

KẾT QUẢ HÓA XẠ TRỊ TUẦN TỰ 66 BỆNH NHÂN UNG THƯ ĐẦU CỔ GIAI ĐOẠN III, IV (M0) ĐƯỢC XÉT NGHIỆM HPV

Trần Bảo Ngọc¹, Lê Văn Quảng²

TÓM TẮT

Mục tiêu: Mô tả tỷ lệ mắc HPV và ảnh hưởng tới kết quả điều trị với các bệnh nhân nhiễm HPV.

Đối tượng, phương pháp: 66 bệnh nhân ung thư đầu cổ giai đoạn III, IV (M0) được định danh HPV16 và HPV18 bằng kỹ thuật PCR và được chỉ định hóa xạ tuần tự. Phương pháp: can thiệp lâm sàng không đối chứng tại Bệnh viện K từ tháng 9/2009 đến hết tháng 12/2012.

Kết quả: Tuổi trung bình 54,5 (39-67 tuổi); tỷ lệ nam/nữ là 31/1; 11/17 trường hợp có cả hai thói quen hút thuốc uống rượu. 17/66 HPV dương tính (25,8%), trong đó 10 với HPV16 và 7 với HPV18, vị trí họng miệng hay gặp nhất (9/17 bệnh nhân). Các trường hợp không nhiễm HPV có tỷ lệ đáp ứng toàn bộ cao hơn có ý nghĩa thống kê rõ so với các BN có nhiễm HPV, với tỷ lệ lần lượt là 91,8% so với 58,8% ($p=0,004$). Thời gian sống thêm toàn bộ trung bình là $19,8 \pm 1,5$ tháng. Thời gian sống thêm trung bình của 49 bệnh nhân HPV âm tính là $20,8 \pm 1,6$ tháng so với $12,0 \pm 1,1$ tháng (HPV dương tính) ($p=0,042$).

Kết luận: Tỷ lệ nhiễm HPV là 25,8%, vị trí họng miệng hay gặp nhất, các bệnh nhân HPV âm tính có đáp ứng toàn bộ và thời gian sống thêm toàn bộ cao hơn có ý nghĩa với bệnh nhân HPV dương tính.

Từ khóa: hóa xạ trị tuần tự, HPV

ABSTRACT

RESULTS OF SEQUENTIAL CHEMORADIOTHERAPY IN 66 PATIENTS THE ADVANCED HEAD AND NECK CANCER BE TESTED HPV

Tran Bao Ngoc¹, Le Van Quang²

Objective: Describe the prevalence of HPV infection and its affect on the outcome of patients infected with HPV.

Methods: 66 patients with head and neck cancer stage III, IV (M0) identified HPV16 and HPV18 by PCR and indicated to sequential chemoradiotherapy. Methods: clinical interventions uncontrolled in K Hospital from Sep/2009 to Dec/2012.

Results: Mean age 54.5 (range 39-67), the ratio of male/female was 31/1, 11/17 cases with both drinking and smoking habit. 17/66 HPV positive (25.8%), including 10 for HPV16 and 7 for HPV18, the most frequently infected site was oropharynx (9/17 patients). The negative HPV patients had a statistically significant higher overall response than that in positive HPV patient group, 91.8% versus 58.8% ($p = 0.004$). Median survival was 19.8 ± 1.5 months. Median survival of 49 patients with negative HPV was 20.8 ± 1.6 months versus

1. ĐH Y Dược Thái Nguyên
2. ĐH Y Hà Nội

- Ngày nhận bài (received): 25/6/2013; Ngày phản biện (revised): 25/7/2013;
- Ngày đăng bài (accepted): 26/8/2013
- Người phản biện: TS. Phạm Nguyên Tường; ThS. Cao Khả Châu
- Người phản hồi (Corresponding author): Trần Bảo Ngọc
- Email: ngoctranbao72@gmail.com

12.0 ± 1.1 months in the HPV-positive patient group ($p = 0.042$).

Conclusions: The prevalence of HPV was 25.8%, the most common location was oropharynx, the complete response rate and the median survival in the HPV-negative patient group was significant higher than those in the HPV-positive patient group.

Key words: sequential chemoradiotherapy, HPV

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Ung thư tế bào vảy là bệnh ác tính thường xuyên nhất trong khu vực đầu cổ. Chúng có nguồn gốc từ các tế bào vảy của biểu mô lót dọc theo đường tiên hóa hô hấp trên và có đặc điểm qua nhiều giai đoạn và nhiều nguyên nhân bệnh học khác nhau.

Yếu tố nguy cơ thường gặp ở ung thư tế bào vảy vùng đầu cổ là hút thuốc lá và lạm dụng rượu, tuy nhiên có một tỷ lệ ngày càng tăng của các trường hợp là không có tiền sử hút thuốc và uống rượu được báo cáo. Khoảng 35 năm trước đây, vai trò của HPV trong ung thư cổ tử cung đã được công nhận. Ngày nay, nó cũng được coi là virus gây ung thư quan trọng ở người, không những ở các khối u cổ tử cung và bộ phận sinh dục, mà còn được biết đến ở một số vị trí khác trong đó có vùng đầu cổ [11].

Vai trò tiên lượng của nhiễm HPV trong hóa xạ kết hợp ung thư đầu cổ còn có nhiều ý kiến trái chiều và chưa thực sự thống nhất qua các nghiên cứu trên thế giới [1], [3], [5], [4], [10]. HPV được phát hiện từ năm 1949 và được chia làm nhiều loại khác nhau, tuy nhiên 2 loại HPV16 và HPV18 được các nghiên cứu đồng thuận hơn cả về liên quan tới các ung thư đầu cổ, đặc biệt ung thư họng miệng. Tại Việt Nam, chưa có nhiều tác giả quan tâm tới nhiễm HPV liên quan tới điều trị với các bệnh nhân ung thư đầu cổ, chính vì lẽ đó, chúng tôi tiến hành đề tài này nhằm mục tiêu: Mô tả tỷ lệ mắc HPV và ảnh hưởng tới kết quả điều trị với các bệnh nhân nhiễm HPV.

II. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng nghiên cứu: 66 bệnh nhân ung thư đầu cổ giai đoạn III, IV (M0) được định danh HPV16 và HPV18 bằng kỹ thuật PCR và được chỉ định hóa xạ tuần tự.

2.2. Phương pháp nghiên cứu: can thiệp lâm sàng không đối chứng.

Địa điểm và thời gian: tại Bệnh viện K từ tháng 9/2009 đến hết tháng 12/2012.

Tất cả các bệnh nhân đều trên 18 tuổi, được khẳng định mô học là ung thư tế bào vảy, giai đoạn III, IV, nhưng chưa di căn xa, chưa được điều trị gì, không có bệnh kèm theo, có chỉ định hóa xạ tuần tự, đồng ý tham gia nghiên cứu, hoàn thành liệu trình điều trị và trả lời bộ câu hỏi.

Các bệnh nhân được nhận 3 chu kỳ hóa trị tân bổ trợ phác đồ TCF (Docetaxel hoặc Paclitaxel, Cisplatin và 5-Fluorouracil) cách nhau 28 ngày. Các bệnh nhân có đáp ứng tiếp tục được hóa xạ trị đồng thời: xạ trị gia tốc, phân liều 2 Gy/lần xạ/ngày x 5 ngày/tuần, tổng liều 66-70 Gy cho u nguyên phát và hạch dương tính, xạ trị dự phòng hạch cổ phân liều như trên tổng liều 50 Gy; đồng thời với xạ trị bệnh nhân được nhận Cisplatin 100 mg/m²/ngày, vào ngày 1, 22, 43 của chu trình hóa xạ. Trong thời gian điều trị, các bệnh nhân được theo dõi sát về độc tính và được đánh giá đáp ứng.

* Phương pháp định danh HPV

- Các khối nén được cắt nhuộm HE và đọc lại.
- Tách chiết ADN tổng số:
 - + Các mảnh bệnh phẩm được đánh dấu vị trí tế bào u trên các tiêu bản HE.
 - + Tách tế bào u từ các lát cắt mô vùi nén dày 8µm.
 - + Tách ADN tổng số từ mẫu đúc nén paraffin theo hướng dẫn của Kapa Biosystem Kit.
- Quy trình tách mẫu: ADN tổng số sau khi tách được sử dụng chạy PCR để khuếch đại đoạn trình tự của gen β -globin. Sản phẩm PCR được điện di trên agarose nhằm kiểm tra nồng độ và chất lượng ADN tổng số. Những mẫu đủ tiêu chuẩn tiếp tục được sử dụng để khuếch đại gen HPV type 16 và 18, nhằm xác định sự có mặt của virus này bằng phản ứng

PCR lần 2 với hai cặp mồi đặc hiệu của type 16 và typ 18. Sản phẩm PCR được điện di trên gel agarose 1% để kiểm tra kích thước.

- Kết quả kiểm tra chất lượng ADN genome sau khi tách chiết: Chúng tôi đánh giá chất lượng và số lượng ADN tách chiết thông qua phản ứng PCR với cặp mồi GL-F/GL-R của gen β -globin. Phản ứng PCR nhân bản gen β -globin từ ADN genome sau khi tách chiết được trình bày trên hình 2.3. Kết quả này cho thấy các khuôn ADN đều cho phép nhân bản một băng ADN kích thước khoảng 300 bp đặc hiệu của gen đơn bản β -globin. Chỉ những trường hợp ADN tổng số đảm bảo số lượng và chất lượng mới được dùng để kiểm tra với cặp mồi đặc hiệu gen HPV. Sản phẩm PCR được điện di trên gel agarose 1%. L: Thang chuẩn ADN 100 bp. (-) Đối chứng âm (không ADN khuôn), 1-15: 15 mẫu bệnh phẩm

dùng trong nghiên cứu.

- Xác định type 16 và type 18 trên gen HPV: Hai cặp mồi đặc hiệu được thiết kế để khuếch đại vùng trình tự typ 16 và typ 18 gen HPV. Kết quả điện di trên gel agarose 1% cho kích thước sản phẩm tương ứng của hai type 16, 18 lần lượt là 512 và 415 bp. Sau đó một số mẫu được chọn ngẫu nhiên để giải trình tự bằng hệ thống giải trình tự DNA 3130 (Applied Biosystems, Foster city, CA). Kết quả giải trình tự cho thấy sự trùng hợp hoàn toàn giữa sản phẩm PCR thu được với trình tự chuẩn được cung cấp bởi ngân hàng gen.

Sau khi dữ liệu lựa chọn thống kê được đánh giá và có điểm các câu hỏi, các nhóm khác nhau của các chỉ tiêu nghiên cứu được so sánh. Xử lý số liệu bằng phần mềm thống kê SPSS (phiên bản 16.0 cho Windows).

III. KẾT QUẢ

3.1. Đặc điểm chung

Bảng 3.1. Phân bố nhóm tuổi và giới

Nhóm tuổi \ Giới	Nam n (%)	Nữ n (%)	Tổng số n (%)
≤ 40	1 (1,5)	0	1 (1,5)
41 – 50	13 (19,7)	1 (1,5)	14 (21,2)
51 – 60	39 (59,1)	1 (1,5)	40 (60,6)
61 – 70	11 (16,7)	0	12 (16,7)
Tổng số	64 (97)	2 (3)	66 (100)

3.2. Tình trạng nhiễm HPV

Bảng 3.2. Phân bố nhiễm HPV với cả hai thói quen uống rượu, hút thuốc

HPV \ Cả hai thói quen	Có n (%)	Không n (%)	Tổng số n (%)
Dương tính	11 (16,7)	6 (9,1)	17 (25,8)
Âm tính	30 (45,4)	19 (28,8)	49 (74,2)
Tổng số	41 (62,1)	25 (37,9)	66 (100)

Bảng 3.3. Phân bố nhiễm HPV với giai đoạn bệnh

HPV \ Giai đoạn	III n (%)	IV n (%)	Tổng số n (%)
Dương tính	3 (4,5)	14 (21,2)	17 (25,8)
Âm tính	13 (19,7)	36 (54,6)	49 (74,2)
Tổng số	16 (24,2)	50 (75,8)	66 (100)

Bảng 3.4. Đặc điểm các bệnh nhân nhiễm HPV theo vị trí u nguyên phát

Vị trí \ Nhiễm HPV	HPV 16 (%)	HPV 18 (%)
Khoang miệng	0	1 (1,5)
Họng miệng	6 (9,1)	3 (4,5)
Hạ họng	3 (4,5)	3 (4,5)
Thanh quản	1 (1,5)	0
Tổng số	10 (15,1)	7 (10,5)

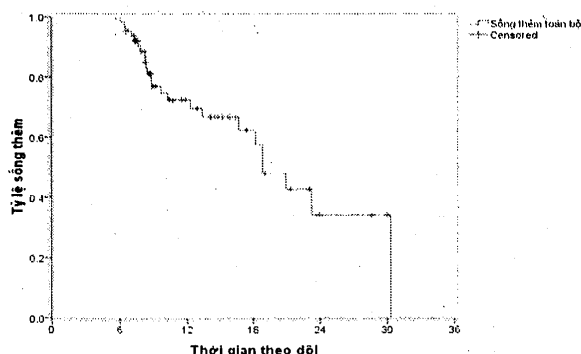
Bảng 3.5. Đáp ứng điều trị theo nhiễm HPV

Đáp ứng		CR n (%)	PR n (%)	SD n (%)	PD n (%)
Các yếu tố	HPV				
	Có	2 (11,7)	8 (47,1)	7 (41,2)	0
	Không	20 (40,8)	25 (51,0)	4 (8,2)	0
	p	< 0,05		-	

Có 66 bệnh nhân được xét nghiệm kỹ thuật PCR từ khối nền để xác định loại HPV 16 và HPV 18. Khi phân tích gộp theo test Fisher để đánh giá đáp ứng toàn bộ (do cỡ mẫu nhỏ) thấy các trường hợp không nhiễm HPV có tỷ lệ đáp ứng cao hơn có ý nghĩa thống kê rõ so với các bệnh nhân có nhiễm HPV, với tỷ lệ lần lượt là 91,8% so với 58,8% ($p=0,004$).

3.3. Sống thêm toàn bộ

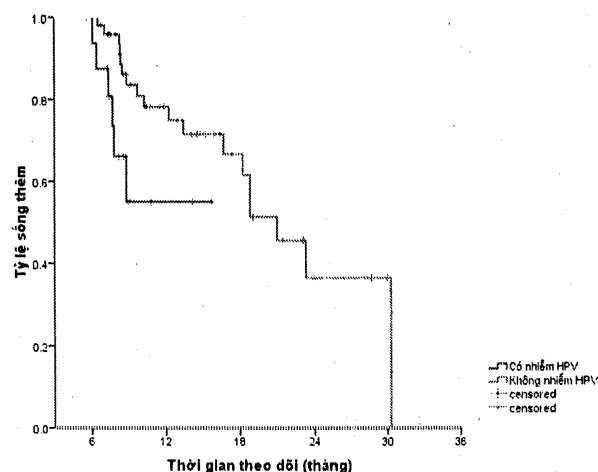
Thời gian theo dõi trung bình 66 bệnh nhân là $12,5 \pm 6,2$ tháng (6,1 - 30,2 tháng) thấy thời gian sống thêm toàn bộ trung bình là $19,8 \pm 1,5$ tháng. Thời gian sống thêm toàn bộ 12 tháng ước tính 65,8%, sau 24 tháng ước tính 35,3%.



Biểu đồ 3.1. Sống thêm toàn bộ

- Trong 66 bệnh nhân, đến thời điểm dừng nghiên cứu đã có 24 trường hợp tử vong (36,4%) và còn 42 bệnh nhân còn sống (63,6%).

- Qua biểu đồ cho thấy, bệnh nhân có tỷ lệ tử vong cao trong 18 tháng đầu sau điều trị. Khoảng thời gian từ 18 – 30 tháng thấy số tử vong có vẻ chững lại về tốc độ.



Biểu đồ 3.2. Sống thêm toàn bộ theo nhiễm HPV

- 17 bệnh nhân có nhiễm HPV (16 hoặc 18) có thời gian sống thêm trung bình $12,0 \pm 1,1$ tháng (95% CI: 9,8-14,3) và thời gian sống thêm trung bình của 49 bệnh nhân âm tính khi xét nghiệm PCR phát hiện HPV là $20,8 \pm 1,6$ tháng (95% CI: 1,6-17,5). Kiểm định log rank: $\chi^2=4,127$, bậc tự do = 1 và $p=0,042$.

- Như vậy, bệnh nhân không nhiễm HPV từ xét nghiệm PCR có thời gian sống thêm trung bình dài hơn có ý nghĩa so với các trường hợp dương tính với HPV.

IV. BÀN LUẬN

Đây là một trong số ít nghiên cứu tại Việt Nam đã tiến hành định type HPV đối với các bệnh nhân UTĐC bằng kỹ thuật PCR, do nhiều nguyên nhân khác nhau nên chúng tôi đã tiến hành xét nghiệm xác định hai loại HPV phổ biến hơn cả là HPV16 và HPV18 trên 66 khối nền của 66 bệnh nhân. Sau khi tách chiết ADN từ các khối nền được sử dụng chạy PCR để khuếch đại đoạn trình tự của gen β -globin. Kết quả thu được có 10 bệnh nhân dương tính với HPV16 và 7 bệnh nhân dương tính HPV18, kết quả chung là 17/66 bệnh nhân dương tính với HPV chiếm 25,8%, tỷ lệ HPV dương tính chủ yếu gặp ở các bệnh nhân ung thư họng miệng và hạ họng. Kết quả này cũng tương tự với các nghiên cứu khác, như phân tích tổng hợp của Kreimer (2005) với 5046 bệnh nhân UTĐC cho thấy tỷ lệ HPV dương tính là 25,9%, vị trí họng miệng hay gặp hơn cả (35,6%) và HPV16 cũng chiếm tỷ lệ cao nhất (86,7%) [7]. Tuy nhiên, kỹ thuật phát hiện HPV bằng PCR trong nghiên cứu này không hẳn là phương pháp hiệu quả nhất mà việc chẩn đoán HPV liên quan đến UTĐC được thực hiện bởi phương pháp hóa mô miễn dịch sử dụng khối nền phát hiện p16 dương tính đang nổi lên là phương pháp thay thế hợp lý cho PCR [2].

Khác với các nghiên cứu khác, nghiên cứu này có tới 11/17 bệnh nhân HPV dương tính có sử dụng thuốc lá và lạm dụng rượu, như vậy với các trường hợp này cộng hưởng cả ba yếu tố sinh bệnh và phải chăng từ đó ảnh hưởng tới đáp ứng và sống thêm toàn bộ. Với các nghiên cứu nước ngoài, như phân tích gộp của Kreimer (2005) hay của Dayyani (2010), các trường hợp HPV dương tính hay gặp ở nữ trẻ, thường ở các bệnh nhân không có hai thói quen truyền thống và yếu tố lây nhiễm chủ yếu từ các thay đổi hành vi tình dục [3], [7].

Điều này gợi mở hướng nghiên cứu tiếp theo trong tương lai về giá trị các phương pháp trong việc xác định loại HPV tại Việt Nam.

66 bệnh nhân trong nghiên cứu này có thời gian theo dõi trung bình là $12,5 \pm 6,2$ tháng (thấp nhất 6,1; cao nhất 30,2 tháng), vì nhiều nguyên nhân nên chúng tôi không có thời gian theo dõi dài hơn.

Kết quả theo dõi thấy thời gian sống thêm toàn bộ trung bình là $19,8 \pm 1,5$ tháng (tại thời điểm dừng nghiên cứu đã có 24 bệnh nhân tử vong và 42 BN còn sống); cũng do số BN tái khám không đầy đủ, nên trong phân tích chúng tôi chỉ đề cập tới tỷ lệ sống thêm toàn bộ. Ước tính sống thêm toàn bộ sau 12 tháng là 65,8%; sau 24 tháng là 35,3%.

Từ năm 1983 vai trò sinh bệnh ung thư họng miệng của HPV (đặc biệt loại HPV16 và HPV18) được quan tâm hơn và công bố gần đây của Joseph (2012) tỷ lệ liên quan HPV với ung thư đầu cổ là 25% [6], kết quả nghiên cứu này là 25,8%. Hai oncoproteins có trách nhiệm mang gen sinh ung thư của HPV, là E6 và E7, có khả năng bất hoạt p53 và pRb, các thành tố cần thiết để chuyển đổi virus sinh trưởng tế bào, dẫn đến chậm sự biệt hóa tế bào. E6 E7 tăng tần suất đột biến tự phát hoặc gây ra bởi các chất gây đột biến và là nguyên nhân của bất ổn định nhiễm sắc thể [8]. HPV gây ra sự thay đổi của p53, tuy nhiên hiếm có đột biến p53 trong các khối u HPV âm tính, đó là lý do tại sao bệnh nhân ung thư HPV dương tính có độ nhạy cảm phóng xạ tốt hơn.

Và rất nhiều nghiên cứu công nhận vai trò tiên lượng ở các bệnh nhân ung thư đầu cổ dương tính HPV, như qua phân tích tổng hợp của Dayyani (2010) trên 5681 BN [3], của Ang (2010) [1], của Huang (2012) [5]. Lý do cho việc cải thiện quan sát trong tiên lượng các bệnh ung thư liên quan đến HPV vẫn còn ba giả thuyết được đưa ra: giảm vùng ung thư hóa (field cancerization), cải thiện đáp ứng xạ trị và phản ứng miễn dịch với kháng nguyên virus. Bệnh nhân HPV dương tính ít liên quan đến rượu và thuốc lá dẫn đến ít nguy cơ hình thành vùng ung thư hóa từ đó giảm nguy cơ tử vong do ung thư thứ hai. Do tính chất của nhiễm HPV, các bệnh nhân HPV dương tính mà không hút thuốc lá có thể sẽ có nguy cơ thấp hơn nhiều hình thành khối u ác tính thứ phát. Tuy nhiên, ung thư thứ hai xảy ra tại một tỷ lệ nhỏ theo thời gian từ 2-3% mỗi năm trong ung thư đầu cổ. Vì vậy, điều này sẽ không thể dẫn đến tách biệt ấn tượng trong các đường cong sống thêm giữa HPV dương tính và HPV âm tính trong giai đoạn điều trị [9].

Trái ngược với các kết quả nêu trên, với 17/66 bệnh nhân trong nghiên cứu của chúng tôi được sử dụng kỹ thuật PCR định loại HPV qua phân tích cho thấy: các bệnh nhân HPV âm tính không những có tỷ lệ kiểm soát tại chỗ/tại vùng tốt hơn có ý nghĩa mà còn có thời gian sống thêm toàn bộ trung bình cũng dài hơn có ý nghĩa thống kê. Sở dĩ có sự khác biệt này là do sự lựa chọn toàn bộ các bệnh nhân ung thư đầu cổ và cỡ mẫu nghiên cứu thấp chưa đủ thuyết phục. Tuy vậy, kết quả nghiên cứu này cũng là kết luận của một số tác giả, như nghiên cứu 179 bệnh nhân của Flores-de la Torre (2010) [4], hay nghiên cứu của Wilson (2012) [10]. Theo Flores, nhiễm HPV đã được báo cáo là đồng yếu tố nguy cơ với các yếu tố độc lập truyền thống. Nó làm tăng nguy cơ hình thành khối u của niêm mạc họng miệng độc lập thói quen được biết đến. Gần đây, nó có liên quan (mặc dù đang gây tranh cãi) với giá trị tiên lượng thuận lợi hơn khi so sánh với sống thêm và kiểm soát tại chỗ ở các bệnh nhân không thể hiện sự hiện diện của bộ gen của virus. Qua nghiên cứu tác giả thấy mặc dù không tìm thấy sự khác biệt có ý nghĩa trong tiên lượng với bệnh nhân HPV dương tính, song tác giả đã phát hiện điều thú vị là những bệnh nhân nhiễm HPV đã được xạ trị và điều này cũng đã góp một phần vào kết quả điều trị [4].

Các kết quả nghiên cứu trái ngược này lại là cơ hội mở ra một nghiên cứu giai đoạn III về vai trò

tiên lượng của HPV trong điều trị các trường hợp ung thư đầu cổ nói chung?

V. KẾT LUẬN

- Tuổi trung bình $54,5 \pm 6,4$, thấp nhất là 39 tuổi, cao nhất 67 tuổi. Tỷ lệ nam/nữ là 31/1.

- 11/17 bệnh nhân HPV dương tính và có cả thói quen uống rượu, hút thuốc. 30 bệnh nhân không nhiễm HPV có cả hai thói quen ($p > 0,05$).

- 17 bệnh nhân nhiễm HPV (25,8%). Trong đó 10 với HPV16 và 7 với HPV18. 9/17 trường hợp dương tính với HPV xảy ra ở vị trí họng miệng và 6/17 ở vị trí hạ họng.

- Bệnh nhân không nhiễm HPV có tỷ lệ đáp ứng cao hơn có ý nghĩa thống kê rõ so với các bệnh nhân có nhiễm HPV, với tỷ lệ lần lượt là 91,8% so với 58,8% ($p = 0,004$).

- Thời gian sống thêm toàn bộ trung bình là $19,8 \pm 1,5$ tháng. Thời gian sống thêm toàn bộ 12 tháng ước tính 65,8%, sau 24 tháng ước tính 35,3%.

- 17 bệnh nhân có nhiễm HPV (16 hoặc 18) có thời gian sống thêm trung bình $12,0 \pm 1,1$ tháng (95% CI: 9,8-14,3) và thời gian sống thêm trung bình của 49 bệnh nhân âm tính khi xét nghiệm PCR phát hiện HPV là $20,8 \pm 1,6$ tháng (95% CI: 1,6-17,5). ($p = 0,042$).

- Cần tiếp tục nghiên cứu với cỡ mẫu lớn, thời gian theo dõi đủ dài và có thể nghiên cứu thêm về đột biến p53.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

Có 11 tài liệu tham khảo, nếu có nhu cầu xin đọc giả liên hệ với tác giả