nồng độ EBV-DNA huyết tương với các giai đoạn của khối u nguyên phát

Nồng độ EBV-DNA huyết tương (Copies/ml)		Giai đoạn T			
		T1	T2	T3	T4
Trước điều trị	< 300	9 (30,0%)	9 (25,0%)	8 (50,0%)	5 (13,5%)
	≥ 300	21 (70,0%)	27 (75,0%)	8 (50,0%)	32 (86,5%)
	Nồng độ trung bình(copies/ml)	84476 ± 177218	143104 ± 244392	315925 ± 564000	138319 ± 313524
P		<b>0,048</b>			
Sau điều trị	< 300	29	29	13	28
	≥ 300	1	7	3	9
	Nồng độ trung bình(copies/ml)	5000	34757 ± 57041	113300± 179127	49267 ± 55611
OR		1	7,0 (0,74- 65,95)	6,69 (0,57- 78,89)	9,32 (1,00- 87,98)
P		-	<b>0,048</b>	0,080	<b>0,017</b>

\*Có mối liên quan có ý nghĩa thống kê ( $p < 0,05$ ) giữa nồng độ EBV-DNA huyết tương trước điều trị với các giai đoạn của khối u nguyên phát, những bệnh nhân có khối u giai đoạn T càng lớn thì có nồng độ EBV-DNA huyết tương càng tăng. Sau điều trị nồng độ EBV-

DNA huyết tương trung bình của giai đoạn T giảm đáng kể và có ý nghĩa thống kê với ( $p < 0,05$ ).

*b) Chẩn đoán N*

*Bảng 3.11. Mối liên quan giữa nồng độ EBV-DNA huyết tương với các giai đoạn của hạch vùng*

Giai đoạn N	Trước điều trị			Sau điều trị		
	Nồng độ EBV-DNA huyết tương (copies/ml)	OR (95% CI)	p	Nồng độ EBV-DNA huyết tương (copies/ml)	OR (95% CI)	p
N0	107913 ± 206405	1	-	84600 ± 70965	1	-
N1-N2	111489 ± 262235	3,25 (1,24- 8,55)	<b>0,011</b>	62622 ± 108666	1,02 (0,29- 3,66)	0,968
N3	254090 ± 416844	5,83 (1,27- 26,77)	<b>0,010</b>	18514 ± 15150	2,84 (0,68- 11,79)	0,132

\*Trước điều trị, có mối liên quan có ý nghĩa thống kê ( $p < 0,05$ ) giữa nồng độ EBV-DNA huyết tương với các giai đoạn của hạch vùng, những bệnh nhân có giai đoạn hạch vùng N0 có nồng độ EBV-DNA huyết tương  $\geq 300$  copies/ml thấp hơn 3,25 lần những bệnh nhân ở giai đoạn N1-N2 và thấp hơn 5,83 lần những bệnh nhân ở giai đoạn N3. Nồng độ EBV-DNA huyết tương trung bình giảm một cách rõ rệt sau điều trị theo giai đoạn N

c) Chẩn đoán M

d) Chẩn đoán TNM

3.2.2.4. Mối liên quan giữa nồng độ EBV-DNA huyết tương với đáp ứng điều trị

Bảng 3.12. Mối liên quan giữa nồng độ EBV-DNA huyết tương với phương pháp điều trị của bệnh nhân

Nồng độ EBV-DNA huyết tương		Phương pháp điều trị			
		Xạ trị đơn thuần	Hóa xạ trị đồng thời với cisplatin	Hóa chất tân bổ trợ kết hợp với xạ trị	Hóa chất tân bổ trợ kết hợp
Trước điều trị	< 300 copies/ml	22	4	1	4
	≥ 300 copies/ml	32	35	9	12
OR		1	6,02 (1,73 – 20,93)	6,19 (0,68 – 56,61)	1,29 (0,58 – 7,39)
P		-	<b>0,001</b>	0,065	0,256
Sau điều trị	< 300 copies/ml	46	31	7	15
	≥ 300 copies/ml	8	8	3	1
OR		1	1,48 (0,50 – 4,41)	2,46 (0,51 – 11,92)	0,38 (0,04 – 3,42)
P		-	0,475	0,246	0,372

\*Có mối liên quan có ý nghĩa thống kê ( $p < 0,05$ ) giữa nồng độ EBV-DNA huyết tương trước điều trị với phương pháp điều trị của bệnh nhân UTMH, những bệnh nhân điều trị bằng hóa xạ trị đồng thời với cisplatin có nồng độ EBV-DNA huyết tương cao gấp 6,02 những bệnh nhân xạ trị đơn thuần.

*Bảng 3.13.. Mối liên quan giữa nồng độ EBV-DNA huyết tương với sự đáp ứng điều trị của bệnh nhân*

Mức độ đáp ứng	Trước điều trị			Sau điều trị		
	Mean $\pm$ SD	OR (95% CI)	p	Mean $\pm$ SD	OR (95% CI)	p
Đáp ứng hoàn toàn	132098 $\pm$ 316897	1	-	78882 $\pm$ 102232	1	-
Đáp ứng một phần	133119 $\pm$ 230724	6,39 (1,34 – 30,45)	<b>0,007</b>	13700 $\pm$ 10708	2,33 (0,79- 6,87)	0,113
Không đáp ứng	445500 $\pm$ 404513	-	-	34000	14,0 (1,04- 187,95)	<b>0,009</b>

\*Có mối liên quan có ý nghĩa thống kê ( $p < 0,05$ ) giữa nồng độ EBV-DNA huyết tương ở cả trước và sau điều trị với mức độ đáp ứng điều trị của bệnh nhân UTMH.

## **Chương 4**

### **BÀN LUẬN**

#### **4.1. Đặc điểm lâm sàng, cận lâm sàng của đối tượng nghiên cứu**

##### **4.1.1. Đặc điểm chung của đối tượng nghiên cứu**

##### **4.1.2. Đặc điểm khối u vòm họng qua thăm khám bằng lâm sàng, nội soi, CT Scanner, MRI và mô bệnh học**

Triệu chứng cơ năng thường gặp nhất của bệnh nhân UTVMH là ù tai (55,5%) và đau đầu (56,3%). Sau đó là triệu chứng khịt khạc máu (26,1%), các triệu chứng ở mũi ít gặp hơn với 25,2% bệnh nhân xuất hiện ngạt mũi và 16,8% bệnh nhân xuất hiện triệu chứng chảy mũi.

Đặc điểm khối u vòm qua nội soi, CT scanner, MRI và mô bệnh học. Vị trí xuất phát: hố Rosenmuler và thành trên sau là hai vị trí chủ yếu để khối u xuất phát. 86,5% bệnh nhân tổn thương u vòm thể sùi và 13,5% ở thể hỗn hợp (loét, hoại tử, thâm nhiễm). Tính chất xâm lấn: 74,8% bệnh nhân có khối u lan tràn và 25,2% bệnh nhân có khối u khu trú. Về kết quả chẩn đoán mô bệnh học: Ung thư biểu mô không biệt hóa (type III) chiếm tới 95,0%. Kết quả này phù hợp với nhiều tài liệu và nghiên cứu trước đây.

##### **4.1.3. Đặc điểm hạch cổ qua thăm khám siêu âm và mô bệnh học**

Thăm khám bằng siêu âm có 74,8% bệnh nhân có triệu chứng hạch cổ. Trong số các bệnh nhân có hạch cổ, đa số có 1-2 hạch cổ (69,6%) và các hạch cổ nằm cùng bên (56,2%). Kết quả này khá tương đồng với kết quả của nhiều nghiên cứu trước đây ở cả trong và ngoài nước như nghiên cứu của Muchiri (2003) trên 125 bệnh nhân UTVMH tại Kenya cho kết quả có 80,0% bệnh nhân xuất hiện triệu chứng hạch cổ hay tỷ lệ này trong nghiên cứu của Nguyễn Đình Phúc (2006) là 71,0%.



#### **4.1.4. Đánh giá giai đoạn TNM**

Trong nghiên cứu của chúng tôi, có 60,5% bệnh nhân thuộc giai đoạn III-IV và 39,5% bệnh nhân thuộc giai đoạn I-II theo chẩn đoán TNM. Trong nghiên cứu của Tang (2014) chỉ có 14,6% bệnh nhân thuộc giai đoạn I-II, trong nghiên cứu của Zhao (2015) và Lee (2017) tỷ lệ này lần lượt là 19,0% và 21,1%.

#### **4.1.5. Các phương pháp điều trị được áp dụng cho đối tượng nghiên cứu**

Phương pháp điều trị phổ biến nhất cho bệnh nhân là hóa xạ trị chiếm ( 54,6%), sau đó là xạ trị đơn thuần (45,4%) trong đó hóa xạ trị đồng thời với cisplatin (32,8%). Sau điều trị, có 74,0% bệnh nhân đáp ứng hoàn toàn; 23,5% bệnh nhân đáp ứng một phần và chỉ có 2,5% bệnh nhân không đáp ứng. Có thể thấy, nghiên cứu của Lin (2004) hay Mu-Yao Chen (2015) đều cho kết quả khá tương đồng với nghiên cứu của chúng tôi với đa số bệnh nhân UTVMH đều đáp ứng với điều trị, chỉ một phần nhỏ bệnh nhân là không đáp ứng.

### **4.2. Định lượng nồng độ EBV-DNA huyết tương trước và sau điều trị, đánh giá mối liên quan với một số đặc điểm lâm sàng, cận lâm sàng và kết quả điều trị ung thư Vòm Mũi Họng.**

#### **4.2.1. Kết quả định lượng nồng độ EBV-DNA trong huyết tương của đối tượng nghiên cứu**

Trước điều trị có 74,0% bệnh nhân có nồng độ EBV-DNA huyết tương  $\geq 300$  copies/ ml. Sau điều trị tỷ lệ bệnh nhân có nồng độ EBV-DNA huyết tương  $\geq 300$  copies/ ml giảm xuống còn 16,8% và sự khác biệt này có ý nghĩa thống kê ( $p < 0,01$ ). Kết quả này tương đồng với nhiều tài liệu và nghiên cứu trước đây ở cả trong và ngoài nước.

#### **4.2.2. Mối liên quan với nồng độ EBV-DNA huyết tương**

##### **4.2.2.1. Mối liên quan với đặc điểm lâm sàng và cận lâm sàng**

a) Mối liên quan giữa nồng độ EBV-DNA huyết tương với đặc điểm của u vòm

*b) Mối liên quan giữa nồng độ EBV-DNA huyết tương với đặc điểm hạch cổ*

*c) Mối liên quan giữa nồng độ EBV-DNA huyết tương với các giai đoạn bệnh*

Khi gộp chẩn đoán TNM, kết quả nghiên cứu cho thấy có mối liên quan giữa giai đoạn bệnh TNMs của bệnh nhân với nồng độ EBV-DNA huyết tương cả trước và sau điều trị. Những bệnh nhân UTMH giai đoạn III-IV có nồng độ EBV-DNA huyết tương  $\geq 300$  copies/ ml trước điều trị cao hơn 2,35 lần và có nồng độ EBV-DNA huyết tương  $\geq 300$  copies/ ml sau điều trị cao gấp 16,49 lần so với những bệnh nhân giai đoạn I-II ( $p=0,001$ ). Trong nghiên cứu của chúng tôi, tỷ lệ bệnh nhân có nồng độ EBV-DNA huyết tương trung bình ở giai đoạn sớm I-II ( $51920 \pm 95904$ copies/ml) thấp hơn tỷ lệ ở nhóm bệnh nhân giai đoạn muộn III-IV ( $190238 \pm 353473$  copies/ml) và sự khác biệt này có ý nghĩa thống kê ( $p>0,05$ ). Kết quả này tương đồng với kết quả nghiên cứu của Fan (2004) tại Trung Quốc.

#### ***4.2.2.2. Mối liên quan giữa nồng độ EBV-DNA huyết tương với kết quả điều trị***

Kết quả nghiên cứu cho thấy có mối liên quan có ý nghĩa thống kê ( $p<0,05$ ) giữa nồng độ EBV-DNA huyết tương cả trước và sau điều trị với mức độ đáp ứng điều trị của bệnh nhân UTMH. Những bệnh nhân đáp ứng một phần có nồng độ EBV-DNA huyết tương  $\geq 300$  copies/ ml trước điều trị cao gấp 6,39 lần những bệnh nhân đáp ứng hoàn toàn ( $p=0,007$ ) và 100% bệnh nhân không đáp ứng với điều trị đều có nồng độ EBV-DNA huyết tương  $\geq 300$  copies/ ml. Ảnh hưởng của nồng độ EBV-DNA huyết tương đến việc đáp ứng điều trị đã được tìm thấy trong nhiều nghiên cứu trước đây.

## KẾT LUẬN

### 1. Đặc điểm lâm sàng, cận lâm sàng của ung thư vòm mũi họng

- Triệu chứng lâm sàng thường gặp: đau đầu (56,3%); ù tai (55,5%) và hạch cổ (70,6%).
- Vị trí xuất phát của tổn thương u tại vòm đa số tại hố Rosenmuler (72,3%).
- Hình thái u sùi qua nội soi là chủ yếu chiếm 86,5%, còn lại là thể hỗn hợp (loét, hoại tử, thâm nhiễm) chiếm 13,5%.
- Đa số u vòm lan rộng, xâm lấn nền sọ và tổ chức lân cận (74,8%).
- Trong số các bệnh nhân có hạch cổ, phần lớn bệnh nhân có vị trí là nhóm 2 nhóm cảnh cao.
- Trong số các bệnh nhân có hạch cổ, đa số có tế bào di căn (58,3%).
- Đặc điểm mô bệnh học: Type III WHO (95,0%); type II WHO (4,2%); type I WHO (0,8%).
- Chẩn đoán giai đoạn: Giai đoạn I: 6,7%; giai đoạn II: 32,8%; giai đoạn III: 21,0%; giai đoạn IV: 39,5%.

### 2. Nồng độ EBV-DNA huyết tương trước, sau điều trị và mối liên quan với một số đặc điểm lâm sàng, cận lâm sàng và kết quả điều trị

- \* Nồng độ EBV-DNA huyết tương trước và sau điều trị: Tỷ lệ bệnh nhân có nồng độ EBV-DNA huyết tương  $\geq 300$  copies/ml trước điều trị (74,0%) cao hơn hẳn sau điều trị (16,8%), sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ( $p < 0,05$ ).
- \* Nồng độ EBV-DNA huyết tương trung bình trước điều trị :  $143084,1 \pm 298768,2$  copies/ml và sau điều trị :  $51580 \pm 80806,0$  copies/ml.

- Chưa thấy có mối liên quan giữa nồng độ EBV-DNA huyết tương với một số đặc điểm như triệu chứng cơ năng, triệu chứng thực thể, hình thái u vòm, đặc điểm khu trú và lan tràn, mô bệnh học.
- Có mối liên quan giữa nồng độ EBV-DNA huyết tương với các đặc điểm:
  - + Số lượng hạch cổ di căn: Hạch di căn càng nhiều thì nồng độ EBV-DNA huyết tương càng lớn.
  - + Giai đoạn T: Những bệnh nhân có khối u giai đoạn T3, T4 có tỷ lệ nồng độ EBV-DNA huyết tương  $\geq 300$  copies/ ml cao hơn so với giai đoạn T1, T2.
  - + Giai đoạn N: Những bệnh nhân có giai đoạn hạch vùng N0 có nồng độ EBV-DNA huyết tương  $\geq 300$  copies/ ml thấp hơn so với giai đoạn hạch N1, N2, N3.
  - + Giai đoạn TNMs: Những bệnh nhân giai đoạn III-IV có nồng độ EBV-DNA huyết tương  $\geq 300$  copies/ ml cao hơn so với những bệnh nhân giai đoạn I-II.
  - + Kết quả điều trị: Những bệnh nhân không đáp ứng điều trị có nồng độ EBV-DNA huyết tương cao hơn so với những bệnh nhân có đáp ứng.

MINISTRY OF EDUCATION AND TRAINING

MINISTRY OF HEALTH

**HANOI MEDICAL UNIVERSITY**



**TAN PHAM HUY**

**CLINICAL, SUBCLINICAL AND PLASMA EBV-DNA  
LEVEL IN NASOPHARYNX CANCER**

Speciality : Ear – Nose - Throat

Code : 62720155

**SUMMARY OF MEDICAL DOCTORAL THESIS**

**HANOI - 2018**

**THESIS RESEARCH IS ACCOMPLISHED AT  
HANOI MEDICAL UNIVERSITY**

**Science Instructors:**

1. Assoc. PhD. Khanh Tran Van.
2. Prof. PhD. Phuc Nguyen Dinh

**Opponent 1:**

**Opponent 2:**

**Opponent 3:**

The thesis has been defended at University-level Thesis Evaluation Council held in Hanoi Medical University.

At, ..... (hour), ...../...../2018(date)

The thesis can be found in:

- National library of Vietnam
- Library of Hanoi Medical University

## **LIST OF ANNOUNCED RESEARCH PROJECTS RELATED TO THESIS TOPIC**

1. Tan Huy Pham, Thinh Tran Huy, Hang Tran Thi Thuy, Phuc Nguyen Dinh, Khanh Tran Van (2015). EBV-DNA plasma levels of patients with nasopharynx cancer and correlation with TNM stage. *Journal of Medical Research*, 95(3), 24-31.
2. Tan Huy Pham, Thinh Tran Huy, Huy Trinh Le, Dao Pham Thi Bich, Phuc Nguyen Dinh, Khanh Tran Van (2017). Survey of plasma EBV-DNA concentrations after treatment of patients with nasopharynx and associated cancers. *Journal of Practical Medicine*, 1044(6), 26-29.
3. Tan Huy Pham, Thinh Tran Huy, Hien Nguyen Thi Thu, Dao Pham Thi Bich, Thanh Ho Thi Kim, Khanh Tran Van (2017). Changes in plasma EBV-DNA levels of patients with nasopharynx and nasopharyngeal cancer before and after treatment. *Journal of Medical Research*, 108(3), 104-110.

## **BACKGROUND**

Nasopharyngeal cancer (NPC) is the most common cancer of the head and neck area. In Vietnam, NPC is the most common cancer in the nose and throat cancer and is the fifth most common cancer. NPC is associated with many factors, particularly the pathogenesis of Epstein Barr Virus (EBV) in NPC. Several studies in the world have confirmed the association between plasma EBV-DNA concentrations with response to treatment and prognosis.

In Vietnam, research has been done on NPC and EBV, but there are many limitations. So we made the topic "**Clinical, subclinical and plasma EBV-DNA level in nasopharynx cancer**" for two purposes:

- 1. Describe the clinical, subclinical characteristics of nasopharynx cancer.**
- 2. Quantify plasma EBV-DNA levels before and after treatment, assessing associations with some clinical, subclinical, and nasopharyngeal cancer outcomes.**

### **The new conclusions in PhD Thesis**

1. Determine the average plasma EBV-DNA level of patients with nasopharynx cancer in Vietnam.
2. Monitoring of plasma EBV-DNA levels of patients both before and after treatment to detect EBV-DNA changes in patients with nasopharynx cancer.
3. Demonstrate the relationship between plasma EBV-DNA level and disease stage in T, N and TNM. Plasma EBV-DNA level is an important factor in determining the volume of radiation therapy.



4. Demonstrated the relationship between plasma EBV-DNA level and treatment response and prognosis of patients with nasopharynx cancer in Vietnam.
5. Determination of plasma EBV-DNA concentrations contributed to the latest TNM diagnostic classification system

### **Thesis outline:**

This thesis covers 118 pages, including: preample (2 pages), the overview (37 pages), materials and method (14 pages), outcomes (30 pages), discussion (32 pages), conclusion (2 pages), recommendation (1 page). It consists of 49 tables, 19figures. There are 123 references, in Vietnamese, English.

## **Chapter 1 OVERVIEW**

### **1.1. Anatomical of nasopharynx and head and neck lymph nodes**

*1.1.1. Anatomical of nasopharynx*

*1.1.2. Anatomical of head and neck lymph nodes*

### **1.2. The epidemiology of nasopharyngeal cancer**

*1.2.1. Incidence of disease*

*1.2.2. Risk factor*

## **1.3. Diagnosing nasopharyngeal cancer**

### ***1.3.1. Clinical diagnosis***

#### ***1.3.1.1. Functional Symptoms***

##### **❖ *Early signs***

Symptoms are usually poor. Patients often do not notice, easy to miss.

##### **❖ *Late signs***

As tumors develop on the spot and widespread invasive causes: Symptoms of lymph nodes; Symptoms of nose; Symptoms of ear; Eye symptoms; Symptoms of brain skull.

#### ***1.3.1.2. Clinical examination***

\*Endoscopic ENT: Endoscopic and biopsy plays a huge role in the diagnosis of NPC.

\* Examination of lymph nodes

\*Examination of the cranial nerves

\* Full examination

### ***1.3.2. Subclinical diagnosis***

#### ***1.3.2.1. Diagnostic Imaging***

\* *X-quang standard*

\* *CT, MRI*: Helps accurately assess the location, size, and extent of invasive breast cancer. It also helps to assess distal metastatic lesions in the lungs, brain, liver ...

\* *Neck ultrasonography*: Detection of neck nodal lesions and lymph node biopsy guidelines.

\* *SPECT, PET/CT*: Helps to detect pathological changes at the level of molecular metabolism

\* *Other tests*

*1.3.2.2. EBV diagnosis*: Determine the dose of serum viral load

*1.3.2.3. Diagnosis of pathology*: The most common is non-differentiated epithelial cancer

***1.3.3. Diagnosis is based on histopathological findings***

***1.3.4. Stage Diagnosis***

*Diagnosis stage according to AJCC classification 7th 2010*

## **1.4. Treatment principle**

NPC treatment is similar to other cancers, depending on the stage of the disease

- ❖ Early stage: Radiation therapy is the main treatment
- ❖ Intermediate stage and progression stage: concurrent radiotherapy.
- ❖ Metastatic stage: systemic chemotherapy

## **1.5. EBV and nasopharynx cancer**

### ***1.5.1. EBV virus construct***

EBV is a virus in the herpesvirus gamma group, consisting of four parts (the nucleus containing the genetic material, the protein shell, the medial shell, the outer shell)

### ***1.5.2. Hypothesis of EBV and NPC***

*1.5.2.1. EBV as a factor to generate and develop NPC*

*1.5.2.2. EBV infection of epithelial cells.*

*1.5.2.3. EBV expression in nasopharyngeal tumors*

*1.5.2.4. Molecular Biology and EBV gene sequencing in NPC*

### ***1.5.3. Molecular biology techniques define EBV***

*1.5.3.1. PCR technique (Polymerase Chain Reaction)*

The principle of PCR is based on denaturation, DNA retention and DNA synthesis by the activity of DNA polymerases.

*1.5.3.2. Quantitative PCR technique (Realtime-PCR)*

Real-time PCR is a gene amplification reaction where the amplifier of the reaction is displayed and can be identified in the course of the reaction through the machine's recognition system.

### **1.5.4. Application diagnosis and treatment based on the relationship between EBV and NPC**

*1.5.4.1. Application in diagnosis*

Recent studies around the world are hoping to use tests to screen and detect early NPCs through tests with EBV.

*1.5.4.2. Application in the treatment of diseases*

- a) EBV is a pre-treatment prognostic factor*
- b) EBV levels before, during and after treatment*
- c) EBV-based immunotherapy*

## **Chapter 2**

### **MATERIALS AND METHOD**

#### **2.1.MATERIALS**

Study participants included 119 patients who were diagnosed and treated for nasopharynx and nasopharynx cancer at the National Cancer Hospital of Vietnam, Hanoi Medical University Hospital and Genetics Center of the Hanoi Medical University.

##### ***2.1.1. Selection criteria***

- There is a definite diagnosis based on the gold standard of the histopathological diagnosis of nasopharyngeal cancer.
- Diagnosis of ventricular lesions and extensive tumor on CT scans or nasopharynx nasopharynx according to standard.
- There is clinical diagnosis through endoscopic nasopharynx, arch biopsy under endoscopy, examination of the neck, cranial nerve and whole body.
- Diagnostic detection of metastases far from ultrasound, imaging and PET-CT.
- Quantify plasma EBV-DNA levels before and after treatment.
- Disease classification according to TNM - AJCC 2010.
- Fully treated according to the protocol of the National Cancer Hospital of Vietnam for the period 2013-2016.
- Be follow-up and evaluated for outcomes during and after treatment

### 2.1.2. Exclusion criteria

- Treatment is different from the above, treatment in other hospitals.
- Medical records lack clinical, histological and histological criteria.
- Patients who do not comply with treatment.
- Patients do not agree to participate in research.

## 2.2. STUDY METHOD

### 2.2.1. Study method

Description study

### 2.2.2. Specimen size

*In order to calculate the sample size, we used a formula to calculate the sample size used for population estimates.*

$$n = Z_{(1-\alpha/2)}^2 \frac{p(1-p)}{\delta^2}$$

Inside:

n: research sample size

$\alpha$ : is the level of statistical significance, choose  $\alpha = 0.05$  (corresponding to 95% confidence)

Z (1- $\alpha$  / 2): look up the value from the table, corresponding to the value of  $\alpha$  as the result Z (1- $\alpha$  / 2) = 1.96.

p: the percentage of patients with EBV-DNA positive in treatment (p = 0.5).

$\delta$ : is the absolute deviation required  $\pm 10\%$  (0.10)

Apply the above formula to get the result:

$$n = Z_{1-\alpha/2}^2 \frac{p(1-p)}{\delta^2} = 1,96^2 \frac{0,5 \times 0,5}{0,1^2} = 97$$

Estimated dropout rate after 2 years: 10% => number of subjects to be surveyed  $n \geq 100$  patients.

### **2.3. Variables, indices and internal research**

2.3.1. General characteristics of the research object

2.3.2. Clinical characteristics, subclinical

2.3.3. Quantify EBV-DNA levels before, after treatment and their relationship to clinical, subclinical and clinical outcomes.

### **2.4. Steps to conduct research**

➤ *Step 1: Exploit administrative information and clinical symptoms*

➤ *Step 2: Collection of subclinical, quantitative and quantitative EBV-DNA plasma levels*

➤ *Step 3: Diagnosis*

➤ *Step 4: Perform treatment*

➤ *Step 5: Evaluation of treatment response*

➤ *Step 6: Collect research parameters, evaluate the results and write the thesis.*

### **2.5. Laboratory techniques used in the study**

Quantify EBV-DNA levels in plasma before and after treatment with realtime PCR

Criteria for evaluating the RECIST response

## **2.6. Research facilities**

*2.6.1. Research equipment and facilities at the National Cancer Hospital, HMUH.*

*2.6.2. Equipment, equipment and chemicals research at Labo Gen-Protein Research Center of Hanoi Medical University*

## **2.7. Location and time of study**

- Research site: National Center for Genomic Research, Hanoi Medical University, HMUH and Facilities and Radiotherapy of National Cancer Hospital.
- Research Period: September 2013 to December 2016.

**2.8. Data processing:** By software Stata 12.0.

**2.9. Research ethics:** Full compliance with the rules of medical ethics.

## **Chapter 3 STUDY RESULTS**

### **3.1. Describe Clinical and subclinical characteristics of the study subjects**

#### **3.1.1. General characteristics of the research object**

The mean age was  $47.7 \pm 12.8$  years. Men: 68.1%, females 31.9%.

#### **3.1.2. Clinical features**

##### ***3.1.2.1. Functional Symptoms***



*Table 3.1. Frequency of functional symptoms (n = 119)*

<b>Symptom</b>	<b>Number of patients</b>	
	<b>N</b>	<b>%</b>
Stuffy nose	30	25,2
Runny nose	20	16,8
Tinnitus	66	55,5
Quit blood	31	26,1
Headache	67	56,3

\*Prior to treatment, the most common symptom of NPC was tinnitus (55.5%) and headache (56.3%).

### **3.1.2.2. Symptoms of the entity**

*\* Morphology of nasopharynx lesions by endoscopic diagnosis*

*Table 3.2. Morphology of nasopharynx nasopharynx*

<b>Morphology of nasopharynx nasopharynx</b>	<b>Number of patients</b>	
	<b>n</b>	<b>%</b>
Smiles	103	86,5
Mixture	16	13,5
Total	119	100,0

Morphologic lesions were mainly 86.5%; the rest were mixed (ulceration, necrosis, infiltration), accounting for 13.5%.

*Table 3.3. Frequency of baseline location of endometrial lesions in nasopharynx (n = 119)*

<b>Location</b>	<b>Number of patients</b>	
	<b>N</b>	<b>%</b>
The following	60/119	50,4
Rosenmuler	86/119	72,3
Speaker faucet	11/119	9,2
The bottom	2/119	1,7

\*The origin of the dome tumor may be one or more of the other sites, but the incidence of the primary tumor site lesion at the Rosenmuler site (72.3%).

### **3.1.3. Subclinical characteristics of the study subjects**

#### **3.1.3.1. Tumor markers through MRI, or CT scanner**

*Table 3.4. Tumors located in the dome and spread out over the arch under MRI or CTscaner (n = 119).*

<b>tumors</b>	<b>Number of patients</b>	
	<b>n</b>	<b>%</b>
Localized	30	25,2
Spread	89	74,8
Total	119	100,0

\*The majority of patients included in the study had MRI, or CTscan, before treatment for the majority of widespread dementia, invasion of the skull and adjacent organs (74.8%).

### 3.1.3.2. Characteristics of nodal passages through ultrasound

Table 3.5. Characteristics of nodal passages through ultrasound examination (n = 89)

Characteristics of nodes		Number of patients	
		n	%
Detection of lymph nodes through ultrasonography	Don't have	30	25,2
	Have	89	74,8
	Total	119	100,0
Number of nodes	1-2 nodes	62	69,6
	3-4 nodes	18	20,1
	≥5 nodes	9	10,3
	Total	89	100,0
Side by side - opposite side	Along side	50	56,2
	Side by side	39	43,8
	Total	89	100,0

\*According to the ultrasound results for 119 celiac disease, 89 patients with retrocephalitis accounted for 74.8%. Of the patients with nodal glaucoma, the majority had 1-2 nodules (69.6%) and the nodes were located on the same side (56.2%).

### 3.1.3.3. Histopathology

Table 3.6 Diagnosis of primary tumor tissue of the nasopharynx

Histopathology	Number of patients	
	n	%
Type I (keratoconjunctival epithelial cell carcinoma), Type II (noncoral epithelial carcinoma)	6	5
Type III (Non-differentiated epithelial carcinoma)	113	95
Total	119	100,0

\* Most of the histopathological specimens of the NPC patients included in the study were non-differentiated epithelial carcinoma (type III) (95.0%). Type I, II very little accounted for 5%.

### 3.1.4. Diagnosis of TNM of study subjects

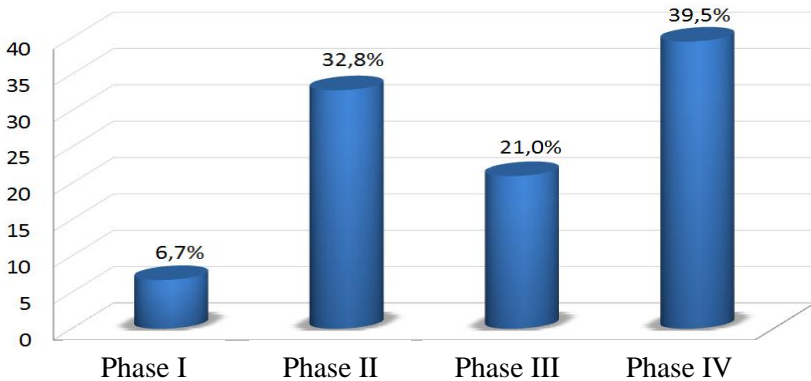


Figure 3.1. Diagnosis of TNM stage

\* Most of the NPC patients participating in the study are in Phase IV (39.5%) and Phase II (32.8%) of the disease are diagnosed with TNM.

### 3.1.5. Treatments are applied to the study subject

*Table 3.7. The treatment method applied to the study subjects*

Treatments		Number of patients	
		n	%
ChemoRadiation therapy	Radiotherapy concurrently with cisplatin	39	32,8
	Neoadjuvanted chemotherapy combined with radiation therapy	10	8,4
	Neoadjuvant chemotherapy combined with concurrent radiotherapy	16	13,4
Radiation therapy alone		54	45,4
Total		119	100

\* The most common treatment for the subject was radiation therapy (54.6%), radiation therapy alone (45.4%)

### 3.1.6. Treatment results of the study subjects

*Table 3.8. Treatment results of the study subjects*

Treatment results	n	Tỷ lệ %
Completely Response	88	74
Part Response	28	23,5
Not responding	3	2,5
Total	119	100

\*The majority of patients respond fully to treatment (74.0%), 23.5% of patients respond in part and only 2.5% of patients do not respond to treatment.

### 3.2. Quantify plasma EBV-DNA levels before and after treatment, assessing associations with some clinical, subclinical, and nasopharyngeal cancer outcomes

#### 3.2.1. EBV-DNA levels before and after treatment

##### 3.2.1.2. Comparison of plasma EBV-DNA levels before and after treatment

Table 3.9. Comparison of plasma EBV-DNA levels before and after treatment

EBV-DNA plasma concentration	Before treatment		After treatment		P
	n	%	n	%	
≥ 300 copies/ ml	88	74	20	16,8	<b>p&lt;0,01</b>
< 300 copies/ ml	31	26	99	83,2	
Tổng	119	100	119	100	
Moderate (copies/ml)	143084,1± 298768,2 copies/ml		51580± 80806,0 copies/ ml.		
Mediocre	34000		16250		

\*Prior to treatment, 74.0% of patients had a plasma EBV-DNA concentration of 300 copies / ml, after treatment was reduced to 16.8%, mean plasma EBV-DNA before treatment was 143084, 1 copies / ml, after treatment reduced to 51580 copies / ml. The difference was statistically significant (p <0.01) between plasma EBV-DNA concentrations before and after treatment.

### 3.2.2. Several factors related to plasma EBV-DNA levels of NPC patients

#### 3.2.2.1. Relationship between plasma EBV-DNA concentrations and patient clinical characteristics

#### 3.2.2.2. Relationship between plasma EBV-DNA concentrations and patients' paraclinical characteristics

#### 3.2.2.3. Relationship between plasma EBV-DNA concentration and TNM diagnosis

##### a) Diagnosis T

Table 3.10. Relationship between plasma EBV-DNA concentrations and stages of primary tumor

EBV-DNA plasma concentration (Copies/ml)		T Stage			
		T1	T2	T3	T4
<i>Before treatment</i>	< 300	9 (30,0%)	9 (25,0%)	8 (50,0%)	5 (13,5%)
	≥ 300	21 (70,0%)	27 (75,0%)	8 (50,0%)	32 (86,5%)
	Average concentration (Copies/ml)	84476 ± 177218	143104 ± 244392	315925 ± 564000	138319 ± 313524
p		<b>0,048</b>			
<i>After treatment</i>	< 300	29	29	13	28
	≥ 300	1	7	3	9
	Average concentration (copies/ml)	5000	34757 ± 57041	113300± 179127	49267 ± 55611
OR		1	7,0 (0,74- 65,95)	6,69 (0,57- 78,89)	9,32 (1,00- 87,98)
p		-	<b>0,048</b>	0,080	<b>0,017</b>

\*There was a statistically significant association ( $p < 0.05$ ) between plasma EBV-DNA levels prior to treatment with the primary tumor stages. The plasma EBV-DNA levels increase. After treatment, mean plasma EBV-DNA levels decreased significantly and were statistically significant ( $p < 0.05$ ).

*b) Diagnosis N*

*Table 3.11. Relationship between plasma EBV-DNA concentrations and phases of regional lymph node*

N Stage	Before treatment			After treatment		
	EBV-DNA plasma concentration (copies/ml)	OR (95% CI)	p	EBV-DNA plasma concentration (copies/ml)	OR (95% CI)	p
N0	107913 ± 206405	1	-	84600 ± 70965	1	-
N1-N2	111489 ± 262235	3,25 (1,24-8,55)	<b>0,011</b>	62622 ± 108666	1,02 (0,29-3,66)	0,968
N3	254090 ± 416844	5,83 (1,27-26,77)	<b>0,010</b>	18514 ± 15150	2,84 (0,68-11,79)	0,132

\*Prior to treatment, there was a statistically significant association ( $p < 0.05$ ) between serum EBV-DNA levels and regional nodal stages, patients with N0 nodal stage with EBV- Plasma DNA  $\geq$  300 copies / mL was 3.25 times lower in patients with stage N1-N2 and 5.83 times lower in patients with stage N3. Mean plasma EBV-DNA levels were significantly reduced after N-stage treatment



### 3.2.2.4. Relationship between plasma EBV-DNA concentrations and response to treatment

Table 3.12. Relationship between plasma EBV-DNA concentration and patient's therapeutic approach

EBV-DNA plasma concentration		Treatments			
		<i>Radiation therapy alone</i>	<i>Radiotherapy concurrently with cisplatin</i>	<i>Neoadjuvant chemotherapy combined with radiation therapy</i>	<i>Neoadjuvant chemotherapy combined with concurrent radiotherapy</i>
<i>Before treatment</i>	< 300 copies/ml	22	4	1	4
	≥ 300 copies/ml	32	35	9	12
OR		1	6,02 (1,73 – 20,93)	6,19 (0,68 – 56,61)	1,29 (0,58 – 7,39)
P		-	<b>0,001</b>	0,065	0,256
<i>After treatment</i>	< 300 copies/ml	46	31	7	15
	≥ 300 copies/ml	8	8	3	1
OR		1	1,48 (0,50 – 4,41)	2,46 (0,51 – 11,92)	0,38 (0,04 – 3,42)
P		-	0,475	0,246	0,372

\*There was a statistically significant ( $p < 0.05$ ) relationship between plasma EBV-DNA levels before treatment with NPC treatment, patients treated with concurrent cisplatin plasma EBV-DNA levels are as high as 6.02 for radiotherapy patients.

*Table 3.13. Relationship between plasma EBV-DNA concentrations and patient response*

Treatment results	Before treatment			After treatment		
	Mean $\pm$ SD	OR (95% CI)	p	Mean $\pm$ SD	OR (95% CI)	p
Completely Response	132098 $\pm$ 316897	1	-	78882 $\pm$ 102232	1	-
Part Response	133119 $\pm$ 230724	6,39 (1,34 – 30,45)	<b>0,007</b>	13700 $\pm$ 10708	2,33 (0,79- 6,87)	0,113
Not responding	445500 $\pm$ 404513	-	-	34000	14,0 (1,04- 187,95)	<b>0,009</b>

\*There was a statistically significant ( $p < 0.05$ ) relationship between plasma EBV-DNA levels both before and after treatment with the level of NPC treatment response.

## Chapter 4 DISCUSSION

### **4.1. Describe The Clinicals, subclinicals of study subjects**

#### **4.1.1. General characteristics of the research object**

#### ***4.1.2. Traumatic lumpectomy through clinical examination, endoscopy, CT scanner, MRI and histopathology.***

The most common functional symptoms of NPC were tinnitus (55.5%) and headache (56.3%). Subsequently, symptoms of bloody snorting (26.1%), nasal symptoms were less common with 25.2% of patients presenting asphyxia and 16.8% of patients developed symptoms of nasal discharge.

Characteristics of arch tumor through endoscope, CT scanner, MRI and histopathology. Starting position: Rosenmuler hole and posterior wall are the two major sites for tumor origin. 86.5% of the patients had canxoid lesions and 13.5% had mixed lesions (ulcers, necrosis, and infiltrates). Invasive nature: 74.8% of patients had tumor spread and 25.2% had focal tumors. On histopathological findings: Type I (95%) is not known. This result is consistent with many previous studies [26], [65], [96]

#### ***4.1.3. Characteristics of lymph nodes through ultrasonographic and histopathological examination***

Ultrasound examination revealed that 74.8% of patients had nodal metastases. Among patients with nodular goiter, the majority had 1-2 nodules (69.6%) and nodes were located on the same side (56.2%). This finding is consistent with previous studies both locally and abroad, such as the study conducted by Muchiri

(2003) in 125 UTMH patients in Kenya, showed that 80.0% of patients developed symptoms nodule [86] or rate in the study by Nguyen Dinh Phuc (2006) was 71.0% [26]

#### ***4.1.4. Evaluation of the TNM stage***

In our study, 60.5% of patients in stage III-IV and 39.5% of patients in stage I-II were diagnosed with TNM. In Tang's (2014) study, only 14.6% of patients in stage I-II, in the study of Zhao (2015) and Lee (2017) were 19.0% and 21.1% % [72], [76], [84]

#### ***4.1.5. Treatments are applied to the subject***

The most common treatment for patients is radiation therapy (54.6%), followed by pure radiation (45.4%), with cisplatin co-treatment (32.8%). . After treatment, 74.0% of patients respond fully; 23.5% of the patients responded in part and only 2.5% did not respond. It can be seen that the study of Lin (2004) or Mu-Yao Chen (2015) showed similar results in our study with the majority of NPC patients responding to treatment, only a small part of the disease The nucleus is unresponsive [69], [100]

### **4.2. Quantify plasma EBV-DNA levels before and after treatment, assessing associations with some clinical, subclinical, and nasopharyngeal cancer outcomes.**

#### ***4.2.1. Results of quantitative EBV-DNA concentration in subjects of the study***

Prior to treatment, 74.0% of patients had plasma EBV-DNA concentrations of 300 copies / ml. After treatment, the plasma EBV- $\geq$  300 copies / ml was reduced to 16.8% and the difference was statistically significant ( $p < 0.01$ ). This finding is consistent with many previous studies and papers both locally and abroad [74], [98].

## **4.2.2. Relationship with plasma EBV-DNA**

### ***4.2.2.1. Relationship with clinical and laboratory characteristics***

*a) Relationship between plasma EBV-DNA concentrations and dural tumors*

*b) Relationship between plasma EBV-DNA concentrations and nodal features*

*c) Relationship between plasma EBV-DNA concentrations and disease stages*

When combined with TNM, the results show that there is a link between the patient's TNM stage and plasma EBV-DNA levels before and after treatment. Phase III-IV NPC patients had plasma EBV- $\geq 300$  copies / ml before treatment 2.35 times higher and plasma EBV- $\geq 300$  copies / ml after prompt treatment 16.49 times better than patients with stage I-II ( $p = 0.001$ ). In our study, the prevalence of patients with mean plasma EBV-DNA levels at early stage I-II ( $51920 \pm 95904$  copies / ml) was lower than that in the late stage III-IV patients ( $190238 \pm 353473$  copies / ml) and this difference was statistically significant ( $p > 0.05$ ). This result is consistent with the results of Fan (2004) in China [101].

### ***4.2.2.2. Relationship between plasma EBV-DNA concentrations and response to treatment***

Results showed a statistically significant ( $p < 0.05$ ) correlation between plasma EBV-DNA levels before and after treatment with the NPC treatment response. Respondents with partial EBV-DNA plasma concentrations of  $\geq 300$  copies / ml were 6.39 times more likely than patients with complete response ( $p = 0.007$ ) and 100% did not respond to therapy. Treatment included plasma EBV-DNA concentrations  $\geq 300$  copies / ml. The effect of plasma EBV-DNA concentrations on response to treatment has been found in several previous studies [115], [116], [117], [118]

## CONCLUSION

### **1. Describe the Clinical, subclinical of nasopharynx cancer**

- Common clinical symptoms: headache (56.3%); tinnitus (55.5%) and lymph nodes (70.6%).
- The origin of the lesion at the majority of the arches at Rosenmuler (72.3%).
- The morphologic lesions are mainly 86.5%, the rest are mixed (ulceration, necrosis, infiltration) accounts for 13.5%.
- Most of the tumors spread, invading the skull and neighboring organs (74.8%).
- Among patients with nodal glaucoma, the majority of patients had a lymph node the location was grouped into two high altitude groups.
- Among patients with lymph nodes, the majority had metastatic (58.3%).
- Histopathological characteristics: Type III WHO (95.0%); type II WHO (4.2%); type I WHO (0.8%).
- Diagnosis phase: Phase I: 6.7%; Phase II: 32.8%; Phase III: 21.0%; Phase IV: 39.5%.

### **2. Quantify plasma EBV-DNA levels before and after treatment, assessing associations with some clinical, subclinical, and nasopharyngeal cancer outcomes.**

- EBV-DNA plasma levels before and after treatment: The prevalence of EBV-DNA plasma concentrations was greater

than 300 copies / ml before treatment (74.0%). %), the difference was statistically significant ( $p < 0.05$ ).

- Mean plasma EBV-DNA before treatment:  $143084.1 \pm 298768.2$  copies / ml and post-treatment:  $51580 \pm 80806.0$  copies / ml.
- There is no association between plasma EBV-DNA concentration and some features such as muscular symptoms, physical symptoms, vesicular shape, focal and sporadic features, histopathology.
- There is a correlation between plasma EBV-DNA concentrations and the characteristics of:
  - + The number of metastatic lymph nodes: The more lymph node metastasis, the greater the plasma EBV-DNA concentration.
  - + Stage T: Patients with T3-T4 tumors have a plasma EBV  $\geq 300$  copies / ml plasma concentration, which is higher than that of T1 and T2 tumors.
  - + Stage N: Patients with N0 Nosocomial Stage have plasma EBV-DNA concentrations of  $\geq 300$  copies / ml lower than those of N1, N2, N3.
  - + TNMs stage: Stage III-IV patients had plasma EBV  $\geq 300$  copies / ml higher than those in stage I-II.
  - + Treatment outcomes: Patients who did not respond to therapy had higher plasma EBV-DNA levels than those who responded.