

# Оценка эффективности консервативного лечения рака носоглотки путем исследования содержания ДНК вируса Эпштейна–Барр в плазме крови: обзор литературы

Д.А. Мирошниченко<sup>1</sup>, А.П. Поляков<sup>1,2</sup>, А.В. Мордовский<sup>2</sup>

<sup>1</sup>ФГАОУ ВО Первый Московский государственный медицинский университет им. И. М. Сеченова Минздрава России; 119991 Москва, ул. Большая Пироговская, 2, стр. 4;

<sup>2</sup>Московский научно-исследовательский онкологический институт им. П.А. Герцена — филиал ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр радиологии» Минздрава России; Россия, 125284 Москва, 2-й Боткинский проезд, 3;

**Контакты:** Дарья Андреевна Мирошниченко dariamiroshnichenko1996@gmail.com

Одна из основных проблем в лечении рака носоглотки — высокая частота возникновения рецидивов и метастазов. Методом выбора при первично диагностированном раке носоглотки считается химиолучевая терапия, характеризующаяся средней эффективностью. Основным этиологическим фактором возникновения рака носоглотки является вирус Эпштейна–Барр; обнаружение его ДНК в плазме крови больных раком носоглотки может указывать на наличие активного опухолевого процесса. Содержание ДНК этого вируса различается в зависимости от стадии опухолевого процесса, наличия отдаленных метастазов, индивидуальных показателей пациента, ответа опухоли на терапию. Учитывая высокую специфичность данного биологического маркера, необходимо рассмотреть возможность его применения в качестве критерия оценки успешности лечения, а также для определения прогноза.

**Ключевые слова:** рак носоглотки, вирус Эпштейна–Барр, химиолучевая терапия

**Для цитирования:** Мирошниченко Д.А., Поляков А.П., Мордовский А.В. Оценка эффективности консервативного лечения рака носоглотки путем исследования содержания ДНК вируса Эпштейна–Барр в плазме крови: обзор литературы. Опухоли головы и шеи 2020;10(3):81–9.

DOI: 10.17650/2222-1468-2020-10-3-81-89



## Monitoring the efficacy of conservative treatment of nasopharyngeal carcinoma by examining Epstein–Barr virus DNA titers in blood plasma (review)

D.A. Miroshnichenko<sup>1</sup>, A.P. Polyakov<sup>1,2</sup>, A.V. Mordovsky<sup>2</sup>

<sup>1</sup>I.M. Sechenov First Moscow State Medical University, Ministry of Health of Russia; Bld. 4, 2 Bolshaya Pirogovskaya St., Moscow 119991, Russia;

<sup>2</sup>P.A. Hertzen Moscow Oncology Research Institute — branch of the National Medical Research Radiology Center, Ministry of Health of Russia; 3 2<sup>nd</sup> Botkinsky Dr., Moscow 125284, Russia

One of the main problems of nasopharyngeal carcinoma treatment is the high incidence regional and distant failures. The method of choice in the first line therapy for the primarily diagnosed nasopharyngeal carcinoma is chemoradiotherapy with poor success rate. The main etiological factor in the occurrence of nasopharyngeal carcinoma is the Epstein–Barr virus, which DNA's copies could be detected in blood samples in patients with nasopharyngeal carcinoma, which may indicate tumor activity. The indicators of these titers reach different values depending on the stage of the tumor process, the presence of distant metastases, individual patient parameters, and the tumor response to the therapy. Given the high specificity of this biological marker, it is necessary to consider the possibility of its use as a prognostic indicator for assessing the success of the selected method of conservative treatment, as well as assessing the prognosis.

**Key words:** nasopharyngeal carcinoma, Epstein–Barr virus, chemoradiotherapy

**For citation:** Miroshnichenko D.A., Polyakov A.P., Mordovsky A.V. Monitoring the efficacy of conservative treatment of nasopharyngeal carcinoma by examining Epstein–Barr virus DNA titers in blood plasma (review). Opukholy golovy i shei = Head and Neck Tumors 2020;10(3):81–9. (In Russ.).

## Введение

Рак носоглотки носит эндемичный характер и встречается чаще у народов Юго-Восточной Азии и Африки [1, 2]. Согласно статистическим данным разных стран, злокачественные опухоли глотки составляют 0,8–3,1 % всех опухолей, но в странах Юго-Восточной Азии и Африки этот показатель возрастает до 30–40 % [1]. А. Prayongrat и соавт. сообщают, что частота рака носоглотки на территории Южного Китая достигает 29 случаев на 100 тыс. человек в год [3], а W. Zhang и соавт. указывают, что на долю рака носоглотки приходится 19 % всех случаев онкологических заболеваний, выявленных за год на территории Гонконга [4]. По сведениям J.Y.W. Chan, S.T.-S. Wong, рак носоглотки поражает каждый год 10–50 человек на 100 тыс. жителей Юго-Восточной Азии и Южного Китая [5]. А в странах Западной Европы данная патология встречается с частотой 1,4 случая на 100 тыс. человек в год [6]. Согласно отечественным данным, злокачественные опухоли глотки в 45–55 % случаев развиваются в ее верхнем отделе [1]. Мужчины чаще подвержены данной патологии, средний возраст пациентов варьирует от 20 до 44 лет [4].

Определение содержания ДНК вируса Эпштейна–Барр (ВЭБ) в плазме крови методом количественной полимеразной цепной реакции (ПЦР) давно используется для диагностики и скрининга рака носоглотки, так как характеризуется малоинвазивностью и высокой чувствительностью [7]. Несмотря на это, в настоящее время возможность применения данного метода для оценки успешности лечения и ожидаемой продолжительности жизни, а также прогнозирования возникновения рецидивов у пациентов с разными стадиями заболевания, прошедших разные курсы лечения, изучена с использованием единых диагностических протоколов лишь в небольшом числе работ на малых выборках пациентов. Данное лабораторное исследование, по всей видимости, имеет прогностическую ценность при раке носоглотки, так как основными причинами смерти больных становятся отдаленные метастазы, локальные рецидивы в носоглотке и регионарные метастазы в шейных лимфатических узлах (ЛУ) [1, 4, 8, 9].

Всемирная организация здравоохранения выделяет следующие гистологические типы рака носоглотки: ороговевающая плоскоклеточная карцинома (высокодифференцированные кератинпродуцирующие клетки (тип I)), дифференцированная неороговевающая плоскоклеточная карцинома (тип II), недифференцированная неороговевающая плоскоклеточная карцинома (тип IIb), базальноклеточно-плоскоклеточная карцинома (тип III) [10].

Многие отечественные и зарубежные исследователи изучали влияние ВЭБ на развитие рака носоглотки. По данным А.И. Пачеса, при раке носоглотки высокий

титр антител к ВЭБ выявляется в 98 % случаев (наиболее высокий — при неороговевающем и недифференцированном раке с наличием лимфоидной стромы), причем данный признак патогномоничен для рака носоглотки [1]. Рецидивы рака носоглотки, а также отдаленные метастазы (чаще в печени, костях и легких) возможно выявить путем определения содержания ДНК ВЭБ в плазме крови, так как многие исследователи полагают, что наличие свободных ДНК-копий ВЭБ, циркулирующих в крови, свидетельствует о продукции их клетками метастатических очагов или первичного опухолевого очага при неэффективном лечении. Доказано, что ДНК-копии ВЭБ выделяются в плазму крови из опухолевых клеток, а не из воспалительного компонента [5, 6, 11, 12].

Согласно данным А.И. Пачеса, в крови здоровых лиц титр антител класса IgA к ВЭБ-ассоциированным антигенам не превышает 13 %. У больных с лимфосаркомой носоглотки титр антител к ВЭБ не увеличен. Успешное лечение, сопровождаемое регрессом опухоли и наступлением ремиссии, характеризуется снижением содержания антител ко всем ВЭБ-ассоциированным антигенам. Повышение этого показателя в период ремиссии свидетельствует об угрозе возникновения рецидива опухоли или метастазов. При этом оно значительно (от 6 мес до 2 лет) опережает клиническое проявление рецидива [1]. S.S. He и соавт. полагают, что у пациентов с рецидивами и метастазами рака носоглотки количество ДНК ВЭБ в плазме крови выше, чем у тех, кто находится в клинической ремиссии [11]. В исследовании J.Y. W. Chan и соавт. уровень ДНК ВЭБ был значительно повышен у пациентов с последующим возникновением отдаленных метастазов [5]. В единственном вошедшем в данный обзор европейском исследовании D. Ferrarì и соавт. было доказано, что высокое содержание ДНК ВЭБ высокоспецифично для локально-регионарных или отдаленных метастазов рака носоглотки, так как ни у одного из пациентов, находящихся в ремиссии, уровень ДНК ВЭБ не был повышен. Точность определения рецидива по уровню ДНК ВЭБ составила 94,4 % [6].

В исследовании J.W. Lam и соавт. содержание ДНК ВЭБ используется для диагностики, скрининга, а также прогнозирования клинического исхода заболевания и напрямую зависит от стадии опухолевого процесса и опухолевой нагрузки. Эти авторы также установили, что общий объем поражения шейных ЛУ и общий объем первичного опухолевого очага — показатели, прямо коррелирующие с количеством ДНК ВЭБ в крови [13].

Некоторые авторы полагают, что содержание ДНК ВЭБ в биоптатах эпителия носоглотки может быть связано с ее попаданием из зараженной слюны, в которой нахождение ДНК ВЭБ возможно через 2 мес после проведения лучевой терапии [13, 14].

### Влияние времени забора крови для выявления ДНК вируса Эпштейна–Барр на прогностическую значимость метода

J. Zhang и соавт. выполнили метаанализ и сделали вывод о том, что определение содержания ДНК ВЭБ в плазме крови как до лечения, так и после лечения имеет большую прогностическую ценность (см. таблицу) [8]:

*Отношение рисков выживаемости до и после лечения (по данным J. Zhang и соавт. [8])*

*The hazard ratio of survival before and after treatment (according to J. Zhang et al. [8])*

Показатель Parameter	До терапии Before therapy	После терапии After therapy
Общая выживаемость Overall survival	2,78	5,43
Выживаемость при наличии ремиссии Survival in the remission	2,84	—
Выживаемость без отдаленных метастазов Distant metastases-free survival	3,26	8,19
Выживаемость без признаков прогрессирования заболевания Progression-free survival	2,42	3,55
Безрецидивная выживаемость Relapse-free survival	2,07	7,63

Данный метаанализ доказал важность оценки содержания ДНК ВЭБ до и после лечения. Выявлено, что наличие определяемых титров после лечения свидетельствует о более плохом прогнозе выживаемости пациентов с раком носоглотки [8].

Одной из целей исследования S.F. Leung и соавт. была проверка гипотезы о том, что уровень ДНК ВЭБ в плазме крови в середине курса терапии определяет исход заболевания. Обследованы пациенты со IIB – IVB стадиями опухолевого процесса и II–III гистологическим типом по классификации Всемирной организации здравоохранения. Количество копий ДНК ВЭБ в плазме крови измеряли методом количественной ПЦР перед началом терапии, по прошествии 4 нед терапии и через 3 мес после ее окончания. Повышенное количество копий ДНК ВЭБ по окончании терапии сравнивали с повышенным и неопределяемым количеством копий ДНК ВЭБ содержанием по прошествии 4 нед терапии. У 93 % пациентов наблюдалось определяемое количество копий ДНК ВЭБ до лечения (в среднем 972 копии/мл). В конце 4-й недели терапии количество копий ДНК было неопределяемым у 51 % пациентов. Через 3 мес после завершения терапии у 16 % пациен-

тов выявлены определяемое количество копий ДНК ВЭБ [15].

Количество копий ДНК ВЭБ, определяемое в ходе терапии, имеет прогностическую значимость 94,1 % при определяемом количестве копий по завершении лечения, т.е. все случаи выявления ДНК ВЭБ после завершения терапии соответствовали выявлению определяемого количества копий после 4 нед терапии. Наличие определяемого количества копий ДНК ВЭБ в ходе лечения связано со значительным риском плохого клинического исхода, возникновения отдаленных метастазов (отношение рисков (ОР) 12,02), снижения уровня выживаемости без прогрессирования (ОР 4,05) и общей выживаемости (ОР 3,29), но не возникновения локальных рецидивов. При множественном анализе количества копий ДНК ВЭБ до лечения и через 4 нед лечения, стадии опухолевого процесса, применения химиотерапии и пола пациентов установлено, что только первый из этих показателей был значимым прогностическим критерием. Количество копий ДНК ВЭБ после завершения лечения было единственным независимым критерием при прогнозировании исхода заболевания. Из 35 случаев рецидива высокое содержание ДНК ВЭБ определено до лечения в 46 %, через 4 нед терапии – в 74 %, после ее завершения – в 34 %. В данном исследовании доказано, что у пациентов с определяемым количеством копий ДНК ВЭБ в процессе лечения (даже при условии их исчезновения после лучевой терапии) прогноз хуже, чем у пациентов, у которых изначально ДНК ВЭБ не определялись [15].

В работе S.S. He и соавт. измерение количества копий ДНК ВЭБ проводилось в начале, в середине курса лучевой терапии, по ее завершении и через 3 мес после этого методом количественной ПЦР. У пациентов с определяемым количеством копий по завершении лечения, прошедших адъювантную терапию (химиотерапию и/или таргетную терапию), был более благоприятным прогноз общей выживаемости (ОР 2,419) и выживаемости без отдаленных метастазов (ОР 2,45), но не выживаемости без признаков прогрессирования заболевания, по сравнению с этими показателями у пациентов с определяемыми титрами, не проходивших адъювантную терапию. Доказана прогностическая ценность определения содержания ДНК ВЭБ в выявлении рака носоглотки, оценке эффективности лечения, стадировании, прогнозировании клинических исходов [11].

Авторы данного исследования выдвинули гипотезу о том, что высокий уровень ДНК ВЭБ до лечения у пациентов на ранних стадиях заболевания повышает вероятность возникновения отдаленных метастазов (37 %), как и у пациентов на запущенных стадиях заболевания (20–40 %). В данном исследовании большое количество копий ДНК ВЭБ до лечения при ранних стадиях (I, II) было предиктором более благоприятного исхода и лучшей общей выживаемости, чем низкий уровень ДНК

ВЭБ до лечения при запущенных стадиях (III–IVAB), прогноз выживаемости без отдаленных метастазов оставался без изменений. Пациентов разделили на 2 группы: 1-ю группу (с неопределяемым количеством копий ДНК ВЭБ после лечения и неопределяемым значением через 3 мес после него; определяемым значением после лечения и неопределяемым значением через 3 мес; с неопределяемым значением после лечения и определяемым значением через 3 мес) и 2-ю группу (с определяемыми значениями сразу после лечения и через 3 мес). У 2-й группы наблюдался более неблагоприятный прогноз заболевания: ОР общей выживаемости — 4,71, выживаемости без отдаленных метастазов — 2,396, выживаемости без признаков прогрессирования — 2,71 [11].

В исследовании J.Y.W. Chan и соавт. количество копий ДНК ВЭБ в плазме крови определено у пациентов, перенесших оперативное вмешательство (резекцию носоглотки). У первых 30 пациентов уровень ДНК ВЭБ был измерен интраоперационно через 1 ч после удаления опухоли. Так как у большинства пациентов этой группы количество копий ДНК ВЭБ было неопределяемым, авторы не проводили данное исследование у остальных пациентов. Затем количество копий ДНК ВЭБ измеряли через 1 нед после операции и затем каждые 6 мес. Среди 30 пациентов, у которых произвели забор крови через 1 ч после иссечения опухоли, только у 1 выявлено определяемое количество копий ДНК ВЭБ (4 копии/мл). Ни у одного из пациентов не обнаруживались ДНК ВЭБ через 1 нед после операции, независимо от варианта и объема резекции. Только у 84,5 % пациентов наблюдалось высокое содержание ДНК ВЭБ перед операцией. Данное исследование показало, что только у 1 из 30 пациентов ДНК ВЭБ будут обнаруживаться через 1 ч после резекции опухоли, т.е. в то время как после лучевой терапии, при которой происходит массовая гибель опухолевых клеток, наблюдается продолжительный выброс вирусной ДНК в кровь на ранних стадиях лечения, при хирургической резекции участок опухоли, содержащий вирус, удаляется сразу, не приводя к какому-либо заметному выбросу вирусной ДНК в кровь. Учитывая, что через 1 ч после резекции опухоли ДНК ВЭБ не обнаружена у большинства пациентов, можно говорить о том, что скорость выведения ДНК ВЭБ может быть достаточно быстрой. Авторы считают, что измерение количества копий ДНК ВЭБ после операции должно быть многократным, чтобы использоваться в качестве метода прогнозирования рецидива [5].

Х. Ноу и соавт. обнаружили ДНК ВЭБ в крови после лечения у 6 (11,5 %) из 52 пациентов с длительной ремиссией, ни у одного из 6 пациентов с локальным рецидивом и у 6 (54,5 %) из 11 пациентов с отдаленными метастазами. У пациентов с неопределяемым уровнем ДНК ВЭБ после лечения уровень общей выживаемости

был выше. В данном исследовании оба показателя и количество копий ДНК ВЭБ до и после лечения было значительно выше у пациентов с отдаленными метастазами, чем у тех, у кого наблюдался локальный рецидив. В исследовании количество копий ДНК ВЭБ после лечения было более значимым прогностическим критерием, чем количество ДНК ВЭБ до лечения. Авторы исследования сделали вывод, что определение содержания ДНК ВЭБ до лечения значимо для оценки опухолевой нагрузки, а определение после лечения — для прогнозирования возникновения отдаленных метастазов [9].

C.L. Hsu и соавт. [7], W.Y. Wang и соавт. [16] установили, что высокий уровень ДНК ВЭБ до лечения является предиктором возникновения отдаленных метастазов после химиолучевой терапии при раке носоглотки.

D. Ferrarì и соавт. рекомендуют оценивать количество копий ДНК ВЭБ методом ПЦР перед лечением, через 1–2 нед после лечения, и каждые 6 мес во время последующего наблюдения в случае подозрения на рецидив рака носоглотки [6].

#### **Пороговые значения количества копий ДНК вируса Эпштейна–Барр и прогноз выживаемости**

В метаанализе J. Zhang и соавт. в качестве пороговых значений количества ДНК ВЭБ в плазме крови использовали <1500, 1500, 4000, >4000 копий/мл. Пороговое значение <1500 копий/мл (в том числе 0 копий/мл) было предиктором низкой общей выживаемости (ОР 1,86); 1500 копий/мл — более низкой общей выживаемости (ОР 2,29); 4000 копий/мл — еще более низкой общей выживаемости (ОР 3,03); >4000 копий/мл — самой низкой общей выживаемости (ОР 3,40). Результаты данного исследования показывают, что ОР тем выше, чем больше пороговое значение. В сравнении с пороговым значением >1500 копий/мл показатель 0 копий/мл может спровоцировать множество ложноположительных результатов. В данном исследовании сделан вывод, что наиболее эффективным будет установление порогового значения в пределах от 1500 до 4000 копий/мл, но авторы рекомендуют >1500 копий/мл, так как значение 4000 копий/мл может снизить чувствительность метода [8].

В институте, где проводилось исследование S.S. He и соавт., количество ДНК ВЭБ в плазме крови <1000 копий/мл считалось неопределяемым. Пороговое значение до лечения составило 2500 копий/мл, в процессе лечения — 871 копий/мл, по завершении лечения — 721 копий/мл, через 3 мес после него — 211 копий/мл. У 438 (46,2 %) пациентов до лечения обнаружено >2500 копий/мл. Четырехлетняя общая выживаемость составила 89,6 %, выживаемость без отдаленных метастазов — 88,9 %, выживаемость без признаков



прогрессирования — 91,7 %. У пациентов с высоким числом копий ДНК ВЭБ прогноз общей выживаемости был значительно хуже. У пациентов с уровнем до лечения <2500 копий/мл прогноз общей выживаемости, выживаемости без отдаленных метастазов, выживаемости без признаков прогрессирования был лучше, чем у пациентов с более высоким количеством копий, чей прогноз ухудшался с повышением пороговых значений. Внутригрупповой анализ показал, что среднее пороговое значение у 949 пациентов составило 9500 копий/мл [11].

В исследовании L. Lu и соавт. количество копий ДНК ВЭБ было определяемым в 82,78 % (в 31 случае — 0 копий/мл). Средний показатель составил 15,154 копий/мл [12].

В метаанализе, проведенном W. Zhang и соавт., включавшем суммарно данные 7836 пациентов (14 исследований) установлено, что наиболее часто используемые пороговые значения — 4000 и 1500 копий/мл. Внутригрупповой анализ показал зависимость общей выживаемости от количества копий ДНК ВЭБ до лечения, но пороговые значения этого показателя не являлись прогностически значимыми в отношении рецидивов и/или отдаленных метастазов при раке носоглотки. При изучении зависимости общей выживаемости от количества копий ДНК ВЭБ после лечения в 5 исследованиях (у 549 пациентов) оказалось, что 0 копий/мл было лучшим прогностическим значением, чем 500 копий/мл [4].

В исследовании J.Y. W. Chan и соавт. среднее количество ДНК ВЭБ в плазме крови до лечения составило 348 копий/мл (и значительно различалось у пациентов с разной распространенностью по TNM). У пациентов с признаками опухолевого роста в крае резекции предоперационное количество ДНК ВЭБ было значительно больше (722 копии/мл), чем у пациентов с отсутствием признаков опухоли в крае резекции (126 копий/мл). У 8 (13,3 %) пациентов развился локальный рецидив опухоли носоглотки, среди них у 7 (87,5 %) был повышен уровень ДНК ВЭБ (среднее значение 208 копий/мл) во время установления диагноза рецидива. У 10 пациентов были обнаружены отдаленные метастазы (у 6 — в печени, у 2 — в костях, у 2 — множественные метастазы в костях, печени и легких), у них наблюдалось повышенное количество ДНК ВЭБ (среднее значение 621 копий/мл). У пациентов с локальным рецидивом (148 копий/мл) и пациентов с ремиссией (92 копии/мл) не было выявлено значимых различий в предоперационном уровне ДНК ВЭБ [5].

В работе X. Нои и соавт. среднее количество ДНК ВЭБ до лечения составило 4000 копий/мл у пациентов, пребывающих в длительной ремиссии, 3900 копий/мл у пациентов с локальным рецидивом, 20 000 копий/мл — у пациентов с отдаленными метастазами [9].

C.L. Hsu и соавт. сообщили о среднем количестве ДНК ВЭБ до лечения 284,839 копий/мл. Уровень ДНК ВЭБ измерили также у 20 здоровых людей; из них у 19 количество ДНК было неопределяемым, в 1 случае оно составило 45 копий/мл. Пороговые значения составили 1000, 5000 копий/мл и оказались наиболее значимыми критериями оценки эффективности лечения. Двухлетняя общая выживаемость составила 55,6 % при количестве <5000 копий/мл и 3,6 % при количестве >5000 копий/мл [7].

W.Y. Wang и соавт. утверждают, что 2-летняя общая выживаемость при количестве ДНК ВЭБ до лечения <5000 копий/мл составила 69,3 %, при >5000 копий/мл — 41,9 %; при <10 000 копий/мл — 69,1 %, при >10 000 копий/мл — 38,9 %. Несмотря на уменьшение размеров опухоли (<50 %), уровень ДНК ВЭБ снизился с нескольких сотен копий/мл до уровня <100 копий/мл и поддерживался на данном уровне [16].

В исследовании D. Ferrari и соавт. значение <350 копий/мл расценивалось как нормальное с учетом чувствительности теста. Контроль был выполнен у 20 пациентов с опухолями головы и шеи (без диагноза рака носоглотки), ни у одного из них не было выявлено количество ДНК ВЭБ >350 копий/мл. Количество ДНК ВЭБ вернулось к пороговым значениям у 30 пациентов с полным ответом и у 4 с частичным; у 2 пациентов с частичным ответом наблюдался высокий уровень ДНК ВЭБ. Медиана показателя у пациентов без рецидива составила 270 копий/мл, у пациентов с рецидивом ( $n = 7$ ) — 2,135 копий/мл. Измерение количества копий ДНК ВЭБ оказалось надежным молекулярным маркером для прогнозирования рецидива, так как у 5 из 7 пациентов с рецидивом количество копий было повышено (900 и 2,135 копий/мл — у пациентов с локально-регионарным рецидивом, 9 185, 15 290, 4 398 000 копий/мл при отдаленных метастазах) [6].

J.W. Lam и соавт. оценивали титр ДНК ВЭБ в образцах, взятых путем трансоральной носоглоточной браш-биопсии, пороговые значения определяемого титра ДНК ВЭБ составили: <1,7 — норма или отрицательный результат, 1,7–2,6 — сомнительный, >2,7 — аномальное количество, положительный результат. Среднее значение определяемого титра ДНК ВЭБ составило 2,38 в группе рецидива, что соответствовало сомнительному результату. В данном исследовании у всех 14 пациентов было вовлечение слизистого слоя носоглотки, что определялось эндоскопически. При первичном раке носоглотки титр ДНК ВЭБ в образце  $\geq 2,7$  свидетельствует о большей чувствительности и специфичности данного биомаркера (96,7 %) [13].

K.P. Chang и соавт. [17], Y. Jin и соавт. [18] считают наиболее удобным пороговым значением 0 копий/мл, т.е. предлагают ориентироваться на определяемое или неопределяемое количество ДНК ВЭБ в плазме крови.

**Зависимость стадии по TNM, объема и гистологической дифференцировки опухоли от количества копий ДНК вируса Эпштейна-Барр в плазме крови**

В исследовании S.F. Leung и соавт. не было обнаружено значимых различий в исходе заболевания при учете стадий опухолевого процесса (Ib, III, IV). Авторы заключили, что определение количества ДНК ВЭБ в середине лечения — более значимый прогностический показатель, чем определение стадии опухолевого процесса [15].

L. Lu и соавт. установили, что средний общий объем опухолевого очага в носоглотке составил 21,60 см<sup>3</sup>, общий объем поражения шейных ЛУ — 20,16 см<sup>3</sup>. Внутригрупповой анализ был проведен с использованием 3 пороговых значений: 20 см<sup>3</sup> — общий объем опухолевого поражения носоглотки, 10 см<sup>3</sup> — общий объем поражения шейных ЛУ и 6800 копий/мл — количество ДНК ВЭБ. Определено, что 5-летний локальный контроль при небольшом объеме опухоли носоглотки (<20 см<sup>3</sup>) составил 95,8 %, при большом объеме (>20 см<sup>3</sup>) — 84,3 %; 5-летний регионарный контроль при небольшом объеме поражения шейных ЛУ (<10 см<sup>3</sup>) — 90,8 %, при большом (>10 см<sup>3</sup>) — 81,1 %. Таким образом, общий объем оказывает влияние на 5-летний локальный и регионарный контроль. Пятилетняя безрецидивная выживаемость при небольшом объеме опухоли носоглотки составила 81,8 %, при большом — 62,3 %; при небольшом объеме поражения шейных ЛУ — 76 %, при большом — 54,5 %, при низком количестве ДНК ВЭБ (<6800 копий/мл) — 95,6 %, при высоком — 42,9 %. Выявлены значимые различия безрецидивной выживаемости в зависимости от общего объема опухоли и количества ДНК ВЭБ: 5-летняя общая выживаемость при небольшом объеме опухоли носоглотки — 95,1 %, при большом — 70,6 %; при маленьком объеме поражения шейных ЛУ — 86 %, при большом — 75,8 %; при малом количестве копий ДНК ВЭБ — 100 %, при большом — 69,5 %. По итогам выделено 4 подгруппы пациентов, различающиеся общим объемом опухоли в носоглотке, объемом поражения шейных ЛУ и количеством копий ДНК ВЭБ. Авторы отметили значительную разницу в 5-летней общей выживаемости между данными подгруппами. У пациентов с большим или небольшим объемом опухоли носоглотки и низким количеством копий ДНК ВЭБ данный показатель составил 100 %. Эти пациенты относились к группе низкого риска. У пациентов с большим или небольшим объемом опухоли носоглотки риск был средним (87,8 %), а у пациентов с большим количеством копий ДНК ВЭБ — высоким (61,3 %). Аналогично при сравнении общего объема поражения шейных ЛУ в зависимости от количества ДНК ВЭБ установлено, что низкий риск имеется у 100 %, средний — у 72 %, высокий — у 66,9 %. У пациентов с небольшими объемами и высоким уровнем ДНК ВЭБ

прогноз хуже (87,8 и 72 %), чем у пациентов с большим объемом опухоли и низким уровнем ДНК ВЭБ (оба показателя 100 %). Сниженная безрецидивная выживаемость наблюдалась у пациентов с большим объемом опухоли и высоким уровнем ДНК ВЭБ. Авторы установили, что количество копий ДНК ВЭБ при учете объема опухоли является наиболее эффективным прогностическим маркером. Таким образом, количество копий ДНК ВЭБ — более значимый прогностический критерий, чем объем опухоли. Только при наличии высоких значений количества копий ДНК ВЭБ объем опухоли может влиять на прогноз заболевания. Авторы утверждают, что титр ДНК ВЭБ является более достоверным маркером, чем объем опухоли, в отношении 5-летней общей выживаемости. Выявлено также, что увеличение объема опухоли не всегда коррелирует с увеличением количества копий ДНК ВЭБ (авторы предыдущих публикаций предполагали, что это связано с тем, что увеличение количества ДНК ВЭБ в плазме крови происходит благодаря активным опухолевым клеткам, циркулирующим в крови, или же микрометастатическим очагам, в то время как общая масса опухоли состоит из некротизированной опухолевой ткани, которая может быть неактивной) [12].

В ретроспективном исследовании X. Нон и соавт. наблюдалась положительная корреляция между количеством копий ДНК ВЭБ до лечения и стадией по TNM. Средний объем опухоли составил при I стадии 5,4 мл, при II — 18,4 мл, при III — 38,8 мл, при IV — 76,3 мл. Авторы сконструировали прогностическую модель на основе результатов исследования 69 пациентов, используя мультивариантные показатели (5 двоичных — пол, стадия процесса, патоморфологический тип, метод химиотерапии, ответ на лучевую терапию; 5 постоянных — возраст, количество ДНК до и после лечения, объем первичной опухоли и ЛУ). В данном исследовании количество ДНК ВЭБ до лечения напрямую зависело от объема опухоли и стадии по TNM. Это подтверждает, что ДНК ВЭБ продуцируются опухолевыми клетками у больных с раком носоглотки [9].

D. Ferrarì и соавт. при обследовании 35 пациентов установили, что количество ДНК ВЭБ до лечения составило >350 копий/мл с медианой 4701 копий/мл. Показатель у пациентов со IIb стадией был значительно ниже (медиана 2420 копий/мл), чем у пациентов с III–IV стадиями (медиана 7520 копий/мл). У 97 % пациентов с количеством ДНК ВЭБ до лечения >350 копий/мл выявлена связь со стадией опухолевого процесса (низкие значения при IIb стадии и высокие при III–IV) [6].

В проспективном исследовании J.W. Lam и соавт. у пациентов с рецидивом средний определяемый титр ДНК ВЭБ составил 2,38 EDL, а в контрольной группе — 0,17 EDL. Наблюдались значимые различия в средних значениях показателя между группой пациентов

с рецидивом и контрольной группой. Авторы не выявили значимой разницы в среднем титре ДНК ВЭБ в зависимости от распространенности по TNM. Не обнаружено связи между титром ДНК ВЭБ и стадией локального рецидива опухоли. Считается, что количество эпителиальной ДНК может зависеть от множества факторов помимо объема опухоли, например от техники биопсии, количества живых клеток в биоптате, стабильности фрагментов ДНК ВЭБ. Таким образом, определение титра эпителиальных ДНК ВЭБ может не влиять на вероятность рецидива и не зависеть от распространенности по TNM [13].

**Прогностическая значимость скорости выведения ДНК вируса Эпштейна–Барр для мониторинга эффективности лечения и оценки прогноза заболевания**

В метаанализе, проведенном W. Zhang и соавт., в 2 исследованиях были приняты 3 пороговых значения скорости выведения ДНК ВЭБ — 4, 5 и 7 дней [4].

В исследовании C.L. Hsu и соавт. было доказано, что количество ДНК ВЭБ до лечения 5000 копий/мл при скорости выведения ДНК ВЭБ <7 дней ассоциировано с более высоким уровнем общей выживаемости [7]. Средняя скорость выведения ДНК ВЭБ составила 6,3 дня. Пороговые значения скорости выведения ДНК ВЭБ — 4, 5, 7 дней. У пациентов с низким количеством ДНК ВЭБ до лечения и с быстрой скоростью выведения ДНК ВЭБ ответ на лечение был наилучшим. Двухлетняя общая выживаемость при скорости выведения <7 дней составила 59,7 %, >7 дней — 14,3 %. Самый благоприятный прогноз общей выживаемости наблюдался при меньшем количестве ДНК ВЭБ до лечения и при быстрой скорости выведения. У пациентов, проходивших химиотерапию гемцитабином и цисплатином, при скорости выведения ДНК ВЭБ <7 дней был более благоприятным прогноз общей выживаемости. Предыдущие исследования показали, что скорость выведения ДНК ВЭБ после лучевой терапии составляет в среднем 3,8 дня, а после оперативного лечения — 139 мин. У пациентов с количеством ДНК ВЭБ до лечения <5000 копий/мл и скоростью выведения <7 дней (т.е. с меньшей вирусной нагрузкой и хорошим ответом на лечение) уровень общей выживаемости был гораздо выше [7].

W.Y. Wang и соавт. предположили, что изменение количества ДНК ВЭБ в плазме крови во время химиотерапии свидетельствует о снижении количества раковых клеток, поэтому степень этих изменений отражает чувствительность опухоли к химиотерапии. Они выявили, что определение скорости выведения ДНК ВЭБ — более достоверный прогностический маркер, чем определение количества ДНК ВЭБ до лечения, в оценке выживаемости и риска рецидивов, так как чем раньше определяется ответ на лечение, тем быстрее можно сменить режим химиотерапии при его неэффективности.

Скорость выведения ДНК ВЭБ составила в среднем 3,99 дня. Полный ответ на лечение был получен у 12 (70,6 %) из 17 пациентов со скоростью выведения <4 дней и только у 2 (11,8 %) из 17 пациентов со скоростью выведения >4 дней. Полного ответа на лечение не наблюдалось при скорости выведения >8 дней. Двухлетняя общая выживаемость пациентов со скоростью выведения <4 дней составила 79,4 %, со скоростью >4 дней — 29,4 %, со скоростью выведения <8 дней — 69,3 %, >8 дней — 16,7 %. Авторы утверждают, что определение скорости выведения ДНК ВЭБ в течение 1 мес после химиотерапии может повлиять на принятие решения об изменении режима химиотерапии у пациентов с низкой скоростью выведения [16].

**Заключение**

Согласно результатам обзора научной литературы, определение количества копий ДНК ВЭБ в плазме крови можно считать значимым методом диагностики рака носоглотки и оценки эффективности лечения, а также прогнозирования исходов. Так, с помощью этого метода во время курса лечения возможно оценить его эффективность и принять своевременное решение о необходимости смены тактики. Определение количества ДНК ВЭБ лучше всего проводить в середине и в конце курса терапии, так как это позволяет оценить ответ опухоли на лечение, а от успешности лечения зависят основные показатели выживаемости, исход заболевания.

По мнению разных авторов, пороговые значения количества копий ДНК ВЭБ необходимо выбирать, исходя из статистической выборки пациентов, их индивидуальных показателей, характеристики опухолевого процесса. Лучшим подходом авторы считают выбор минимум 4 пороговых значений (например, <1500, 1500, 4000, >4000 копий/мл) для более объективного распределения пациентов по группам риска.

Многие авторы указывают, что количество ДНК ВЭБ в плазме крови необходимо оценивать в совокупности с различными индивидуальными показателями, такими как общий объем опухоли в носоглотке и общий объем поражения шейных ЛУ, стадия опухолевого процесса и распространенность по TNM, что позволит распределить пациентов по группам риска для дальнейшей стратификации рисков и выбора или же смены тактики лечения и наблюдения.

Некоторые исследователи [4, 15] предложили модель стратификации риска по наличию определяемых значений ДНК ВЭБ:

- у пациентов с I–II стадией и неопределяемым количеством ДНК в ходе лечения возможно установление I стадии; у пациентов с III–IV стадиями и неопределяемым количеством ДНК в ходе лечения — II стадии; у пациентов с I стадией и определяемым количеством ДНК в ходе лечения — II стадии;

- у пациентов со II–IV стадиями и определяемым количеством ДНК в ходе лечения высок риск рецидива заболевания и возникновения отдаленных метастазов;
- пациентов с I–II стадией и количеством ДНК ВЭБ до лечения <4000 копий/мл можно рассматривать как пациентов с I стадией; пациентов с I стадией и количеством ДНК ВЭБ до лечения >4000 копий/мл – как пациентов со II стадией; пациентов со II стадией и количеством ДНК ВЭБ до лечения >4000 копий/мл – как пациентов с III стадией;
- у пациентов с количеством ДНК ВЭБ до лечения <5000 копий/мл и скоростью выведения <7 дней следует придерживаться действующей тактики лечения; у пациентов с показателями, превышающими данные значения, необходимо поменять тактику лечения.

Предложен новый прогностический маркер – скорость выведения ДНК ВЭБ из плазмы крови, который

позволит специалистам выполнить мониторинг эффективности консервативного лечения уже на его ранних этапах и в случае ее снижения заменить метод терапии.

Опираясь на изученные публикации, мы заключили, что подобные исследования необходимо проводить на больших выборках пациентов, с участием большего числа специалистов, с большим периодом наблюдения, что повышает достоверность результатов. Целями последующих исследований должны стать установление более точных, универсальных пороговых значений количества ДНК ВЭБ в плазме крови, определение оптимального времени забора образцов, а также разработка универсальной модели стратификации риска с использованием индивидуальных показателей пациентов, в том числе объема и стадии опухолевого процесса, количества копий ДНК ВЭБ и скорости выведения ДНК ВЭБ из плазмы крови у пациентов с раком носоглотки.

## ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Пачес А.И., Бржезовский В.Ж., Демидов Л.В. и др. Опухоли головы и шеи: руководство. М.: Практическая медицина, 2013. 478 с. [Paches A.I., Brzhezovskiy V.Z., Demidov L.V. et al. Head and neck tumors: manual. Moscow: Prakticheskaya medicina, 2013. 478 p. (In Russ.)].
2. Jemal A., Bray F., Center M.M. et al. Global cancer statistics. *CA Cancer J Clin* 2011;61(2):69–90. DOI: 10.3322/caac.20107.
3. Prayongrat A., Chakkabat C., Kannarunimit D. et al. Prevalence and significance of plasma Epstein–Barr Virus DNA level in nasopharyngeal carcinoma. *J Radiat Res* 2017;58(4):509–16. DOI: 10.1093/jrr/rrw128.
4. Zhang W., Chen Y., Chen L. et al. The clinical utility of plasma Epstein–Barr virus DNA assays in nasopharyngeal carcinoma: the dawn of a new era a systematic review and meta-analysis of 7836 cases. *Medicine (Baltimore)* 2015;94(20):e845. DOI: 10.1097/MD.0000000000000845.
5. Chan J.Y., Wong S.T. The role of plasma Epstein–Barr virus in the management of recurrent nasopharyngeal carcinoma. *Laryngoscope* 2014;124(1):126–30. DOI: 10.1002/lary.24193.
6. Ferrari D., Codeca C., Bertuzzi C. et al. Role of plasma EBV DNA levels in predicting recurrence of nasopharyngeal carcinoma in a western population. *BMC Cancer* 2012;12:208. DOI: 10.1186/1471-2407-12-208.
7. Hsu C.L., Chang K.P., Lin C.Y. et al. Plasma Epstein–Barr virus DNA concentration and clearance rate as a novel prognostic factors for metastatic nasopharyngeal carcinoma. *Head Neck* 2012;34(8):1064–70. DOI: 10.1002/hed.21890.
8. Zhang J., Shu C., Song Y. et al. Epstein–Barr virus DNA level as a novel prognostic factor in nasopharyngeal carcinoma: a meta-analysis. *Medicine (Baltimore)* 2016;95(40):e5130. DOI: 10.1097/MD.00000000000005130.
9. Hou X., Zhao C., Guo Y. et al. Different clinical significance of pre- and post-treatment plasma Epstein–Barr virus DNA load in nasopharyngeal carcinoma treated with radiotherapy. *Clin Oncol (R Coll Radiol)* 2011;23(2):128–33. DOI: 10.1016/j.clon.2010.09.001.
10. World Health Organization Pathology and genetics head and neck tumors. Ed. by L. Barnes, J.W. Eveson, P. Reichart, D. Sidransky. Lyon, 2005. Pp. 81–106.
11. He S.S., Wang Y., Bao Y. et al. Dynamic changes in plasma Epstein–Barr virus DNA load during treatment have prognostic value in nasopharyngeal carcinoma: a retrospective study. *Cancer Med* 2018;7(4):1110–7. DOI: 10.1002/cam4.1381.
12. Lu L., Li J., Zhao C. et al. Prognostic efficacy of combining tumor volume with Epstein–Barr virus DNA in patients treated with intensity-modulated radiotherapy for nasopharyngeal carcinoma. *Oral Oncol* 2016;60:18–24. DOI: 10.1016/j.oraloncology.2016.06.013.
13. Lam J.W., Chan J.Y., Ho W.K. et al. Use of transoral nasopharyngeal brush biopsy for Epstein–Barr virus DNA detection of local recurrence of nasopharyngeal carcinoma after radiotherapy. *Head Neck* 2016;38 Suppl 1:E1301–4. DOI: 10.1002/hed.24216.
14. Pow E.H., Law M.Y., Tsang P.C. et al. Salivary Epstein–Barr virus DNA level in patients with nasopharyngeal carcinoma following radiotherapy. *Oral Oncol* 2011;47(9):879–82. DOI: 10.1016/j.oraloncology.2011.06.507.
15. Leung S.F., Chan K.C., Ma B.B. et al. Plasma Epstein–Barr viral DNA load at midpoint of radiotherapy course predicts outcome in advanced-stage nasopharyngeal carcinoma. *Ann Oncol* 2014;25(6):1204–8. DOI: 10.1093/annonc/mdu117.
16. Wang W.Y., Twu C.W., Chen H.H. et al. Plasma EBV DNA clearance rate as a novel prognostic marker for metastatic/recurrent nasopharyngeal carcinoma. *Clin Cancer Res* 2010;16(3):1016–24. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-09-2796.
17. Chang K.P., Chang Y.T., Wu C.C. et al. Multiplexed immunobead-based profiling of cytokine markers for detection of nasopharyngeal carcinoma and prognosis of patient survival. *Head Neck* 2011;33(6):886–97. DOI: 10.1002/hed.21557.
18. Jin Y., Cai X.Y., Cai Y.C. et al. To build a prognostic score model containing indispensable tumor markers for metastatic nasopharyngeal carcinoma in an epidemic area. *Eur J Cancer* 2012;48(6):882–8. DOI: 10.1016/j.ejca.2011.09.004.



**Вклад авторов:**

Д.А. Мирошниченко: обзор публикаций по теме статьи, написание текста статьи;

А.П. Поляков, А.В. Мордовский: написание текста статьи, научное редактирование текста статьи.

**Authors' contributions**

D.A. Miroshnichenko: reviewing of publications of the article's theme, article writing;

A.P. Polyakov, A.V. Mordovsky: article writing, scientific editing of the article.

**ORCID авторов / ORCID of authors**

Д.А. Мирошниченко / D.A. Miroshnichenko: <https://orcid.org/0000-0002-9157-5330>

А.П. Поляков / A.P. Polyakov: <https://orcid.org/0000-0003-2095-5931>

А.В. Мордовский / A.V. Mordovsky: <https://orcid.org/0000-0002-8500-8620>

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

**Conflict of interest.** The authors declare no conflict of interest.

**Финансирование.** Работа выполнена без спонсорской поддержки.

**Financing.** The work was performed without external funding.

**Статья поступила:** 10.04.2020. **Принята к публикации:** 27.07.2020.

**Article submitted:** 10.04.2020. **Accepted for publication:** 27.07.2020.