

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2019

Сенюта Н.Б.¹, Смирнова К.В.^{1,2}, Кондратова В.Н.¹, Игнатова А.В.¹, Мудунов А.М.¹,
 Душенькина Т.Е.¹, Лихтенштейн А.В.¹, Гурцевич В.Э.¹

Диагностика рака носоглотки с помощью серологических и молекулярных маркеров вируса Эпштейна-Барр (*Herpesviridae*, *Lymphocryptovirus*, HHV-4) в случаях невыявленного первичного очага опухоли

¹ ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, 115478 г. Москва, Россия;

² ФГБОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова» Минздрава России, 117997 г. Москва, Россия

Введение. Причинами поздней диагностики рака носоглотки (РНГ) являются длительное бессимптомное течение патологического процесса, анатомическое строение носоглотки, часто маленькое, визуальное и эндоскопически не обнаруживаемое новообразование и другие факторы. При этом доказано, что этиологическим агентом при наиболее часто встречающемся недифференцированном неороговевающем гистологическом типе РНГ (нРНГ) является вирус Эпштейна-Барр (ВЭБ).

Целью работы стала оценка значимости диагностических маркеров ВЭБ (титров гуморальных антител к вирусу и концентрации вирусной ДНК в плазме) для диагностики нРНГ в группе больных с метастатическим поражением лимфатических узлов шеи без выявленного первичного очага опухоли.

Материал и методы. Материалом для исследования служила плазма крови 83 больных с метастатическим поражением шейных лимфатических узлов и не установленной локализацией первичной опухоли. Плазму от указанных больных тестировали на содержание и титры IgG- и IgA-антител к вирусному капсидному антигену ВЭБ и концентрацию вирусной ДНК.

Результаты и обсуждение. Полученные данные свидетельствуют о том, что совместное тестирование плазмы крови на ВЭБ-специфические антитела и вирусную нагрузку является полезным инструментом для предварительного скрининга больных на нРНГ, что подтверждается данными последующих морфологических и инструментальных исследований, устанавливающих окончательный диагноз. На нескольких примерах показано, что концентрация вирусной ДНК в плазме крови больных нРНГ отражает эффект проведенной терапии и прогноз болезни: ремиссию, стабилизацию опухолевого процесса, рецидив или метастазирование.

Заключение. Несмотря на то, что титры вирус-специфических антител менее точно, чем концентрация вирусной ДНК в плазме, отражают клинические проявления болезни, серологические маркеры чрезвычайно важны для предварительной диагностики нРНГ в случаях невыявленного первичного очага опухоли. Они также могут использоваться для первичного скрининга этого новообразования среди лиц из группы риска.

Ключевые слова: вирус Эпштейна-Барр; титры антител; концентрация ДНК вируса Эпштейна-Барр в плазме, больные с не выявленным первичным очагом опухоли.

Для цитирования: Сенюта Н.Б., Смирнова К.В., Кондратова В.Н., Игнатова А.В., Мудунов А.М., Душенькина Т.Е., Лихтенштейн А.В., Гурцевич В.Э. Диагностика рака носоглотки с помощью серологических и молекулярных маркеров вируса Эпштейна-Барр (*Herpesviridae*, *Lymphocryptovirus*, HHV-4) в случаях невыявленного первичного очага опухоли. *Вопросы вирусологии*. 2019; 64(5): 229-237.

DOI: <https://doi.org/10.36233/0507-4088-2019-64-5-229-237>

Информация об авторах:

Сенюта Н.Б., <http://orcid.org/0000-0001-8915-8274>

Смирнова К.В., <http://orcid.org/0000-0001-6209-977X>

Кондратова В.Н., <http://orcid.org/0000-0003-0614-8789>

Игнатова А.В., <http://orcid.org/0000-0002-6796-0968>

Мудунов А.М., <http://orcid.org/0000-0002-0918-3857>

Душенькина Т.Е., <http://orcid.org/0000-0002-3066-1606>

Лихтенштейн А.В., <http://orcid.org/0000-0002-0190-5069>

Гурцевич В.Э., <http://orcid.org/0000-0003-1840-4364>

Для корреспонденции: Гурцевич Владимир Эдуардович, д-р мед. наук, ведущий научный сотрудник лаборатории вирусного канцерогенеза НИИ канцерогенеза ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н. Н. Блохина» Минздрава России, 115478 г. Москва; <http://orcid.org/0000-0003-1840-4364>.
 E-mail: gurtsevitch-vlad-88@yandex.ru

Senyuta N.B.¹, Smirnova K.V.^{1,2}, Kondratova V.N.¹, Ignatova A.V.¹, Mudunov A.M.¹,
 Dushenkina T.E.¹, Liechtenstein A.V.¹, Gurtsevich V.E.¹

Diagnostics of nasopharyngeal carcinoma with Epstein-Barr virus (*Herpesviridae*, *Lymphocryptovirus*, HHV-4) serological and molecular markers in cases of undetected primary tumor location

¹ N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology, Moscow, 115478, Russia;

² N.I. Pirogov Russian National Research Medical University, Moscow, 117997, Russia

Introduction. The reasons of late diagnosis of nasopharyngeal carcinoma (NPC) are the long asymptomatic course of the pathological process, the anatomical structure of the nasopharynx, often small, visually and endoscopically undetectable tumor and other factors. It is proved that the Epstein-Barr virus (EBV) is an etiological agent in the most common undifferentiated non-keratinizing histological type of NPC (uNPC).

The aim of the work was to assess the significance of diagnostic markers of EBV (titers of humoral antibodies to the virus and the concentration of viral DNA in plasma) for the diagnosis of uNPC in a group of patients with metastatic lesions of the cervical lymph nodes without an identified localization of the primary tumor focus.

Material and methods. The material for the study was blood plasma of 83 patients with metastatic lesions of the cervical lymph nodes and not established localization of the primary tumor. Plasma samples were tested for the anti-EBV IgG and IgA antibody content and titers and the concentration of viral DNA.

Results and discussion. The data obtained indicate that the parallel testing of blood plasma for EBV-specific antibodies and viral load is a useful tool for preliminary screening of uNPC patients. The final diagnosis is confirmed by the data of subsequent morphological and instrumental studies. Several examples also show that the concentration of viral DNA in the blood plasma of patients with uNPC reflects the effect of the therapy and the prognosis of the disease: remission, stabilization of the tumor process, relapse or metastasis.

Conclusion. Although the titers of virus-specific antibodies are found to reflect clinical manifestations of the disease less accurately than the plasma concentrations of viral DNA, serological markers are extremely important for the preliminary diagnostics of uNPC in cases of undetected primary tumor location. They are also useful for primary screening of this neoplasm among individuals at risk.

Keywords: *Epstein-Barr virus (EBV); antibody titers; EBV DNA concentration in blood plasma; patients with undetected primary tumor focus.*

For citation: Senyuta N.B., Smirnova K.V., Kondratova V.N., Ignatova A.V., Mudunov A.M., Dushenkina T.E., Liechtenstein A.V., Gurtsevich V.E. Diagnostics of nasopharyngeal carcinoma with Epstein-Barr virus (*Herpesviridae, Lymphocryptovirus, HHV-4*) serological and molecular markers in cases of undetected primary tumor location. *Voprosy Virusologii (Problems of Virology, Russian journal)*. 2019; 64(5): 229-237. (In Russ.).

DOI: <https://doi.org/10.36233/0507-4088-2019-64-5-229-237>

For correspondence: Vladimir E. Gurtsevitch, Dr. Med. Sci., leading researcher of the laboratory of viral carcinogenesis of the N.N. Blokhin Cancer Research Center, Moscow, 115478, Russia; <http://orcid.org/0000-0003-1840-4364>.

E-mail: gurtsevitch-vlad-88@yandex.ru

Information about authors:

Senyuta N.B., <http://orcid.org/0000-0001-8915-8274>

Smirnova K.V., <http://orcid.org/0000-0001-6209-977X>

Kondratova V.N., <http://orcid.org/0000-0003-0614-8789>

Ignatova A.V., <http://orcid.org/0000-0002-6796-0968>

Mudunov A.V., <http://orcid.org/0000-0002-0918-3857>

Dushenkina T.E., <http://orcid.org/0000-0002-3066-1606>

Lichtenstein A.V., <http://orcid.org/0000-0002-0190-5069>

Gurtsevitch E.V., <http://orcid.org/0000-0003-1840-4364>

Acknowledgments. The study was conducted under the auspices of an experimental government task of the Ministry of Health of the Russian Federation and is coordinated by the Center for Strategic Planning and Risk Management of Biomedical Health of the Ministry of Health of Russia, as well as with financial support from a grant from Russian Foundation for Basic Research (project № 18-015-00505A).

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

Received 13 June 2019

Accepted 28 November 2019

Введение

Известно, что вирусом Эпштейна–Барр (ВЭБ) семейства герпесвирусов инфицировано более 90% взрослого населения земли. Первичное инфицирование обычно происходит в раннем детском возрасте и осуществляется главным образом через слюну или заражённые слюной предметы. Хотя первая встреча с ВЭБ обычно протекает бессимптомно, с данным вирусом связывают развитие целого ряда доброкачественных и злокачественных новообразований [1]. К их числу относится и рак носоглотки (РНГ) этиологическая роль ВЭБ в возникновении которого считается доказанной. Согласно классификации ВОЗ, выделяют три гистологических типа РНГ: плоскоклеточный ороговевающий (keratinizing squamous cell carcinoma), плоскоклеточный неороговевающий рак (non-keratinizing squamous carcinoma) и базалоидный плоскоклеточный рак. К плоскоклеточному неороговевающему носоглотки относят два подтипа: недифференцированный неороговевающий

(nondifferentiated non-keratinizing carcinoma) (нРНГ) и дифференцированный ороговевающий (differentiated keratinizing carcinoma) рак, клинически и прогностически не отличающиеся друг от друга [2]. Для нРНГ характерна обильная лимфоидная инфильтрация, состоящая из лимфоцитов, гистиоцитов, эозинофилов и других реактивных клеток. Именно этот морфологический вариант РНГ (нРНГ) ассоциирован с ВЭБ вне зависимости от географического происхождения и этнической принадлежности больного [3]. Плоскоклеточный ороговевающий и плоскоклеточный базалоидный рак с ВЭБ не ассоциированы.

В пользу этиологической роли ВЭБ в возникновении нРНГ свидетельствуют: а) наличие моноклональных плазмид ВЭБ и продуктов вирусных генов практически во всех опухолевых клетках; это указывает на то, что опухоли являются результатом клональной пролиферации одной клетки, изначально инфицированной вирусом [4]; б) отсутствие вирусной информации в незлокачественных эпителиальных клетках

носоглотки [5]; в) обнаружение повышенных титров IgA-антител к антигенам вируса, являющихся высоко-специфичными маркерами для скрининга нРНГ в эндемичных районах [6]; г) корреляция экспрессии вирусных белков, таких как латентные мембранные белки 1 и 2 (LMP1, LMP2) и ядерные белки EBNA1 и EBNA2, с прогрессированием опухоли [7].

Во всём мире диагностируют нРНГ, но с различной частотой, поскольку заболеваемость этой формой опухоли характеризуется географической и этнической вариабельностью [8]. Самая высокая распространённость РНГ в южных провинциях Китая и странах Юго-Восточной Азии (25–30 случаев на 100 тыс. человек в год), более низкая – среди арабов Северной Африки, коренных народов Гренландии и Аляски [9]. В европейских странах РНГ регистрируют редко, менее 0,5 случая на 100 тыс. населения в год. Примерно с такой же частотой РНГ встречается на территории бывшего СССР, включая Россию, где в структуре злокачественных новообразований в 2017 г. опухоли носоглотки у мужчин составляли 0,14%, а у женщин – 0,06% [10].

У большинства инфицированных в течение всей жизни лиц ВЭБ находится в латентном состоянии и лишь у небольшой части развивается опухоль. Отсюда следует вывод, что ВЭБ не является единственной и достаточной причиной для инициации канцерогенеза. Воздействие окружающей среды и/или генетические факторы риска, в частности определённый HLA гаплотип, также играют роль в патогенезе нРНГ [11, 12]. Факторы, которые могут потенциально способствовать проявлению онкогенных потенций ВЭБ, включают возраст, диету, иммунный статус во время первичной инфекции ВЭБ и т.д. [13, 14]. В этом плане интересно отметить, что в районах с высокой заболеваемостью нРНГ (например, в Гонконге, Тайване и южных провинциях Китая) примерно 60% детей инфицированы в возрасте двух лет, 80% в возрасте шести лет и практически 100% в возрасте 10 лет [15]. Известно, что у детей раннего возраста (до 14 лет) иммунитет ещё окончательно не сформирован и очень раннее воздействие ВЭБ и других канцерогенов на организм может играть важную роль в патогенезе нРНГ. В западноевропейских странах и в США, где низкий уровень заболеваемости этой формой опухоли, первичное инфицирование ВЭБ детей происходит относительно поздно [15].

К установленным факторам риска также относятся случаи нРНГ в семейном анамнезе, частое использование в пищу консервированной солью рыбы, редкое потребление свежих овощей и фруктов, курение и некоторые генотипы HLA [12, 16]. Другие потенциальные факторы риска включают доминирование в пищевом рационе любых консервированных продуктов [17], хронические заболевания дыхательных путей, генетические полиморфизмы в цитохроме P450 2E1 и глутатион-S-трансферазе M1 [18, 19]. К возможным факторам риска причисляют использование фитотерапии на основе трав, содержащих форболовые эфиры, являющиеся опухолевыми промоторами, а также

профессиональное воздействие пыли, формальдегида и никеля [20, 21].

Как было указано выше, для больных нРНГ характерны повышенные титры IgG- и IgA-антител к антигенам ВЭБ [22], которые начинают достигать высоких уровней задолго до установления диагноза [23]. Это дало основание предположить, что ВЭБ может участвовать в патогенезе нРНГ ещё в доклинической фазе болезни. При этом обнаружение антител IgA к вирусному капсидному антигену (ВКА) широко используется для скрининга нРНГ в эндемичных по этому заболеванию регионах Китая и странах Юго-Восточной Азии [24].

В ряде исследований установлено, что так называемый метод жидкостной биопсии, базирующийся на определении количества копий ДНК ВЭБ в плазме крови, не только высокоэффективен для диагностики нРНГ, но и полезен для выявления остаточных (клинически скрытых) опухолей после химиолучевой терапии [25], а также для оценки эффективности лечения [26]. Однако если повышенные уровни ДНК ВЭБ в плазме тесно связаны с размером опухоли, активностью её роста и ответом на химиотерапию [27], то уровни IgA-антител к ВКА, как правило, ассоциируются с повышенным риском возникновения РНГ и имеют диагностическое значение [28].

Необходимость своевременной диагностики нРНГ представляется крайне актуальной задачей, о чём свидетельствует тот факт, что у 70–80% поступающих в клинику больных диагностируют III–IV стадии болезни, а срок установления окончательного диагноза составляет в среднем 7 мес [29]. Сложность диагностики РНГ заключается не только в локализации опухоли в труднодоступном для визуализации анатомическом месте, но и в особенности клинического проявления болезни – метастазировании опухоли в лимфатические узлы шеи без клинически определяемого первичного очага опухоли в носоглотке. Однако метастазы в лимфатических узлах шеи могут иметь различное органное происхождение. В этом случае до использования современных методов визуализации опухоли, таких как КТ и МРТ, дифференциальную диагностику нРНГ от других патологий в области головы и шеи, симулирующих РНГ, логично начинать с использования вирусных маркеров ВЭБ: с определения титров ВЭБ-специфических антител и концентрации вирусной ДНК в плазме крови больных.

Исходя из вышеизложенного **целью** работы стала оценка значимости диагностических маркеров ВЭБ (титров гуморальных антител к вирусу и концентрации вирусной ДНК в плазме) для диагностики нРНГ в группе больных с метастатическим поражением лимфатических узлов шеи без выявленного первичного очага опухоли. Исследование впервые проводили в России – не эндемичном для этого новообразования регионе.

Материал и методы

Объект исследования. Изучали образцы плазмы крови от 83 больных, поступивших в ФГБУ «НМИЦ

онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России с метастазами в области шеи без первично выявленного очага опухоли. Соотношение представителей женского и мужского пола было 1 : 1, а средний возраст составил 45,2 года. После вирусологических исследований больные были обследованы клинически; носоглотка осмотрена эндоскопически, а биопсийный материал из носоглотки или метастатически поражённых лимфатических узлов верифицирован гистологически, в соответствии с классификацией ВОЗ [2]. Контрольная группа состояла из 8 больных с окончательным диагнозом «другие опухоли», не связанные с РНГ и не ассоциированные с ВЭБ.

Данное исследование, в которое вошли больные и здоровые лица по собственному согласию в результате случайной выборки, было одобрено Комитетом по этике при ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России.

Серологический тест на антитела к вирусу Эпштейна-Барр. Титры IgG- и IgA-антител к ВКА и раннему (РА) антигенам ВЭБ определяли в плазме крови больных методом непрямой иммунофлюоресценции, условия постановки которой и учёт результатов были описаны ранее [22]. Титры антител представляли в виде их среднегеометрических значений (СГЗ) и медиан (М).

Количественное определение числа копий вирусной ДНК. Число копий ДНК ВЭБ в образцах плазмы крови обследуемых больных и 200 доноров крови определяли посредством полимеразной цепной реакции в реальном времени (ПЦР-РВ). Для построения калибровочных кривых использовали ДНК диплоидных клеток Namalwa, содержащих два интегрированных вирусных генома; при этом исходили из соотношения 3,3 пг геномной ДНК – 1 копия вирусной ДНК [30]. Для ПЦР-РВ использовали праймеры к фрагменту размером 76 пар нуклеотидов в области BamHI-W ДНК ВЭБ (GenBank accession number V01555): sense primer – W-44F (5'-CCCAACACTCCACCACACC); antisense primer – W-119R (5'-TCTTAGGAGCTGTCCGAGGG); флюоресцентный зонд W-67T (5'-FAM-CACACASTACACACACCCACCCGTCTC-RTQ1). Реакцию вели в 96-луночных планшетах на приборе «CFX96» (Bio-Rad Laboratories, США) в 50 мкл реакционной смеси («Синтол», Россия), содержащей 0,3 мкМ каждого из праймеров, 25 нМ флюорес-

центного зонда, 4 мМ MgCl₂, 200 мМ каждого дНТФ, 1 ед. Таq-полимеразы, 10 мкл раствора ДНК в буфере TE (соответствует 50 мкл плазмы). В каждый анализ включали два негативных контроля (образцы, не содержащие ДНК). Условия ПЦР: денатурация 5 мин при температуре 95 °С; 40 циклов 15 с при температуре 95 °С и 30 с при температуре 56,5 °С. Данные ПЦР-РВ анализировали при помощи программы Bio-Rad CFX manager. Базируясь на результатах тестирования здоровых доноров крови, 100 копий ДНК ВЭБ в 1 мл плазмы было принято в качестве порогового значения при диагностике нРНГ.

Результаты

Для диагностики нРНГ с помощью серологического теста использовали ранее разработанное в лаборатории «Решающее правило» (РП), основанное на информативности различных серологических маркёров ВЭБ для диагностики нРНГ. Согласно РП, наиболее информативны сочетания определённых титров IgG- и IgA-антител к ВКА и IgG-антител к РА вируса. С помощью многофакторного анализа были определены оптимальные сочетания этих трёх серологических маркёров, позволяющие по характеру иммунного ответа к указанным антигенам диагностировать нРНГ с достоверностью 90% [31].

Образцы плазмы крови больных с увеличенными шейными лимфатическими узлами и неизвестной локализацией первичного очага опухоли предварительно тестировали на наличие вирус-специфических антител. Обследованные больные были разделены на две группы: с высокими, характерными для нРНГ титрами ВЭБ-специфических антител, и с низкими титрами, не характерными для этой патологии (табл. 1).

Обе группы больных в дальнейшем проходили углублённое клиническое обследование. Данные серологического анализа, подтверждающие или отвергающие нРНГ на основании РП, сопоставляли с результатами гистологического исследования и заключительного клинического диагноза и, таким образом, определяли диагностическую ценность ВЭБ-специфических антител (табл. 2).

Проведённые исследования показали, что у 28 из 33 больных с высокими титрами антител к ВЭБ, характерными для нРНГ, диагноз нРНГ был подтверждён гистологически, т. е. в 84,8% случаев серологический

Таблица 1

Результаты тестирования образцов плазмы больных с невыявленным первичным очагом опухоли в двух группах больных с контрастным серологическим ответом к антигенам вируса Эпштейна-Барр (ВЭБ)

Группа больных	Возраст, годы	СГЗ титров антител к ВЭБ							
		IgG				IgA			
		ВКА	М	РА	М	ВКА	М	РА	М
1-я (n = 33)	42,2	518,7	320	141,1	160	92,7	80	48,4	40
2-я (n = 50)	48,7	45,2	80	1,9	1	1,0	1	1,0	1,0

Примечание. СГЗ – средние геометрические значения титров антител; ВКА – вирусный капсидный антиген ВЭБ; РА – ранний антиген ВЭБ; М – медиана значений титров антител; 1-я группа – случаи невыявленного первичного очага опухоли с высокими титрами антител, характерными для неороговевающего рака носоглотки; 2-я группа – случаи невыявленного первичного очага опухоли с низкими титрами антител, нехарактерными для неороговевающего рака носоглотки.

диагноз нРНГ совпал с гистологическим, а в 15,2% случаев оказался ложнопозитивным. В группе больных с низкими титрами вирус-специфических антител ложнопозитивный диагноз нРНГ был установлен у 11 (22,0%), а отвергнут у 39 (78%) из 50 обследованных больных. Полученные данные свидетельствуют о высокой специфичности серологических маркёров ВЭБ для диагностики нРНГ в сложной для диагностики группе больных с невыявленным первичным очагом опухоли.

Особый интерес представляет сравнительный анализ диагностической ценности серологических и вирусных маркёров в виде концентрации ДНК ВЭБ в плазме крови трёх групп больных без выявленного первичного очага опухоли. Первая группа состояла из больных с подтверждённым гистологическим диагнозом нРНГ, ассоциированного с ВЭБ; 2-я группа – из больных с установленным гистологическим диагнозом ороговевающего плоскоклеточного рака носоглотки, как известно, не ассоциированного с вирусом, а 3-я – из больных с онкопатологией, не связанной с РНГ и, соответственно, с ВЭБ (табл. 3).

В 1-й группе больных результат серологического тестирования совпал с результатом гистологического исследования в 76,9% случаев, а с показателями концентрации вирусной ДНК – в 42,3% случаев. При этом диагностика нРНГ при использовании комбинации серологических и вирусологических маркёров совпала с гистологическим диагнозом нРНГ также в

76,9% случаев. Этот факт подтверждает достаточно высокую эффективность серологических и вирусных маркёров ВЭБ для диагностики нРНГ. Низкая нагрузка ДНК ВЭБ в плазме крови больных этой группы остаётся невыясненной.

Во 2-й группе больных (с гистологическим вариантом опухоли, не ассоциированной с ВЭБ) число серологически негативных случаев составило 92,3%, а число случаев с фоновым содержанием ДНК ВЭБ (< 100 копий/мл) – 69,2%. Их общая диагностическая эффективность равнялась 100%, т. е. ложнопозитивные случаи в этой группе больных не выявлены.

В 3-й группе онкологических больных (с диагнозом, не относящимся ни к одному гистологическому варианту РНГ) число серологически негативных случаев составило 75,0%, а случаев, не превышающих фоновые значения концентрации вирусной ДНК в плазме, – 87,5%. Общая диагностическая значимость обоих маркёров составила 85,7%. Эти результаты свидетельствуют в пользу достаточно высокой эффективности выявления нРНГ с помощью обоих маркёров ВЭБ в смешанной группе больных с невыявленным очагом опухоли.

Таким образом, наше исследование, проведённое в неэндемичном для РНГ регионе, свидетельствуют о том, что тестирование больных на ВЭБ-специфические антитела и концентрацию вирусной ДНК в плазме крови может оказаться полезным инструментом скрининга для раннего выявления нРНГ, особенно в

Таблица 2

Значимость титров антител к вирусу Эпштейна–Барр (ВЭБ) для диагностики плоскоклеточного неороговевающего рака носоглотки (нРНГ) у больных с невыявленным первичным очагом опухоли

Группа больных	Диагноз нРНГ, по данным ВЭБ-специфических титров антител	Диагноз нРНГ, по данным гистологического исследования	Количество совпадений серологического и гистологического диагнозов, %	Количество несовпадений серологического и гистологического диагнозов, %
1-я (n = 33)	33	28	84,8*	15,2
2-я (n = 50)	0	11	78,0	22,0

Примечание. * Обнаруженные случаи лимфомы Ходжкина и диффузной В-крупноклеточной лимфомы с высокими титрами антител к вирусу Эпштейна–Барр были исключены из группы больных с диагнозом «неороговевающий рак носоглотки»; 1-я группа – случаи невыявленного первичного очага опухоли с высокими титрами антител, характерными для неороговевающего рака носоглотки; 2-я группа – случаи невыявленного первичного очага опухоли с низкими титрами антител, нехарактерными для неороговевающего рака носоглотки.

Таблица 3

Диагностическая ценность титров антител к вирусу Эпштейна–Барр (ВЭБ) и показателей концентрации вирусной ДНК в плазме крови больных с невыявленным первичным очагом опухоли для диагностики плоскоклеточного неороговевающего рака носоглотки (нРНГ)

Группа больных	Серологический диагноз нРНГ		Количество совпадений серологического и гистологического диагнозов, %*	Диагноз нРНГ, по данным концентрации ДНК ВЭБ в плазме крови больных		Количество совпадений показаний концентрации ДНК ВЭБ и гистологического диагноза, %	Количество совпадений серологического диагноза с данными концентрации ДНК ВЭБ, %	Общая чувствительность вирусных маркеров для диагностики нРНГ
	положительный	отрицательный		положительный	отрицательный			
1-я (n = 26)	20	6	76,9	11	15	42,3	68,8	76,9
2-я (n = 13)	1	12	92,3	4	9	69,2	75,0	100
3-я (n = 8)	2	6	75,0	1	7	87,5	85,7	85,7

Примечание. 1-я группа – больные с невыявленным первичным очагом опухоли с окончательным диагнозом плоскоклеточного неороговевающего рака носоглотки, ассоциированного с вирусом Эпштейна–Барр; 2-я группа – больные с невыявленным первичным очагом опухоли с окончательным диагнозом плоскоклеточного рака носоглотки, не ассоциированного с вирусом Эпштейна–Барр; 3-я группа – больные с окончательным диагнозом «другие опухоли», не связанные с раком носоглотки и не ассоциированные с вирусом Эпштейна–Барр.

случае метастатического поражения лимфатических узлов из невыявленного первичного очага. Однако следует отметить, что ряд несовпадений значений вирусных маркёров с окончательным диагнозом, установленным на основе клинико-морфологических исследований, может быть обусловлен наличием в изучаемой группе больных патологий, не относящихся к нРНГ, но ассоциированных с вирусом. К таким патологиям относятся инфекционный мононуклеоз, лимфома Беркитта, лимфома Ходжкина, диффузная В-крупноклеточная лимфома и ряд других, снижающих точность диагностики нРНГ с помощью маркёров ВЭБ.

Что касается клинической значимости маркёров вируса, то она становится очевидной при индивидуальном мониторинге больных нРНГ на вирусную нагрузку в плазме, с одной стороны, и на IgG- и IgA-антитела к ВКА ВЭБ, с другой. Поведение этих маркёров у одного и того же больного, отражающее различные эффекты терапии у больных в состоянии ремиссии и рецидива опухолевого процесса, представлены на рис. 1 (а, б) и 2 (а, б). В частности, на рис. 1а видно, что при поступлении в клинику в плазме крови одного из двух больных нРНГ группы лиц с клинической ремиссией наблюдали высокую концентрацию ДНК ВЭБ (17 680 копий/мл). Этот показатель снизился до 444 копий после первого курса химиолучевой терапии, соответствуя стабилизации опухолевого процесса, и продолжал в дальнейшем снижаться (153 копии), но повысился перед вторым

курсом химиолучевой терапии (972 копии/мл), после которого концентрация вирусной ДНК снизилась до фоновых значений (15 копий/мл). После второго курса химиотерапии больной уже находился в клинической ремиссии. Уровни ВКА/IgG- и ВКА/IgA-антител у этого больного в целом соответствовали динамике его перехода в ремиссию, но реакция антител на вирусные антигены из-за инерции иммунного механизма была несколько отсрочена и не всегда следовала за динамикой вирусной нагрузки в плазме. Действительно, высокие титры IgG- и IgA-антител к ВКА, выявленные при поступлении больного (1 : 640 и 1 : 320 соответственно), после первого курса терапии с некоторым опозданием стали снижаться (1 : 80 и 1 : 40 соответственно). Но в состоянии ремиссии, сопровождавшейся падением вирусной нагрузки в плазме, у больного после второго курса химиотерапии был зарегистрирован некоторый подъём IgG- и IgA-антител к ВКА (1 : 320 и 1 : 80 соответственно).

Аналогичное поведение вирусных маркёров наблюдали и у другого больного с положительным ответом на терапию (см. рис. 1б). Высокая концентрация вирусной ДНК, обнаруженная до лечения (1197 копий/мл) и многократно возросшая после первого курса химиотерапии (13 608 копий/мл), возможно, в результате разрушения основной массы опухолевых клеток и высвобождения вирусной ДНК, после второго курса химиотерапии была существенно снижена до 482 копий/мл. На этом этапе у больного была отмечена полная клиническая ремиссия. Титры IgG- и

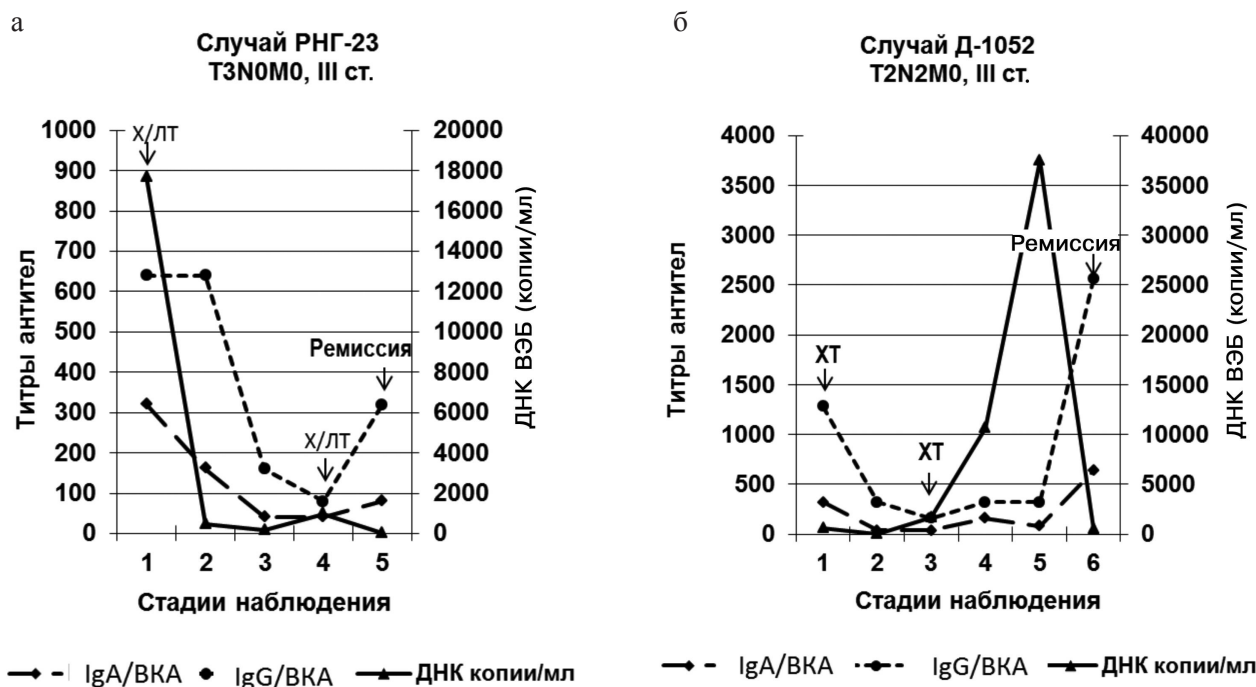


Рис. 1. Титры антител к вирусу Эпштейна–Барр и ДНК вируса в плазме крови у больных раком носоглотки в состоянии ремиссии. IgG/BKA и IgA/BKA – титры IgG- и IgA-антител к капсидному антигену вируса Эпштейна–Барр (левая шкала ординат); для демонстрации нагрузки ДНК вируса Эпштейна–Барр в виде числа копий ДНК в 1 мл плазмы крови использовали правую шкалу ординат. Обозначения в верхней части рисунков: коды пациентов, возраст, параметры опухоли в соответствии с классификацией TNM и стадия заболевания; ХТ – химиотерапия, Х/ЛТ – химиолучевая терапия.

IgA-антител к ВКА, будучи высокими при первичном обследовании больного (1 : 320 и 1 : 80 соответственно), после второго курса терапии снизились, особенно IgA-антител к ВКА (1 : 160 и 1 : 10 соответственно).

У двух больных с признаками рецидива опухоли наблюдали иную картину. Как показано на рис. 2а, нагрузка ДНК ВЭБ в плазме крови у больного до начала лечения была повышенной (639 копий/1 мл) и сопровождалась высокими IgG/ВКА- и IgA/ВКА-титрами антител (1 : 1280 и 1 : 320). После первого курса химиотерапии концентрация ДНК ВЭБ в его плазме крови существенно снизилась (16 копий/мл), что коррелировало с уменьшением размеров первичной опухоли и шейных лимфатических узлов и со снижением титров вирус-специфических антител (1 : 320 и 1 : 40 соответственно). После второго курса химиотерапии вирусная нагрузка у этого больного стала нарастать (1679 и 10 660 копий/мл) и после проведения полихимиотерапии достигла максимального значения (37 511 копий/мл). Клинически положительный ответ на первый курс химиотерапии, сопровождавшийся некоторой стабилизацией опухолевого процесса, сменился рецидивом болезни, тяжесть которой прогрессивно нарастала, что сопровождалось постепенным ростом титров IgG/ВКА- и IgA/ВКА-антител. В предтерминальной стадии концентрация вирусной ДНК у больного по непонятной нам причине существенно снизилась до 583 копий/мл, но титры антител достигли своих наивысших значений (1 : 2560 и 1 : 640 соответственно).

У второго больного (см. рис. 2б) выявленные при поступлении концентрация вирусной ДНК (21890 копий/мл) и титры IgG/ВКА и IgA/ВКА антител (1 : 40 и 1 : 80 соответственно) также были высокими. Проведение двух курсов химиотерапии привело к ремиссии опухолевого процесса: уменьшению размеров опухоли в носоглотке и шейных лимфатических узлов, что сопровождалось полным исчезновением вирусной ДНК в плазме крови и некоторым ослаблением гуморального ответа на вирус (1 : 160 и 1 : 40). Однако при поступлении в стационар через 12 мес у больного диагностировали резкое прогрессирование опухолевого процесса, сопровождающегося тотальным метастатическим поражением костей скелета, чрезвычайно высокой концентрацией вирусной ДНК в плазме (33 217 копий/мл) и усилением гуморального ответа к вирусу (1 : 640 и 1 : 160 соответственно). Таким образом, полученные данные позволяют сделать вывод о несомненной клинической значимости вирусных маркеров для мониторинга нРНГ, хотя серологический ответ к ВЭБ, в отличие от вирусной нагрузки в плазме, не всегда и не у каждого больного строго отражал клинические проявления болезни.

Обсуждение

Благодаря многочисленным исследованиям этиологическая роль ВЭБ в развитии наиболее часто встречающегося нРНГ не вызывает сомнения. Ввиду клинических особенностей РНГ, раннего метастазирования в лимфатические узлы шеи и часто без визуально и

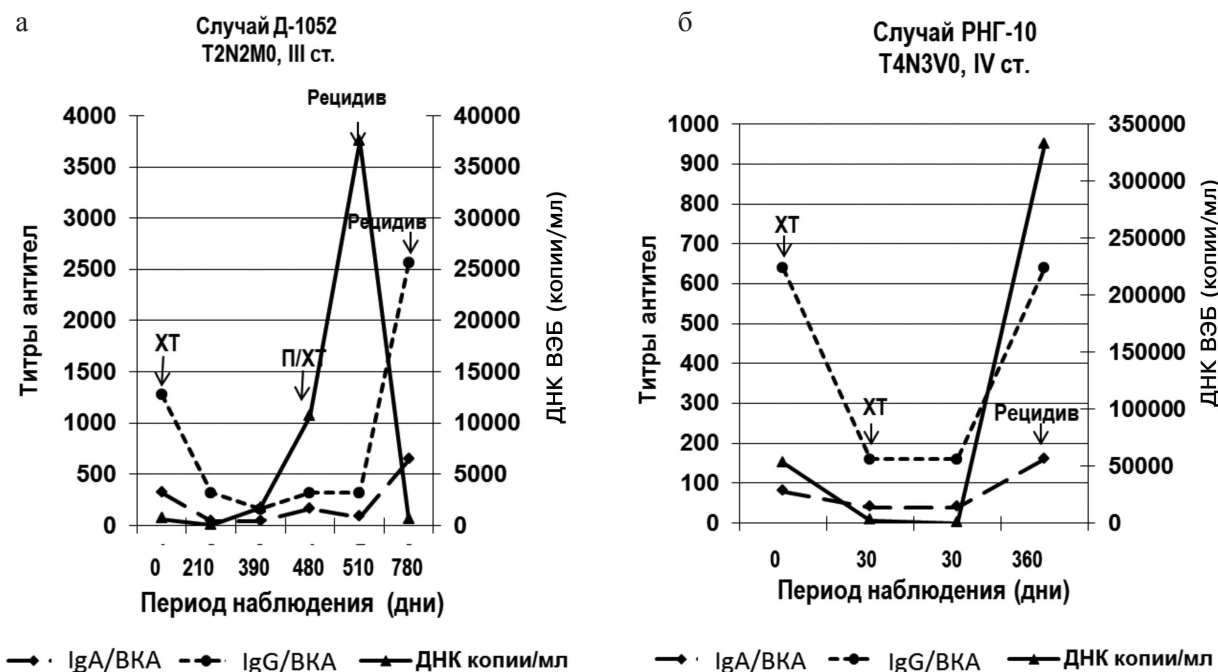


Рис. 2. Титры антител к вирусу Эпштейна–Барр и ДНК вируса в плазме крови у больных раком носоглотки в состоянии рецидива. IgG/ВКА и IgA/ВКА – титры IgG- и IgA-антител против капсидного антигена вируса Эпштейна–Барр (левая шкала ординат); для демонстрации нагрузки ДНК вируса Эпштейна–Барр в виде числа копий ДНК в 1 мл плазмы крови использовали правую шкалу ординат. Обозначения в верхней части рисунков: коды пациентов, возраст, параметры опухоли в соответствии с классификацией TNM и стадия заболевания. ХТ – химиотерапия, П/ХТ – полихимиотерапия.

эндоскопически выявляемой патологии в носоглотке, диагностика этого новообразования бывает чрезвычайно затруднена и даже ошибочна, особенно у больных с невыявленным первичным очагом опухоли. В последние годы к серологическим маркерам вируса (титрам антител к IgG/ВКА и IgA/ВКА) добавился метод количественной флюоресцентной ПЦР-РВ для определения концентрации вирусной ДНК в плазме крови больных. Совместное использование этого метода и указанного выше серологического теста может стать эффективным инструментом для диагностики, оценки клинического статуса и эффективности терапии у больных нРНГ [32].

В эндемичных по нРНГ регионах обнаружено, что лица с высокими титрами ВЭБ-специфических антител составляют группу повышенного риска развития этой формы опухоли, тогда как показатели концентрации ДНК ВЭБ в плазме крови более четко, чем антитела, коррелируют с проявлениями болезни [33]. Однако клиническая целесообразность использования этих вирусных маркеров в неэндемичных регионах у больных с метастатическими поражениями шейных лимфатических узлов без выявленного первичного очага опухоли оставалась практически неизученной.

Расхождения между показателями двух вирусологических маркеров, вероятно, можно объяснить различными механизмами их формирования. Так, титры антител IgG/ВКА и IgA/ВКА появляются в результате несколько замедленного иммунного ответа организма на белки литического репликативного цикла ВЭБ, а вирусная ДНК в плазме крови и её концентрация, вероятно, свидетельствуют об апоптотическом процессе опухолевых клеток, содержащих генетическую информацию вируса [34]. Важно отметить, что другие злокачественные и доброкачественные новообразования, ассоциированные с ВЭБ, характеризующиеся, как и нРНГ, увеличением шейных лимфатических узлов, также могут быть выявлены с помощью этих маркеров (например, инфекционный мононуклеоз, лимфома Ходжкина, ряд неходжкинских лимфом и т.д.).

В то время как серологические маркеры и вирусная ДНК в плазме крови обладают примерно одинаковой чувствительностью в плане диагностики нРНГ, копии ДНК ВЭБ в плазме больного точнее и быстрее реагируют на различные варианты клинического течения болезни. Из этого следует, что тест на IgG/IgA-антитела к ВКА как технически несложный метод может быть рекомендован для первичной и ранней диагностики или скрининга популяции на предмет выявления больных нРНГ. Тогда как концентрацию ДНК ВЭБ в плазме больного более рационально определять для мониторинга клинического течения и оценки эффективности проводимой терапии.

Совсем недавно исследования в Южном Китае показали, что комбинация EBNA1/IgA- и IgA/ВКА-антител, измеренная с помощью ELISA, имеет более высокую диагностическую ценность, чем используемое нами иммунофлюоресцентное тестирование на IgG/IgA-антитела к ВКА. Согласно мнению авторов, предложенная реакция обладает более высокой чув-

ствительностью, специфичностью и прогностической значимостью, что делает её предпочтительной для долгосрочного скрининга нРНГ в районах с высокой заболеваемостью. Вопрос, окажется ли этот тест высокочувствительным для диагностики нРНГ в группе больных с метастазами опухоли из невыявленного первичного очага в неэндемичном регионе, остаётся открытым [35].

Заключение

Наше исследование одно из первых, проведённых в неэндемичном регионе (Россия). Оно продемонстрировало, что серологические и молекулярные маркеры ВЭБ при их совместном использовании позволяют с достаточно высокой степенью вероятности осуществлять предварительную селекцию больных с подозрением на нРНГ среди онкологических больных, у которых первичный очаг опухоли неизвестен. Дальнейшие исследования с применением фиброоптической эндоскопии, гистологического анализа биоптата и, при необходимости, КТ или МРТ помогут установлению окончательного диагноза. Следует также отметить, что динамика копий вирусной ДНК в плазме больных нРНГ отражает эффект проведённой терапии и прогноз болезни: ремиссию, стабилизацию опухолевого процесса, рецидив или метастазирование. Титры вирус-специфических антител менее четко сопровождают клинические проявления болезни, но служат маркером для ранней и первичной диагностики нРНГ, в том числе у больных с метастатическими поражениями лимфатических узлов при невыявленной первичной локализации опухоли.

Финансирование. Исследование проведено под эгидой экспериментального правительственного задания Министерства здравоохранения Российской Федерации и координируется Центром стратегического планирования и управления рисками биомедицинского здравоохранения Министерства здравоохранения Российской Федерации, а также при финансовой поддержке гранта Российского Фонда Фундаментальных Исследований (РФФИ) (проект № 18-015-00505А).

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА (п.п. 1-9, 11-28, 30, 32-35 см. REFERENCES)

- Каприн А.Д., Старинский В.В., Петрова Г.В., ред. *Злокачественные новообразования в России в 2017 году (заболеваемость и смертность)*. М.; 2018.
- Белюсова Н.В., Поддубный Б.К., Унгуадзе Г.В., Кондратьева Т.Т., Архипов В.В., Пробатова Н.А. и др. Современная диагностика рака носоглотки. *Современная онкология*. 2000; 2(3): 78-82.
- Гурцевич В.Э., Степина В.Н., Сенюта Н.Б., Гончаров Е.В., Щербак Л.Н., Душенькина Т.Е. и др. Гуморальный иммунный ответ к вирусу Эпштейна-Барр в диагностике рака носоглотки (обзор литературы и 30-летний опыт собственных исследований). *Вестник РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН*. 2011; 22(2): 20-30.

REFERENCES

- Young L.S., Rickinson A.B. Epstein-Barr virus: 40 years on. *Nat. Rev. Cancer*. 2004; 4(10): 757-68. Doi: <https://doi.org/10.1038/nrc1452>
- Brennan B. Nasopharyngeal carcinoma. *Orphanet J. Rare Dis*. 2006; 1: 23. Doi: <https://doi.org/10.1186/1750-1172-1-23>

3. Marks J.E., Phillips J.L., Menck H.R. The National Cancer Data Base report on the relationship of race and national origin to the histology of nasopharyngeal carcinoma. *Cancer*. 1998; 83(3): 582-8. Doi: [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1097-0142-\(19980801\)83:3<582::AID-CNCR29>3.0.CO;2-R](https://doi.org/10.1002/(SICI)1097-0142-(19980801)83:3<582::AID-CNCR29>3.0.CO;2-R)
4. Pathmanathan R., Prasad U., Sadler R., Flynn K., Raab-Traub N. Clonal proliferations of cells infected with Epstein-Barr virus in preinvasive lesions related to nasopharyngeal carcinoma. *N. Engl. J. Med.* 1995; 333(11): 693-8. Doi: <https://doi.org/10.1056/NEJM199509143331103>
5. Chien Y.C., Chen J.Y., Liu M.Y., Yang H.I., Hsu M.M., Chen C.J., et al. Serologic markers of Epstein-Barr virus infection and nasopharyngeal carcinoma in Taiwanese men. *N. Engl. J. Med.* 2001; 345(26): 1877-82. Doi: <https://doi.org/10.1056/NEJMoa011610>
6. Song C., Yang S. A meta-analysis on the EBV DNA and VCA-IgA in diagnosis of Nasopharyngeal Carcinoma. *Pak. J. Med. Sci.* 2013; 29(3): 885-90. Doi: <https://doi.org/10.12669/pjms.293.2907>
7. Niedobitek G. Epstein-Barr virus infection in the pathogenesis of nasopharyngeal carcinoma. *Mol. Pathol.* 2000; 53(5): 248-54. Doi: <https://doi.org/10.1136/mp.53.5.248>
8. Chang C.M., Yu K.J., Mbulaiteye S.M., Hildesheim A., Bhatia K. The extent of genetic diversity of Epstein-Barr virus and its geographic and disease patterns: a need for reappraisal. *Virus Res.* 2009; 143(2): 209-21. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.virusres.2009.07.005>
9. Yu M.C., Yuan J.M. Epidemiology of nasopharyngeal carcinoma. *Semin. Cancer Biol.* 2002; 12(6): 421-9. Doi: <https://doi.org/10.1016/s1044579x02000858>
10. Kaprin A.D., Starinskiy V.V., Petrova G.V., eds. *Malignant Neoplasms in Russia in 2017 (Morbidity and Mortality) [Zlokhachestvennye novooobrazovaniya v Rossii v 2017 godu (zabolevaemost' i smertnost')]*. Moscow; 2018. (in Russian)
11. Hildesheim A., Apple R.J., Chen C.J., Wang S.S., Cheng Y.J., Klitz W., et al. Association of HLA class I and II alleles and extended haplotypes with nasopharyngeal carcinoma in Taiwan. *J. Natl. Cancer Inst.* 2002; 94(23): 1780-9. Doi: <https://doi.org/10.1093/jnci/94.23.1780>
12. Jia W.H., Qin H.D. Non-viral environmental risk factors for nasopharyngeal carcinoma: a systematic review. *Semin. Cancer Biol.* 2012; 22(2): 117-26. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.semcancer.2012.01.009>
13. Chang E.T., Adami H.O. The enigmatic epidemiology of nasopharyngeal carcinoma. *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.* 2006; 15(10): 1765-77. Doi: <https://doi.org/10.1158/1055-9965.EPI-06-0353>
14. Shivappa N., Hebert J.R., Zucchetto A., Montella M., Libra M., Garavello W., et al. Increased Risk of Nasopharyngeal Carcinoma with Increasing Levels of Diet-Associated Inflammation in an Italian Case-Control Study. *Nutr. Cancer*. 2016; 68(7): 1123-30. Doi: <https://doi.org/10.1080/01635581.2016.1216137>
15. Xiong G., Zhang B., Huang M.Y., Zhou H., Chen L.Z., Feng Q.S., et al. Epstein-Barr virus (EBV) infection in Chinese children: a retrospective study of age-specific prevalence. *PLoS One*. 2014; 9(6): e99857. Doi: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0099857>
16. Wu L., Li C., Pan L. Nasopharyngeal carcinoma: A review of current updates. *Exp. Ther. Med.* 2018; 15(4): 3687-92. Doi: <https://doi.org/10.3892/etm.2018.5878>
17. Gallicchio L., Matanoski G., Tao X.G., Chen L., Lam T.K., Boyd K., et al. Adulthood consumption of preserved and nonpreserved vegetables and the risk of nasopharyngeal carcinoma: a systematic review. *Int. J. Cancer*. 2006; 119(5): 1125-35. Doi: <https://doi.org/10.1002/ijc.21946>
18. Tiwawech D., Srivatanakul P., Karalak A., Ishida T. Glutathione S-transferase M1 gene polymorphism in Thai nasopharyngeal carcinoma. *Asian Pac. J. Cancer Prev.* 2005; 6(3): 270-5.
19. Guo X., O'Brien S.J., Zeng Y., Nelson G.W., Winkler C.A. GSTM1 and GSTT1 gene deletions and the risk for nasopharyngeal carcinoma in Han Chinese. *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.* 2008; 17(7): 1760-3. Doi: <https://doi.org/10.1158/1055-9965.EPI-08-0149>
20. Vaughan T.L., Stewart P.A., Teschke K., Lynch C.F., Swanson G.M., Lyon J.L., et al. Occupational exposure to formaldehyde and wood dust and nasopharyngeal carcinoma. *Occup. Environ. Med.* 2000; 57(6): 376-84. Doi: <https://doi.org/10.1136/oem.57.6.376>
21. Hildesheim A., Wang C.P. Genetic predisposition factors and nasopharyngeal carcinoma risk: a review of epidemiological association studies, 2000-2011: Rosetta Stone for NPC: genetics, viral infection, and other environmental factors. *Semin. Cancer Biol.* 2012; 22(2): 107-16. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.semcancer.2012.01.007>
22. Gurtsevitch V., Ruiz R., Stepina V., Plachov I., Le Riverend E., Glazkova T., et al. Epstein-Barr viral serology in nasopharyngeal carcinoma patients in the USSR and Cuba, and its value for differential diagnosis of the disease. *Int. J. Cancer*. 1986; 37(3): 375-81. Doi: <https://doi.org/10.1002/ijc.2910370308>
23. Ho H.C., Ng M.H., Kwan H.C. Factors affecting serum IgA antibody to Epstein-Barr viral capsid antigens in nasopharyngeal carcinoma. *Br. J. Cancer*. 1978; 37(3): 356-62. Doi: <https://doi.org/10.1038/bjc.1978.54>
24. Ho H.C., Kwan H.C., Ng M.H., de The G. Serum IgA antibodies to Epstein-Barr virus capsid antigen preceding symptoms of nasopharyngeal carcinoma. *Lancet*. 1978; 1 (8061): 436. Doi: [https://doi.org/10.1016/s0140-6736\(78\)91220-5](https://doi.org/10.1016/s0140-6736(78)91220-5)
25. Hou X., Zhao C., Guo Y., Han F., Lu L.X., Wu S.X., 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: <https://doi.org/10.1016/j.clon.2010.09.001>
26. Wang W.Y., Twu C.W., Chen H.H., Jan J.S., Jiang R.S., Chao J.Y., 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: <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-09-2796>
27. Fan H., Nicholls J., Chua D., Chan K.H., Sham J., Lee S., et al. Laboratory markers of tumor burden in nasopharyngeal carcinoma: a comparison of viral load and serologic tests for Epstein-Barr virus. *Int. J. Cancer*. 2004; 112(6): 1036-41. Doi: <https://doi.org/10.1002/ijc.20520>
28. Cao S.M., Liu Z., Jia W.H., Huang Q.H., Liu Q., Guo X., et al. Fluctuations of Epstein-Barr virus serological antibodies and risk for nasopharyngeal carcinoma: a prospective screening study with a 20-year follow-up. *PLoS One*. 2011; 6(4): e19100. Doi: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0019100>
29. Belousova N.V., Poddubnyy B.K., Ungiadze G.V., Kondrat'eva T.T., Arkhipov V.V., Probatova N.A., et al. Present-day diagnostics of nasopharyngeal carcinoma. *Sovremennaya onkologiya*. 2000; 2(3): 78-82. (in Russian)
30. Lawrence J.B., Villave C.A., Singer R.H. Sensitive, high-resolution chromatin and chromosome mapping in situ: presence and orientation of two closely integrated copies of EBV in a lymphoma line. *Cell*. 1988; 52(1): 51-61. Doi: [https://doi.org/10.1016/0092-8674\(88\)90530-2](https://doi.org/10.1016/0092-8674(88)90530-2)
31. Gurtsevich V.E., Stepina V.N., Senyuta N.B., Goncharov E.V., Shcherbak L.N., Dushen'kina T.E., et al. Humoral immune response to Epstein-Barr virus in the diagnosis of nasopharyngeal carcinoma (literature review and 30 years of our own experience). *Vestnik RONTs im. N.N. Blokhina RAMN*. 2011; 22(2): 20-30. (in Russian)
32. Zhao F.P., Liu X., Chen X.M., Lu J., Yu B.L., Tian W.D., et al. Levels of plasma Epstein-Barr virus DNA prior and subsequent to treatment predicts the prognosis of nasopharyngeal carcinoma. *Oncol. Lett.* 2015; 10(5): 2888-94. Doi: <https://doi.org/10.3892/ol.2015.3628>
33. Leung S.F., Tam J.S., Chan A.T., Zee B., Chan L.Y., Huang D.P., et al. Improved accuracy of detection of nasopharyngeal carcinoma by combined application of circulating Epstein-Barr virus DNA and anti- Epstein-Barr viral capsid antigen IgA antibody. *Clin. Chem.* 2004; 50(2): 339-45. Doi: <https://doi.org/10.1373/clinchem.2003.022426>
34. Zhao F.P., Liu X., Zhong Z.M., Lu J., Yu B.L., Zeng F.Y., et al. Positivity of both plasma Epstein-Barr virus DNA and serum Epstein-Barr virus capsid specific immunoglobulin A is a better prognostic biomarker for nasopharyngeal carcinoma. *BBA Clin.* 2014; 2: 88-93. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.bbacli.2014.10.003>
35. Yu X., Ji M., Cheng W., Wu B., Du Y., Cao S. Assessment of the Long-term Diagnostic Performance of a New Serological Screening Scheme in Large-scale Nasopharyngeal Carcinoma Screening. *J. Cancer*. 2018; 9(12): 2093-7. Doi: <https://doi.org/10.7150/jca.23755>

Поступила 13.06.19

Принята в печать 28.11.19