

**МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ИЗОЛЯТОВ
ВИРУСА ЭПШТЕЙНА-БАРР У ВЗРОСЛЫХ ПАЦИЕНТОВ С ВИЧ-
ИНФЕКЦИЕЙ В НИЖЕГОРОДСКОЙ ОБЛАСТИ**

Попкова М. И. ¹,

Филатова Е. Н. ¹,

Минаева С. В. ²,

Сахарнов Н. А. ¹,

Уткин О. В. ¹

¹ ФБУН Нижегородский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. академика И.Н. Блохиной Роспотребнадзора, г. Нижний Новгород, Россия.

² ФГБОУ ВО Приволжский исследовательский медицинский университет Минздрава России, г. Нижний Новгород, Россия.

**MOLECULAR AND GENETIC CHARACTERISTICS OF EPSTEIN-BARR
VIRUS ISOLATES IN ADULT PATIENTS WITH HIV INFECTION IN
NIZHNY NOVGOROD REGION**

Popkova M. I. ^a,

Filatova E. N. ^a,

Minaeva S. V. ^b,

Sakharnov N. A. ^a,

Utkin O. V. ^a

^a Academician I.N. Blokhina Nizhny Novgorod Scientific Research Institute of Epidemiology and Microbiology, Nizhniy Novgorod, Russian Federation.

^b Privolzhskiy Research Medical University, Nizhniy Novgorod, Russian Federation.

Резюме

Введение. По данным зарубежных исследований изоляты вируса Эпштейна-Барр (ВЭБ), выделенные от лиц, инфицированных вирусом иммунодефицита человека (ВИЧ), по сравнению с иммунокомпетентными лицами, имеют молекулярно-генетические особенности. В России исследования молекулярно-генетического разнообразия ВЭБ у пациентов с ВИЧ-инфекцией до сих пор не проводились.

Цель исследования – оценка молекулярно-генетического разнообразия ВЭБ у взрослых ВИЧ-инфицированных лиц в Нижегородской области.

Материалы и методы. Исследовали изоляты ВЭБ, выделенные из лейкоцитов крови 138 ВИЧ-инфицированных пациентов в возрасте 20–69 лет (группа ВИЧ(+)) и 68 ВИЧ-неинфицированных лиц сопоставимого пола и возраста без клинических признаков инфекционной патологии (группа ВИЧ(-)). Для дифференциальной детекции типов ВЭБ-1 и ВЭБ-2 в работе применялся вариант ПЦР с электрофоретической детекцией продуктов амплификации в агарозном геле. Определение нуклеотидных последовательностей С-концевого фрагмента гена *LMP-1* выполнено методом секвенирования по Сэнгеру. Филогенетический анализ данных проводили с помощью программного обеспечения MEGA X.

Результаты. В типовой структуре нижегородских изолятов ВЭБ у взрослых в группе ВИЧ(-) был обнаружен только ВЭБ-1. В то время как в группе ВИЧ(+) частота выявления ВЭБ-1 составила $88,2 \pm 3,4\%$, ВЭБ-2 – $5,4 \pm 2,3\%$, ВЭБ-1+ВЭБ-2 – $6,4 \pm 2,6\%$ случаев. В штаммовой структуре ВЭБ на основе классификации по R. Edwards и соавт. выявлено пять вариантов *LMP-1*, а именно *B95-8*, *China 1*, *Med-*, *NC* и *Alaskan*, среди которых доминировал *B95-8*. При этом их частота встречаемости между исследуемыми группами ВИЧ(+) и ВИЧ(-) не различалась. Как общая тенденция, при ВИЧ-инфекции отмечено появление рекомбинантных вариантов *LMP-1* ВЭБ, более широкий спектр делеций, выраженная вариабельность области тандемных повторов с

присутствием модифицированных мотивов и точечными аминокислотными заменами в них, а также описаны 57 аминокислотных замен, которые ранее в нижегородских изолятах ВЭБ не выявлялись. *Заключение.* Впервые в России проведена оценка молекулярно-генетического разнообразия ВЭБ у взрослых ВИЧ-инфицированных лиц. Полученные результаты лежат в основе перспективного изучения взаимосвязи клинико-лабораторных особенностей ВЭБ+ВИЧ-коинфекции и генетической гетерогенности популяции ВЭБ на уровне типов, вариантов и субвариантов вируса.

Ключевые слова: ВЭБ-1, ВЭБ-2, LMP-1, ВИЧ-инфекция, секвенирование, ПЦР.

Abstract

Introduction. According to international studies, the Epstein-Barr virus (EBV) isolates from individuals infected with the human immunodeficiency virus (HIV) are characterized by specific molecular genetic features compared to immunocompetent individuals. In Russia, no studies have yet been conducted to assessing EBV molecular genetic diversity in HIV-patients.

The aim of the study is to assess EBV molecular genetic diversity in adult HIV-patients in the Nizhny Novgorod region. *Materials and methods.* EBV isolates derived from blood leukocytes of 138 HIV-infected patients aged 20–69 years (HIV(+) group) and 68 HIV-uninfected sex- and age-matched (HIV(-) group) individuals were studied. For differential detection of EBV-1/EBV-2, there were used PCR variant with electrophoretic detection of amplification products in agarose gel. Nucleotide sequences of the C-terminal fragment *LMP-1* gene were determined by Sanger sequencing. Phylogenetic analysis was performed using MEGA X software. *Results.* In the typical pattern of Nizhny Novgorod region EBV isolates in the adults HIV(-) group, only EBV-1 was detected. In the HIV(+) group detection rate of EBV-1 was $88.2 \pm 3.4\%$, EBV-2 – $5.4 \pm 2.3\%$, EBV-1+EBV-2 – $6.4 \pm 2.6\%$ cases. In the EBV strain structure based on the classification by R. Edwards et al. five LMP-1 variants were identified: B95-8, China 1, Med-, NC and Alaskan, among which B95-8 was dominant. However, their frequency rate did not differ between the HIV(+) and HIV(-) groups. In general, in HIV infection, the appearance of recombinant EBV LMP-1 variants, a wider range of deletions, prominent variability in the tandem repeat region with the presence of modified motifs and point amino acid substitutions therein have been noted, and 57 amino acid substitutions have been described that were previously found in the Nizhny Novgorod region EBV isolates was not detected.

Conclusion. For the first time in Russia, molecular genetic EBV diversity in adult HIV-patients was carried out. The results obtained build up the basis for a

prospective study on a relationship between clinical and laboratory characteristics for EBV+HIV co-infection and genetic heterogeneity of EBV population at the level of virus types, variants and subvariants.

Keywords: EBV-1, EBV-2, LMP-1, HIV infection, sequencing, PCR.

1 Введение

2 Вирус Эпштейна-Барр (ВЭБ) относится к семейству *Herpesviridae*,
3 подсемейству *Gammaherpesvirinae*, роду *Lymphocryptoviruses*, виду *Human*
4 *gammaherpesvirus 4*. Единой классификации ВЭБ до сих пор не существует. На
5 протяжении 40 лет с момента расшифровки первой полногеномной
6 последовательности ВЭБ [14] предложено множество авторских
7 классификаций вируса, которые обобщены ранее в обзоре [4]. При этом
8 большинство из них были разработаны на основе так называемого подхода
9 «гена-кандидата», заключающегося в секвенировании и последующей оценке
10 молекулярно-генетической вариабельности отдельных генов вируса
11 (например, гена ядерного антигена 2 (*EBNA-2*), гена латентного мембранного
12 белка 1 (*LMP-1*) и др.) или их фрагментов.

13 Первая и базовая классификация ВЭБ основана на вариабельности гена
14 *EBNA-2* и позволяет разделить популяцию вируса на два основных типа – тип
15 1 (ВЭБ-1) и тип 2 (ВЭБ-2) [4]. Показано, что ВЭБ-1 является доминирующим
16 типом, обнаруженным во всем мире. В то время как высокая
17 распространенность ВЭБ-2 ограничивается странами Африки к югу от Сахары
18 и отдельными группами населения, включая лиц, живущих с вирусом
19 иммунодефицита человека (ВИЧ) [21, 34, 37, 38, 40, 41, 49, 50]. К тому же в
20 генотиповой структуре ВЭБ, выделенного от ВИЧ-инфицированных, чаще
21 встречаются случаи коинфицирования обоими типами вируса (ВЭБ-1+ВЭБ-2)
22 или разными вирусами одного типа [21, 40, 49, 50].

23 Как показал анализ литературных данных, для дальнейшего
24 субтипирования ВЭБ исследователи применяли наиболее популярную и часто
25 цитируемую классификацию по R. Edwards и соавт., основанную на
26 структурно-функциональном полиморфизме самого вариабельного гена *LMP-*
27 *1* [4, 24]. Согласно этой классификации, выделяют 7 основных геновариантов:
28 *B95-8, China 1, China 2, China 3, Mediterranean (Med), North Carolina (NC),*
29 *Alaskan* [24]. Отметим, что до сих пор у ВИЧ-инфицированных лиц

30 субтипирование ВЭБ проводилось крайне редко [13, 21, 23, 27, 30, 51]. При
31 этом исследователи ограничились поиском только делеции 10 аминокислот
32 (а.к.) в онкобелке LMP-1, охватывающую кодоны 246-355, известную также
33 как *CAO*-делеция и делетированный вариант LMP-1 [4, 21, 27, 51].
34 Полученные результаты противоречивы, поскольку по одним данным *CAO*-
35 делеция у пациентов с ВИЧ-инфекцией встречалась чаще, чем в контрольной
36 группе [21, 27], по другим - различия отсутствовали [51]. Первая и пока
37 единственная работа о распространенности при ВИЧ-инфекции вариантов
38 LMP-1 ВЭБ на основе классификации по R. Edwards и соавт. [24] появилась
39 только в мае 2023 года [46].

40 В России до сих пор не проводились исследования, направленные на
41 оценку молекулярно-генетического разнообразия ВЭБ у пациентов с ВИЧ-
42 инфекцией. В целом, характеристика молекулярно-генетических
43 особенностей ВЭБ у ВИЧ-инфицированных лежит в основе изучения
44 патогенеза, целевой разработки стратегий специфической профилактики,
45 диагностики и терапии ассоциированных с коинфицированием этими
46 вирусами заболеваний, включая злокачественные новообразования, а также
47 совершенствования системы эпидемиологического надзора за ВЭБ-инфекцией
48 и ВИЧ-инфекцией.

49 Цель исследования – оценка молекулярно-генетического разнообразия
50 ВЭБ у взрослых ВИЧ-инфицированных лиц в Нижегородской области.

51 **2 Материалы и методы**

52 *Характеристика групп исследования.* В 2021-2022 гг. обследовано 138
53 ВИЧ-инфицированных пациентов в возрасте 20–69 лет (группа ВИЧ(+)),
54 которые находились на диспансерном наблюдении в ГБУЗНО «НОЦ СПИД»
55 (г. Нижний Новгород), и 68 ВИЧ-неинфицированных лиц сопоставимого пола
56 и возраста без клинических признаков инфекционной патологии (группа
57 ВИЧ(-)), проходивших диспансеризацию в ООО «НИКА СПРИНГ НН» (г.
58 Нижний Новгород). Работа выполнена с соблюдением этических требований.

59 Информированное согласие пациентов на проведение исследовательской
60 работы в соответствии с положениями Хельсинкской декларации (2013) было
61 получено лечащими врачами медицинских организаций. Работа получила
62 одобрение на заседании локального этического комитета ФБУН ННИИЭМ им.
63 академика И.Н. Блохиной Роспотребнадзора (Протокол №3 от 11.11.2021 г.).

64 *Сбор биологического материала.* Материалом для исследования
65 послужила цельная периферическая кровь, стабилизированная К₃ЭДТА. Для
66 получения фракции лейкоцитов крови использовали реагент «Гемолитик»
67 (ФБУН ЦНИИЭ Роспотребнадзора, Россия) в соответствии с инструкцией
68 производителя.

69 *Определение ДНК ВЭБ.* Выделение тотальной нуклеиновой кислоты
70 проводили с помощью комплекта реагентов для выделения РНК/ДНК из
71 клинического материала «РИБО-преп» (ФБУН ЦНИИЭ Роспотребнадзора,
72 Россия). Выявление и количественное определение ДНК ВЭБ выполняли с
73 помощью ПЦР в реальном времени (ПЦР-РВ) с применением коммерческого
74 набора «АмплиСенс® EBV/CMV/HHV6-скрин-FL» (ФБУН ЦНИИЭ
75 Роспотребнадзора, Россия) на амплификаторе Rotor-Gene Q 5plex HRM
76 («Qiagen», Германия). Лабораторный протокол на всех этапах ПЦР-РВ
77 соблюдали согласно инструкции производителя.

78 *Дифференциальная детекция ВЭБ-1/ВЭБ-2 методом ПЦР.* Для
79 отдельной детекции основных типов ВЭБ (ВЭБ-1 и ВЭБ-2) применен
80 оптимизированный нами ранее вариант однораундовой ПЦР на основе гена
81 *EBNA-2* [5].

82 *ПЦР-анализ и секвенирование по Сэнгеру фрагмента гена LMP-1 ВЭБ.*
83 Положительные образцы, содержащие ДНК ВЭБ (по результатам ПЦР-РВ),
84 были использованы для амплификации С-концевого фрагмента гена *LMP-1*
85 вируса методом ПЦР в оптимизированном однораундовом варианте [5].
86 Лабораторный протокол последующего секвенирования по Сэнгеру
87 фрагмента гена *LMP-1* ВЭБ описан ранее в [5].

88 *Филогенетический анализ.* Биоинформационный анализ данных
89 проводился с помощью открытого программного обеспечения MEGA X (Mega
90 Software, США)¹. Полученные исходные нуклеотидные последовательности
91 выравнивались по алгоритму ClustalW. В качестве референсных
92 последовательностей служили полученные из базы данных GenBank²
93 полногеномные последовательности прототипного штамма B95-8 (V01555.1),
94 а также нуклеотидные последовательности гена *LMP-1* – штаммы *China 1*
95 (AY337723.1), *China 2* (AY337724.1), *Med-* (AY337721.2), *Med+* (AY337722.2),
96 *NC* (AY337726.2), *Alaskan* (AY337725.1), *CAO* (X58140.1) и AG876
97 (DQ279927.1). Нуклеотидные последовательности исследуемых изолятов ВЭБ
98 и референсные последовательности транслировались в аминокислотные по
99 стандартному генетическому коду. Координаты нуклеотидной
100 последовательности анализируемого участка гена *LMP-1* (168162-168763)
101 соответствовали положению 187-386-ой аминокислот в белке LMP-1.

102 Построение филогенетических деревьев выполнено на основе метода
103 максимального правдоподобия (Maximum likelihood). Принадлежность
104 исследуемых последовательностей *LMP-1* к определенным вариантам в
105 рамках классификации R.H. Edwards и соавт. устанавливалась по наличию
106 сигнатурных аминокислотных замен (согласно таблице 1 в [24]).

107 *Рекомбинационный анализ.* Предполагаемые рекомбинантные
108 последовательности анализировали с помощью программного обеспечения
109 3SEQ (BoniLab, Вьетнам – США). Использовали длину окна 200 п.н. и шаг 10
110 п.н. Статистическую значимость вероятных рекомбинационных событий
111 оценивали с применением непараметрического мозаичного теста.

112 Полученные нуклеотидные последовательности нижегородских
113 изолятов ВЭБ депонированы в международную базу данных GenBank: №№
114 доступа OR862230 - OR862331 (присвоены 12.12.2023).

¹ URL: <https://www.megasoftware.net>

² URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank>

115 В данной работе оценка молекулярно-генетического разнообразия ВЭБ
116 в нижегородских изолятах проводилась по нескольким направлениям: 1)
117 анализ типовой структуры ВЭБ; 2) дифференциальный анализ вариантов
118 LMP-1 ВЭБ на основе классификации R. Edwards и соавт. [24]; 3) поиск
119 делеций и вставок; 4) характеристика tandemных повторов; 5)
120 аминокислотные замены.

121 *Статистическая обработка данных.* Статистическая обработка данных
122 проводилась с использованием языка программирования R версия
123 2022.12.0+353 (The R Foundation for Statistical Computing, Inc)³ и среды RStudio
124 версия 2022.12.0+353 (RStudio, PBC)⁴. Частоту показателя (долю) описывали
125 с указанием стандартного отклонения процентной доли ($P \pm \sigma_p$) в %. Оценку
126 различий относительных показателей в анализируемых группах проводили с
127 применением критерия χ^2 (хи-квадрат) с поправкой Йетса и критерия Фишера.
128 Различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

129 3 Результаты исследований

130 *Типовая структура ВЭБ*

131 Частота обнаружения ДНК ВЭБ в лейкоцитах крови ВИЧ(+) пациентов
132 составила $70,3 \pm 3,9\%$ (97/138), а среди ВИЧ(-) лиц - $48,5 \pm 6,1\%$ (33/68)
133 ($p=0,008$). В результате последующего типирования полученных изолятов в
134 группе ВИЧ(-) был идентифицирован только ВЭБ-1 (33/33). В группе ВИЧ(+)
135 тип вируса установлен для 93 из 97 изолятов. При этом доминирующим типом
136 ВЭБ также являлся ВЭБ-1, который был выявлен в $88,2 \pm 3,4\%$ (82/93) изолятов.
137 ВЭБ-2 обнаружен в $5,4 \pm 2,3\%$ (5/93), а коинфицирование двумя типами вируса
138 (ВЭБ-1+ВЭБ-2) в $6,4 \pm 2,6\%$ (6/93) случаев.

139 *Оценка молекулярно-генетического разнообразия ВЭБ на основе метода* 140 *секвенирования по Сэнгеру C-концевого фрагмента гена LMP-1*

141 Дальнейшее субтипирование ВЭБ осуществлено на основе метода
142 секвенирования по Сэнгеру самого вариабельного участка генома ВЭБ –

³ URL: <https://www.R-project.org/>

⁴ URL: <http://www.rstudio.com/>

143 фрагмента С-концевой области гена *LMP-1*. Всего получено и исследовано 102
144 нуклеотидных последовательности, из них 82 изолята из лейкоцитов крови
145 ВИЧ(+), а 20 – ВИЧ(-) лиц. По результатам филогенетического анализа
146 сформировались 5 клад, которые представляют 5 из 7 известных штаммов
147 вируса, а именно *B95-8*, *China 1*, *Med*, *NC* и *Alaskan* (рис.).

148 Для подтверждения филогенетической группировки проверено наличие
149 сигнатурных аминокислотных замен, определенных авторами классификации
150 в семи основных локусах *LMP-1* ВЭБ в позициях 229, 306, 312, 322, 334, 338,
151 344. В результате анализа в одной из клад, соответствующей варианту *LMP-1*
152 *China 1*, нами были отмечены две последовательности (№№ HIV+ 1836 и HIV+
153 1808), в которых отсутствовала характерная для штамма *China 1* делеция в
154 координатах аминокислот 246-254 (10 а.к.) и сигнатурная замена Q322N. При
155 этом в последовательности №HIV+ 1836 выявлено сочетание мутаций Q322E,
156 H352R и L306Q, которые являются сигнатурными аминокислотными
157 заменами в вариантах *LMP-1 Med-* и *NC* соответственно. А в изоляте №HIV+
158 1808 аминокислотная последовательность несла признаки как штамма *AG876*
159 (*ВЭБ-2*), в частности мутацию Q322D, так и варианта *Med-*.

160 Проведен рекомбинационный анализ. Последовательность *LMP-1* №
161 HIV+ 1836 тестировали в сравнении с референсными последовательностями
162 штаммов *NC* и *Med-*. Последовательность № HIV+ 1808 – с референсными
163 последовательностями штаммов *AG876* и *Med-*. Референсную
164 последовательность штамма *China 1* использовали в качестве группы
165 сравнения. Обнаружено, что последовательность № HIV+ 1836 могла
166 возникнуть как результат перекрестной рекомбинации между штаммами *NC* и
167 *Med-* в участке гена *LMP-1* 920 – 930 н.о. ($p=0,007$, соответствует координатам
168 306-310 а.к.). В последовательности № HIV+ 1808 выявлена возможная точка
169 перекрестной рекомбинации штаммов *AG876* и *Med-* в участке 1010-1020 н.о.
170 ($p=0,024$, соответствует положению 336-340 а.к.).

171 Два охарактеризованных выше варианта *LMP-1* вне известной
172 классификации ВЭБ были названы нами «*другие варианты*». Они

173 принадлежали изолятам вируса из лейкоцитов крови ВИЧ-инфицированных.
174 Их расположение на филогенетическом дереве относительно референсных и
175 нижегородских штаммов LMP-1 отмечено (*) (рис.).

176 Из данных таблицы 1 следует, что на территории Нижегородской
177 области в изолятах ВЭБ у взрослого населения доминирует вариант LMP-1
178 *B95-8*. Причем его распространенность в группах ВИЧ(+) и ВИЧ(-) была
179 одинаковой ($62,2 \pm 5,4\%$ и $60,0 \pm 10,9\%$ соответственно). Такие варианты LMP-1
180 как *China 1*, *Med*, *NC* и *Alaskan* выявлялись реже. Отметим, что вариант LMP-
181 *1 Med* был представлен исключительно *Med-* (не содержащий CAO-подобную
182 делецию 30 п.н./10 а.к.), а *Med+*, *China 2* и *China 3* не были обнаружены ни в
183 одном исследованном образце. Статистически значимые различия частоты
184 обнаружения вариантов LMP-1 между исследуемыми группами ВИЧ(+) и
185 ВИЧ(-) выявлены не были. Однако в их спектре наблюдались некоторые
186 особенности. Так, только у ВИЧ(+) взрослых нижегородцев были выявлены
187 изоляты *China 1* и «другие варианты» LMP-1 ВЭБ.

188 Проведен анализ распределения вариантов LMP-1 ВЭБ относительно
189 типов вируса. Выявлено, что в группе ВИЧ(+) основная часть изолятов ВЭБ
190 имели молекулярно-генетический профиль ВЭБ-1/*B95-8* ($56,1 \pm 5,5\%$ всех
191 изолятов ВЭБ). Для сравнения ВЭБ-2/*B95-8* выявлен в $1,2 \pm 1,2\%$ изолятов. По
192 нашим наблюдениям типы ВЭБ-1 и ВЭБ-2 характеризовались разным
193 соотношением числа последовательностей LMP-1 *B95-8* к общему количеству
194 других выявленных вариантов LMP-1 (1,8:1 и 1:4 соответственно). Отметим,
195 что в группе ВИЧ(-) доля изолятов ВЭБ-1/*B95-8* также преобладала
196 ($60,0 \pm 10,9\%$) и их соотношение с другими вариантами вируса составило 1,5:1.

197 При анализе аминокислотных последовательностей С-концевой области
198 LMP-1 были выявлены делеции. При этом как в группе ВИЧ(+), так и ВИЧ(-)
199 делеции присутствовали в половине изолятов ВЭБ ($48,8 \pm 5,5\%$ и $40,0 \pm 10,9\%$
200 соответственно, $p=0,581$). Однако спектр делеций различался. В
201 последовательностях LMP-1 ВЭБ у здоровых взрослых встречался только
202 один вариант делеции 5 а.к. (а.к. 276-280) в $40,0 \pm 10,9\%$ изолятов. В то время

203 как изоляты ВЭБ у ВИЧ(+) пациентов характеризовались разнообразием
204 вариантов делеций: 1 а.к. (а.к. 205), 4 а.к. (а.к. 209-212), 2 а.к. (а.к. 211-212), 6
205 а.к. (а.к. 345-350) – по $1,2 \pm 1,2\%$, 5 а.к. (а.к. 276-280) - $39,0 \pm 5,4\%$, 10 а.к. (а.к.
206 346-355) - $4,9 \pm 2,4\%$. Два варианта делеций (30 н.о./10 а.к., охватывающая
207 кодоны 246-355, и 15 н.о./5 а.к. в положении 276-280), наиболее
208 распространённые, являются известными *SAO*-подобными делециями.
209 Четыре другие делеции в координатах аминокислот 205, 209-212, 211-212, 345-
210 350 ранее не были описаны.

211 Все четыре последовательности ДНК ВЭБ с делецией 30 н.о./10 а.к.
212 были ассоциированы исключительно с вариантом LMP-1 *China 1*. Делеция 15
213 н.о./5 а.к., расположенная в области тандемных повторов LMP-1 (а.к. 253-306),
214 обнаружена в половине полученных изолятов ВЭБ. Отметим, что данная
215 делеция присутствовала во всех последовательностях LMP-1 *China 1*, *Med-*,
216 *NC*, *Alaskan* и «*другие варианты*», независимо от их типовой принадлежности.
217 Остальные выявленные нами четыре делеции встречались только в изолятах
218 ВЭБ-1/*B95-8*.

219 Проведен анализ числа и аминокислотного состава повторяющихся
220 элементов в С-концевой области LMP-1 (а.к. 253-306) в нижегородских
221 изолятах ВЭБ у ВИЧ(+) и ВИЧ(-) взрослых. Установлено, что С-концевой
222 участок LMP-1 содержит разное количество повторов из 11 а.к., варьирующен по
223 наличию и местоположению между ними элемента из 5 а.к., а также спектру
224 аминокислотных замен в них. Результаты представлены в таблице 2.

225 Показано, что количество повторов значительно варьировало (от 2 до 8
226 повторов). Однако основная часть изолятов имели размер этого участка 3-5
227 повторов ($87,8 \pm 5,5\%$ в группе ВИЧ(+) и $85,0 \pm 11,1\%$ в группе ВИЧ(-)). В
228 половине всех полученных последовательностей LMP-1, независимо от
229 источника вируса, область тандемных повторов была идентична
230 прототипному варианту «4,5». При этом все они были ассоциированы
231 исключительно с вариантом *B95-8*. В свою очередь $15,7 \pm 5,1\%$ изолятов *B95-8*

232 в группе ВИЧ(+) отличались вариабельным размером области тандемных
233 повторов, присутствием модифицированных мотивов и точечными
234 аминокислотными заменами в них. В изолятах *China 1*, *NC*, *Med-*, *Alaskan* и
235 «*другие варианты*» LMP-1 число повторов варьировало в установленном
236 диапазоне, при этом мотив RHDPL между повторами из 11 а.к. во всех этих
237 последовательностях отсутствовал. Данную делецию 5 а.к. также относят к
238 числу CAO-подобных. Из данных таблицы 2 видно, что в области тандемных
239 повторов аминокислотные замены могут быть обнаружены в любом варианте
240 LMP-1 и затрагивать разные повторяющиеся мотивы. Часть из них являются
241 сигнатурными для определенного штамма. Например, в элементах RHDPL,
242 завершающих повторяющийся мотив, штамм-характерными
243 аминокислотными заменами в положении 306-й аминокислоты являются в
244 варианте *NC* – L306Q (PHDPQ), в *Alaskan* – L306P (PHDPP).
245 Модифицированные последовательности в варианте *Med-* характеризует
246 замена аспарагиновой кислоты на глицин в третьем положении аминокислоты
247 во втором - седьмом элементе: D266G, D282G, D293G. Мутации D282G,
248 D293G были выявлены и в варианте LMP-1 *Alaskan*. Остальные
249 аминокислотные замены в повторяющихся мотивах, как правило, встречались
250 спорадически. Продемонстрировано, что среди всех изолятов вариант LMP-1
251 *Med-* отличается наибольшей вариабельностью тандемных повторов. Так, в 14
252 полученных изолятах *Med-* идентифицировано 8 субвариантов области
253 повторов, которые различались за счет комбинации числа повторов и
254 расположения относительно друг друга прототипных и модифицированных
255 мотивов из 11 а.к. Отметим также, что в изолятах *B95-8* у двух ВИЧ-
256 инфицированных выявлены ранее не описанные модифицированные мотивы
257 RHDPPDDDPD, RHDHDGPDDPD, PQDHDDPDDPD и RHDHL.

258 Осуществлен поиск полного спектра аминокислотных замен в пределах
259 анализируемого С-концевого участка белка LMP-1 с 187 по 386 а.к. Суммарно
260 в нижегородских изолятах ВЭБ в группах ВИЧ(+) и ВИЧ(-) идентифицировано

261 112 мутаций аминокислот в 74 локусах (относительно референсной
262 последовательности *B95-8*). Наиболее «горячими» точками мутаций стали
263 аминокислоты в положениях 322 (6 мутаций) и 331, 338, 359 (по 4 мутации).

264 Последовательность, аналогичная прототипному штамму, выявлена
265 только в одном изоляте (вариант *B95-8*), а наиболее дивергентная
266 последовательность с 16 мутациями идентифицирована в *Alaskan*. Для
267 наглядного сравнения степени дивергенции между вариантами LMP-1
268 проведен расчет индекса, характеризующего среднее число мутаций,
269 приходящееся на одну последовательность. Анализ выполнен
270 дифференцировано в группах ВИЧ (+) и ВИЧ(-). Получены следующие
271 значения индекса: *B95-8* – 3,9 и 2,2; *Med-* - 10,9 и 9,3; *NC* - 11,0 и 11,7; *Alaskan*
272 – 15,5 и 15,0 соответственно. Относительный показатель аминокислотных
273 замен в штаммах *China 1* у ВИЧ(+) пациентов составил 6,9, в «других»
274 вариантах LMP-1 - 10,5.

275 Все аминокислотные замены были сгруппированы по принадлежности к
276 определенному варианту LMP-1 ВЭБ. Такие аминокислотные замены как
277 G212S, D216H, S229T, D250N, G252A, T259S, D282G, D293G, L306Q, S309N,
278 S313P, Q322D, Q322E, Q322T, L323M, E328Q, Q334R, L338P, L338S, H352R,
279 G355C, H358P, S366T обнаруживали в двух и более вариантах LMP-1
280 независимо от ВИЧ-статуса.

281 Установлено, что наиболее распространенными в популяции ВЭБ среди
282 взрослого населения Нижегородской области являются 4 мутации: G212S,
283 S366T, E328Q и S309N. Замены G212S и S366T присутствовали во всех
284 установленных вариантах LMP-1, их частота в группе ВИЧ(+) составила
285 $86,6 \pm 3,8\%$ и $89,0 \pm 3,5\%$, а в группе ВИЧ(-) – по $100 \pm 0\%$ соответственно. Замена
286 серина на аспарагин в 309 позиции (S309N) присутствовала в составе
287 абсолютно всех анализируемых последовательностей *China 1*, *NC*, *Med-*,
288 *Alaskan* и «*другие*». Мутация E328Q характеризовала $94,1 \pm 3,3\%$ изолятов *B95-*
289 *8* в группе ВИЧ(+) и все изоляты *B95-8* в группе ВИЧ(-). Варианты

290 комбинаций аминокислотных замен G212S, E328Q и S366T в
291 последовательностях LMP-1 B95-8 представлены в таблице 3. В основной
292 части их них присутствовало сочетание G212S+E328Q+S366T.

293 Отдельные аминокислотные замены встречались с частотой 10-25% от
294 общего числа изолятов. В их числе 10 сигнатурных аминокислотных замен в 6
295 основных локусах (S229T, L306Q, L306P, D312N, Q322E, Q322N, Q322T,
296 Q334R, L338P, L338S), которые были нами использованы при
297 дифференциальной оценке вариантов LMP-1 по классификации R. Edwards и
298 соавт. [24]. А также дополнительные штамм-характерные мутации для NC
299 (D250N, S313P, G331Q, H352N, H358P) и Med- (H352R и замена аспарагиновой
300 кислоты на глицин в третьем положении аминокислоты в повторяющемся
301 элементе из 11 а.к.: D266G, D282G, D293G).

302 В результате проведенного анализа определен широкий спектр
303 аминокислотных замен, которые встречались спорадически (<10%). При этом
304 чаще других обнаруживали мутации D372N в изолятах B95-8 (4/51) и G335D
305 в изолятах NC (5/16). Описаны 64 аминокислотные замены, которые ранее в
306 нижегородских изолятах ВЭБ не выявлялись. Преимущественно они были
307 сгенерированы в последовательностях LMP-1 ВЭБ из лейкоцитов крови
308 ВИЧ(+) пациентов (57 из 64 мутаций):

- 309 ○ B95-8: D210S, R223K, C238S, N251H, T259S, Q281H, P283H, N285D, T286P
310 (2), N289P, G290D, Q292H, P294H, N296G, N296D, T297P, N300P, G301A,
311 G301D, P305H, L306V, S309I, A314V, N316S, Q322P, G343R, G345V,
312 G353V, G355C, D356E, D356H, P357T, L359S, L359Y, S369P, D372N;
- 313 ○ China 1: D210N, D261G, L338F, G355C;
- 314 ○ Med-: N220D, G222D, T259S, N269D, D287H, N329H, N329S, H348D,
315 D349A, L359I;
- 316 ○ NC: H224Q, Q322K, L323M, E325K, G331E, L338T, M339K;
- 317 ○ Alaskan: не выявлено;
- 318 ○ Другие варианты LMP-1: A231T, G232E, D349A, D349E, G355C.

319 В группе ВИЧ(-) уникальные замены встречались в единичных изолятах
320 *B95-8* и *Med-*: D210S, L359F, D372H, G319D, L323M, N329H, G355C.

321 Сравнительный анализ с *CAO*-подобными (GenBank: X58140.1)
322 аминокислотными заменами показал, что мутации G212S и S366T, как ранее
323 было отмечено, представлены практически во всех нижегородских изолятах
324 ВЭБ; Q322N является уникальной мутацией для штамма *China 1*, а Q334R,
325 L338S – сигнатурные замены, характеризующие штаммы *China 1* и *Med-*. В то
326 же время мутации Q189P, S192T, E328A в анализируемых
327 последовательностях обнаружены не были.

328 4 Обсуждение результатов

329 Впервые в России в рамках данной работы выполнены исследования,
330 направленные на оценку молекулярно-генетического разнообразия ВЭБ у
331 ВИЧ-инфицированных. Анализ литературных данных свидетельствует о
332 высоком генетическом разнообразии ВЭБ, циркулирующего во всем мире [4].

333 *Типы ВЭБ.* В России только в последние два года появились первые
334 публикации, посвященные оценке распространенности основных типов
335 вируса – ВЭБ-1 и ВЭБ-2 [2, 5, 11]. Пока эти исследования были ограничены
336 контингентами условно здоровых взрослых лиц определенной этнической
337 принадлежности (славяне, татары, калмыки) и детей с активной или латентной
338 ВЭБ-инфекцией [2, 5, 11]. В то время как зарубежные публикации убедительно
339 свидетельствуют об особенностях распространенности ВЭБ-1 и ВЭБ-2 в
340 популяции ВИЧ-инфицированных [21, 34, 37, 38, 40, 41, 49, 50].

341 В результате проведенного нами исследования лейкоцитов крови
342 установлено доминирование ВЭБ-1 в структуре нижегородских изолятов ВЭБ
343 у взрослых. Преобладание типа ВЭБ-1 ранее нами было выявлено и в детской
344 популяции Нижегородской области [5]. Однако в изолятах ВЭБ у взрослых
345 ВИЧ-инфицированных пациентов в данном исследовании идентифицированы
346 также ВЭБ-2 и коинфицирование обоими типами вируса. Такое
347 распределение, в целом, соответствует предыдущим оценкам

348 распространенности ВЭБ-1 и ВЭБ-2 у ВИЧ-инфицированных, проживающих
349 в разных регионах мира, по сравнению с иммунокомпетентными лицами
350 (таблица 4) [13, 21, 22, 27, 34, 35, 37, 39, 41, 46, 50].

351 На основании данных таблицы 4 хотелось бы акцентировать внимание
352 на широкий спектр биосубстратов и используемых лабораторных протоколов
353 при проведении исследований разными научными группами, даже в пределах
354 территории одной страны (например, Бразилии), что в сочетании с весьма
355 разнородными контингентами обследуемых и различным представлением
356 частоты обнаружения типов ВЭБ создает определенный информационный
357 хаос [13, 34, 39, 41].

358 Предполагается, что инфицирование ВЭБ-2 может происходить в
359 условиях хронической иммунной активации, например, в тех частях Африки,
360 где много сопутствующих инфекций, включая малярию, или у
361 иммунокомпрометированных лиц [25, 43]. Известно, что распространенность
362 штаммов ВЭБ-2 выше в когорте гомосексуальных мужчин, инфицированных
363 ВИЧ, превышая 30%, и среди них чаще выявляются случаи коинфекции ВЭБ-
364 1+ВЭБ-2 или разных вирусов одного типа [37, 39, 49]. Отсутствие лечения или
365 позднее начало антиретровирусной терапии у ВИЧ-инфицированных детей и
366 взрослых повышает риск коинфекции ВЭБ-1+ВЭБ-2 и развитие симптомов
367 [33, 36].

368 В контексте фенотипических свойств известно, что ВЭБ-1 более
369 эффективно трансформирует В-лимфоциты человека, чем ВЭБ-2 [41]. Кроме
370 того, разные штаммы ВЭБ-1 *in vitro* продемонстрировали выраженные
371 различия в трансформирующем потенциале и клеточном тропизме, возможно,
372 предопределяя развитие разных типов опухолей [42]. Относительно недавно
373 появились сообщения о том, что ВЭБ-2 инфицирует Т-клетки *in vitro* и *in vivo*
374 [19, 20]. Описаны также различия в иммунологическом профиле ВИЧ-
375 инфицированных в зависимости от инфицирующего типа ВЭБ. Так, ВЭБ-1
376 более часто выявляли среди пациентов с меньшим количеством CD4⁺ Т-
377 лимфоцитов и высокой вирусной нагрузкой ВИЧ, в то время как ВЭБ-2

378 преобладал в иммунных профилях, включающих CD4⁺ Т-лимфоциты >500
379 клеток/мкл и низкую вирусную нагрузку ВИЧ [34, 39, 41].

380 *Геноварианты LMP-1 ВЭБ.* Многие десятилетия внимание как
381 зарубежных, так и российских исследователей было сосредоточено на
382 изучении основного онкогена ВЭБ – *LMP-1* [1, 3, 6, 7, 9-11, 16, 24, 40, 48]. В
383 нашем исследовании получены первые данные о распространенности
384 вариантов *LMP-1* ВЭБ у ВИЧ-инфицированных пациентов. В общем выявлено
385 5 из 7 известных вариантов *LMP-1*, а именно *B95-8*, *China 1*, *Med-*, *NC* и
386 *Alaskan*. Результаты собственных исследований дополняют уже имеющиеся
387 сведения о доминировании на территории Европейской части России варианта
388 *LMP-1 B95-8* [1, 3, 5, 6, 11]. Они отличаются от штаммового распределения,
389 представленного в работе ученых из Китая (*China 1* – 73,8%, *China 2* – 21,3%,
390 *Med+* – 3,8%), которое характеризует у ВИЧ-инфицированных характерное
391 для географического места выделения изолятов преобладание варианта *China*
392 *1* и сопряженные с ним *CAO*-подобные мутации (делеция 10 а.к. или больший
393 размер области тандемных повторов) [46]. Статистически значимые различия
394 частот обнаружения вариантов *LMP-1* между исследуемыми группами ВИЧ(+) и
395 ВИЧ(-) в нашем исследовании выявлены не были. Однако в их спектре у
396 ВИЧ-инфицированных наблюдались некоторые особенности, включая
397 обнаружение «*других вариантов*» *LMP-1* вне классификации.

398 К настоящему времени накоплены сравнительные данные о
399 биологических свойствах вариантов *LMP-1*. Так, варианты *CAO*, *Alaskan*,
400 *China 1* и *Med+* повышают активность транскрипционного фактора NF-κB по
401 сравнению с иными вариантами [29, 43]. Для изучения фенотипических
402 характеристик вновь выявленных рекомбинантных вариантов *LMP-1*
403 необходимо в дальнейшем проведение экспериментальных исследований *in*
404 *vitro* и *in vivo*.

405 Нами представлено детальное описание полученных изолятов ВЭБ на
406 уровне так называемых субвариантов (тандемные повторы, делеции и
407 аминокислотные замены).

408 *Делеции.* В последовательностях LMP-1 ВЭБ у ВИЧ-инфицированных
409 выявлен более широкий спектр делеций. Делеция 5 а.к. (276–280 а.к.) в
410 области тандемных повторов между повторяющимися мотивами из 11 а.к.
411 была обнаружена во всех последовательностях LMP-1 *China 1*, *Med-*, *NC*,
412 *Alaskan* и «*другие варианты*», независимо от их источника и типовой
413 принадлежности. Данная делеция из 5 а.к. является частью функционального
414 домена STAR3 (а.к. 275–330), который отвечает за активацию STAT3
415 посредством рекрутирования JAK3 [9, 10]. Другая делеция в 30 н.о./10 а.к. (а.к.
416 346–355) широко известна как «делетированный вариант LMP-1» с
417 установленной выраженной трансформирующей активностью в фибробластах
418 грызунов или эпителиальных клетках, имплантированных голым мышам [18,
419 28, 43], а также повышенным риском отдаленного метастазирования [31, 43].
420 Отметим, что на основе данных литературы и по результатам собственных
421 наблюдений штаммы с этой делецией ассоциированы только с определенными
422 САО-подобными вариантами LMP-1, такими как *China 1* и *Med+* [24].
423 Возможно, это объясняет контрастирующие данные литературы, когда у ВИЧ-
424 инфицированных из Бразилии и Аргентины (регионы с высоким
425 распространением штаммов *China 1* и *Med+*) делеция 30 п.н./10 а.к.
426 встречалась чаще [21, 27], а в Швейцарии (регион Европы, в котором
427 доминирует штамм *B95-8*) различия отсутствовали [51].

428 *Область тандемных повторов.* Известно, что прототипный штамм ВЭБ
429 в области тандемных повторов (а.к. 253-306) включает четыре идеальных
430 повтора, состоящих из 11 а.к. (PQDPDNTDDNG) с разрывом в 5 а.к. (PHDPL)
431 между вторым или третьим повторами (так называемые «4,5 повтора»).

432 Другой мотив из 5 а.к. PHDPL (а.к. 302-306) завершает область тандемных
433 повторов. Анализируемые последовательности ВЭБ у ВИЧ-инфицированных
434 пациентов характеризовались выраженным разнообразием области
435 тандемных повторов. В то время как в изолятах LMP-1 *B95-8* у ВИЧ(-)
436 взрослых или в ранее проведенном нами исследовании у детей [5] встречались,
437 как правило, прототипные последовательности тандемных повторов, у

438 15,7±5,1% ВИЧ-инфицированных пациентов при этом были выявлены их
439 модифицированные субварианты. Клинико-эпидемиологическая оценка
440 полиморфизма области тандемных повторов ограничивается единичными
441 публикациями [16, 26, 46].

442 *Аминокислотные замены.* Выявлен широкий спектр аминокислотных
443 замен в нижегородских изолятах ВЭБ у взрослых. Несмотря на то, что замена
444 глицина на серин в 212 положении является штамм-характерной для *China 1*,
445 *China 2*, *China 3* и *Alaskan*, а замена серина на треонин в 366 кодоне
446 присутствует в референсных штаммах LMP-1 *China 1*, *Med-*, *Med+*, *NC* и
447 *Alaskan* [24], в нижегородских изолятах ВЭБ у взрослых они также были
448 обнаружены практически во всех изолятах LMP-1 *B95-8*. Поскольку эти
449 мутации относятся к CAO-подобным, их фенотипические характеристики
450 были достаточно хорошо изучены как зарубежными, так и российскими
451 исследователями. Мутация G212S приходится на первый сайт распознавания
452 HOS-белков (одного из компонентов E3-лигазы, участвующего в процессинге
453 молекулы IκB — супрессора NF-κB) [8]. Замена S366T локализуется в одном
454 из сайтов связывания белков SCFHOS/βATrCP и приводит к тому, что
455 мутантный белок теряет способность связываться с белками E3-лигазного
456 комплекса. В результате в клетке концентрация LMP-1 повышается, пул
457 белков SCFHOS/βTrCP не истощается, и подавления сигнального пути NF-κB
458 не происходит. Накопление же транскрипционного фактора NF-κB играет
459 важную роль в процессе трансформации инфицированных вирусом клеток
460 [12]. По данным других исследователей любая из замен (G212S либо S366T)
461 ассоциирована с усилением активации Erk и индукции экспрессии c-Fos [44],
462 что влияет на процессы выживания, пролиферации, дифференцировки и
463 миграции клеток. Примечательно, что в основной части нижегородских
464 изолятов ВЭБ у взрослых, и, как ранее нами было установлено, у детей
465 присутствовала двойная замена G212S/S366T [5]. Данное сочетание
466 функционально ассоциировано с повышением уровня активации сигнального
467 пути NF-κB и протеинкиназы-B (PKB/Akt) [1, 9]. По данным литературы у

468 больных раком носоглотки (РНГ) из России довольно часто наблюдали замену
469 S366A [6, 7], которая также была нами обнаружена в одном изоляте ВЭБ у
470 взрослого ВИЧ-инфицированного пациента (вариант *Med-*), а ранее также у
471 детей с инфекционным мононуклеозом (варианты *B95-8* и *China 1*) [5].

472 В нижегородских изолятах ВЭБ мутация E328Q ассоциирована
473 исключительно с вариантом LMP-1 *B95-8* с частотой выявления близкой к
474 100%. Замена E328Q достаточно широко распространена среди жителей
475 России [2, 5, 11], а также была описана в изолятах ВЭБ от больных
476 инфекционным мононуклеозом и раком носоглотки в Сербии [15, 16]. Замена
477 E328Q расположена в координатах области STAR3 и способствует
478 метаболизму глюкозы путем усиления экспрессии с-Мус посредством STAT3
479 [47]. Ее функциональную роль связывают со снижением цитотоксичности и
480 усилением трансформирующей активности белка LMP-1. Предполагается, что
481 обнаруженные аминокислотные замены в 212, 328 и 366 положениях LMP-1
482 придают этому онкобелку агрессивные характеристики и характерны для
483 высокотуморогенных вариантов [8].

484 Остальная часть выявленных в настоящем исследовании мутаций
485 остаются фенотипически не охарактеризованными. Можно предположить, что
486 они потенциально могут изменять профиль внутриклеточной активности ряда
487 сигнальных путей и их биологические свойства [10]. Для выяснения роли
488 каждого из них необходимо проведение экспериментальных работ *in vitro* и *in*
489 *vivo*.

490 Таким образом, все перечисленные особенности изолятов ВЭБ у
491 пациентов с ВИЧ-инфекцией характеризуют эту группу лиц как резервуар
492 генетической нестабильности ВЭБ и источник молекулярно-генетического
493 разнообразия циркулирующих штаммов вируса.

494 5 Заключение

495 Впервые в России проведена оценка молекулярно-генетического
496 разнообразия ВЭБ у ВИЧ-инфицированных лиц. Расширены представления о

497 типовой структуре изолятов ВЭБ в Нижегородской области. Установлено, что
498 у взрослых ВИЧ-инфицированных преобладает тип ВЭБ-1, реже выявляются
499 ВЭБ-2 и коинфицирование обоими типами вируса. В отличие от ВИЧ(+)
500 пациентов в группе ВИЧ(-) обнаружен исключительно ВЭБ-1.

501 Получены новые данные о распространенности различных вариантов
502 LMP-1 ВЭБ у ВИЧ-инфицированных. Всего выявлено 5 вариантов LMP-1 по
503 классификации R. Edwards и соавт.: *B95-8, China 1, Med-, NC и Alaskan*, среди
504 которых доминировал геновариант *B95-8*. При этом их частота встречаемости
505 между исследуемыми группами ВИЧ(+) и ВИЧ(-) не различалась.

506 Как общая тенденция, при ВИЧ-инфекции отмечено появление
507 рекомбинантных вариантов LMP-1 ВЭБ, более широкий спектр делеций,
508 выраженная вариабельность области тандемных повторов с присутствием
509 модифицированных мотивов и точечными аминокислотными заменами в них,
510 а также описаны 57 аминокислотных замен, которые ранее в нижегородских
511 изолятах ВЭБ не выявлялись.

512 Полученные результаты лежат в основе перспективного изучения
513 взаимосвязи клинико-лабораторных особенностей ВЭБ+ВИЧ-коинфекции и
514 генетической гетерогенности популяции ВЭБ на уровне типов, вариантов и
515 субвариантов вируса.

ТАБЛИЦЫ

Таблица 1. Сравнение частоты выявления вариантов LMP-1 ВЭБ (по классификации R. Edwards и соавт. [24]) у ВИЧ(+) и ВИЧ(-) взрослых лиц, проживающих в Нижегородской области.

Table 1. Comparison of the frequency of detection of EBV LMP-1 variants (according to the classification of R. Edwards et al. [24]) in HIV (+) and HIV (-) adults living in the Nizhny Novgorod region.

Группа сравнения Comparison group	Ед. измерения Units	Вариант LMP-1 ВЭБ по классификации R. Edwards и соавт. [24] EBV LMP-1 variant according to the classification of R. Edwards et al. [24]					Другие варианты LMP-1 Other LMP-1 variants
		<i>B95-8</i>	<i>China 1</i>	<i>Med-</i>	<i>NC</i>	<i>Alaska n</i>	
ВИЧ(+) HIV(+)	абс. abs.	51	4	10	13	2	2
(n=82)	P±σ _p , %	62,2±5,4	4,8±2,3	11,9±3,6	15,5±4,0	2,4±1,7	2,4±1,7

ВИЧ(-) HIV(-) (n=20)	абс. abs.	12	0	4	3	1	0
	$P \pm \sigma_p$, %	60,0 \pm 10, 9	0	20,0 \pm 8, 9	15,0 \pm 7, 9	5,0 \pm 4, 9	0
Уровень значимос ти различий p-value	p=	1,000	1,000	0,464	1,000	0,477	0,847

Таблица 2. Характеристика числа и аминокислотного состава повторяющихся элементов в С-концевой области LMP-1 ВЭБ.

Table 2. Characteristics of the number and amino acid composition of repeating elements in the C-terminal region of EBV LMP-1.

Штамм	ВИЧ(+)	ВИЧ(-)	Повторяющиеся элементы в С-концевой области LMP-1 ВЭБ (а.к. 253-306) Repeat elements in the C-terminal region of EBV LMP-1 (aa 253-306)	Повторы
V01555.2 (B95-8)			PQDPDNTDDNG PQDPDNTDDNG PHDPL PQDPDNTDDNG PQDPDNTDDNG PHDPL	4,5
B95-8	43/ 51	11/ 2	PQDPDNTDDNG PQDPDNTDDNG PHDPL PQDPDNTDDNG PQDPDNTDDNG PHDPL	4,5
	1/5 1	-	PQDPDNSDDNG PQDPDNTDDNG PHDPL PQDLNNTDDNG PQDPDNTDDNG PHDPL	4,5
	1/5 1	-	PQDPDNTDDNG PQDPDNTDDNG PHDPL PQDPDNTDDNG PQDPDNTDDNG PHDPV	4,5
	1/5 1	-	PQDPDNTDDNG PQDPDNTDDNG PHDPL PHDPDDPDDPD PHDHDGPDDPD PHDHL	4,5

	1/5	-	PQDPDNTDDNG PQDPDNTDDNG PHDPL	PQDPDNTDDNG PQDPDNTDDNG	5,5
	1		PQDPDNTDDNG PHDPL		
	1/5	-	PQDPDNTDDNG PQDPDNTDDNG PHDPL	PQDPDNTDDNG PQDPDNTDDNA PHDPL	6,5+
	1		PQDPDNTDDNG PQDPDNTDDNG PHDPL		
	1/5	-	PQDPDNTDDNG PQDPDNTDDNG PHDPL		2
	1/5	1/12	PQDPDNTDDNG PQDPDNTDDNG PQDPDNTDDNG PHDPL	PQDPDNTDDNG	5,5
	1		PQDPDNTDDNG PHDPL		
	1/5		PQDPDNTDDNG PQDPDNTDDNG PQD HDDPDDPD PQD HDDPDDPD PHDPL		4,0
<i>China1</i>	1/4	-	PQDPDNTDDNG PQDPDNTDDNG PQDPDNTDDNG PQDPDNTDDNG PQDPDNTDDNG	PQDPDNTDDNG	5
			PHDPL		
	2/4	-	PQDPDNTDDNG PQDPDNTDDNG PQDPDNTDDNG PQDPDNTDDNG PQDPDNTDDNG	PQDPDNTDDNG	6
			PQDPDNTDDNG PHDPL		

	1/4		PQDPDNTDGNG PQDPDNTDDNG PQDPDNTDDNG PQDPDNTDDNG PQDPDNTDDNG PQDPDNTDDNG PQDPDNTDDNG PQDPDSTDDNG PHDPL	8
<i>Med-</i>	1/1 0	-	PQDPDNTDDNG PQGPDNTDDNG PQGPDNTDDNG PQGPDNTDDNG PHDPL	4
	2/1 0	1/4	PQDPDNTDDNG PQDPDNTDDNG PQGPDNTDDNG PQGPDNTDDNG PHDPL	4
	1/1 0	-	PQDPDNTSDDNG PQDPDNTDDNG PQGPDNTDDNG PQGPDNTDDNG PHDPL	4
	1/1 0	-	PQDPDNTDDNG PQDPDNTDDNG PQGPDNTDDNG PQGPDNTDDNG PHDPL	4
	3/1 0	2/4	PQDPDNTDDNG PQDPDNTDDNG PQDPDNTDDNG PQGPDNTDDNG PQGPDNTDDNG PHDPL	5
	1/1 0		PQDPDNTDDNG PQDPDNTDDNG PQDPDNTDDNG PQDPDNTDDNG PHDPL	4

	1/1 0	-	PQDPDNTDDNG PQDPDNTDDNG PQDPDNTDDNG PQDPDNTDDNG PQGPDNTDDNG PQGPDNTDDNG PHDPL	6
	-	1/4	PQDPDNTDDNG PQDPDNTDDNG PQGPDNTDDNG PQGPDNTDDNG PQDPDNTDDNG PQGPDNTDDNG PQGPDNTDDNG PHDPL	7
<i>NC</i>	7/1 3	2/3	PQDPDNTDDNG PQDPDNTDDNG PQDPDNTDDNG PHDPQ	3
	3/1 3	1/3	PQDPDNTDDNG PQDPDNTDDNG PQDPDNTDDNG PQDPDNTDDNG PHDPQ	4
	1/1 3	-	PQDPDNTDDNG PQDPDNTDDNG PQDPDNTDDNG PQDPDNTDDNG PQDPDNTDDNG PHDPQ	5
	2/1 3	-	PQDPDNTDDNG PQDPDNTDDNG PQDPDNTDDNG PQDPDNTDDNG PQDPDNTDDNG PQDPDNTDDNG PHDPQ	6
<i>Alaskan</i>	1/3	-	PQDPDNTDDNG PQDPDNTDDNG PQGPDNTDDNG PQGPDNTDDNG PHDPP	4
	1/3	1/3	PQDPDNTDDNG PQDPDNTDDNG PQDPDNTDDNG PQGPDNTDDNG PQGPDNTDDNG PHDPP	5

<i>ДругиеOther</i>	1/2	-	PQDPDNTDDNG PQDPDNTDDNG PQDPDNTDDNG PQDPDNTDDNG PHDPQ	4
	1/2	-	PQDPDNTDDNG PQDPDNTDDNG PQDPDNTDDNG PQDPDNTDDNG PQDPDNTDDNG PHDPL	5

Таблица 3. Комбинации аминокислотных замен G212S, E328Q и S366T в последовательностях LMP-1 B95-8.

Table 3. Combinations of amino acid substitutions G212S, E328Q and S366T in LMP-1 B95-8 sequences.

Аминокислотные замены в С-концевом участке LMP-1 B95-8 Amino acid substitutions in the C-terminal region of LMP-1 B95-8	ВИЧ(+) / HIV(+) (n=51)		ВИЧ(-) / HIV(-) (n=12)	
	абс. abs.	P±σ _p , %	абс. abs.	P±σ _p , %
Без мутаций / No mutations G212S, E328Q, S366T	1	2,0±1,9	0	
G212S	2	3,9±2,7	0	
G212S+E328Q	2	3,9±2,7	0	
E328Q+S366T	3	5,9±3,3	1	8,3±8,3
G212S+E328Q+S366T	43	84,3±5,1	11	91,7±8,3

Таблица 4. Распространенность ВЭБ-1 и ВЭБ-2 у взрослых ВИЧ-инфицированных в разных географических регионах.

Table 4. Prevalence of EBV-1 and EBV-2 in HIV-infected adults in different geographic regions.

Географическое место Geographical location	Группа Group	Материалы Materials	Частота выявления типов ВЭБ, % Frequency of detection of EBV types, %			Ссылка Reference
			ВЭБ-1	ВЭБ-2	ВЭБ-1+ВЭБ-2	
Россия (Нижегородская область) Russia (Nizhny Novgorod region)	ВИЧ(+) HIV(+)	лейкоциты крови leukocytes	88,2	5,4	6,4	результаты данного исследования results of this study
	ВИЧ(-) HIV(-)		100	-	-	
Пакистан Pakistan	ВИЧ(+) HIV(+)	кровь blood	40,0	15,0	5,0	[37]*
	ВИЧ(-) HIV(-)		90,0	-	-	
Китай (Шанхай) China (Shanghai)	ВИЧ(+) HIV(+)	слюна saliva	62,3	9,3	12,9	[46]**
	ВИЧ(-) HIV(-)		28,9	15,4	-	

Аргентина Argentina	ВИЧ(+)) HIV(+)	МНПК РВМС	48,6	18,8	32,6	[21]
	ВИЧ(-) HIV(-)		74,3	12,4	13,3	
Бразилия (Рио-де-Жанейро) Brazil (Rio de Janeiro)	ВИЧ(+)) HIV(+)	мазки из ротоглотки oropharyngeal swabs	32,9	45,7	14,3	[39]
Бразилия (Рио-де-Жанейро) Brazil (Rio de Janeiro)	ВИЧ(-) HIV(-)	слюна saliva	79,6	20,4	-	[13]
Бразилия (Ботукату) Brazil (Botucatu)	ВИЧ(+)) HIV(+)	МНПК РВМС	75,8	9,5	14,7	[27]
Бразилия (регион Амазонки) Brazil (Amazon region)	ВИЧ(+)) HIV(+)	кровь blood	47,4	26,3	26,3	[34]
Бразилия (Буркина-Фасо) Brazil (Burkina Faso)	ВИЧ(+)) HIV(+)	кровь blood	3,9	4,6	2,1	[41]**
Италия Italy	ВИЧ(+))	МНПК РВМС	97,4	2,6	-	[35]

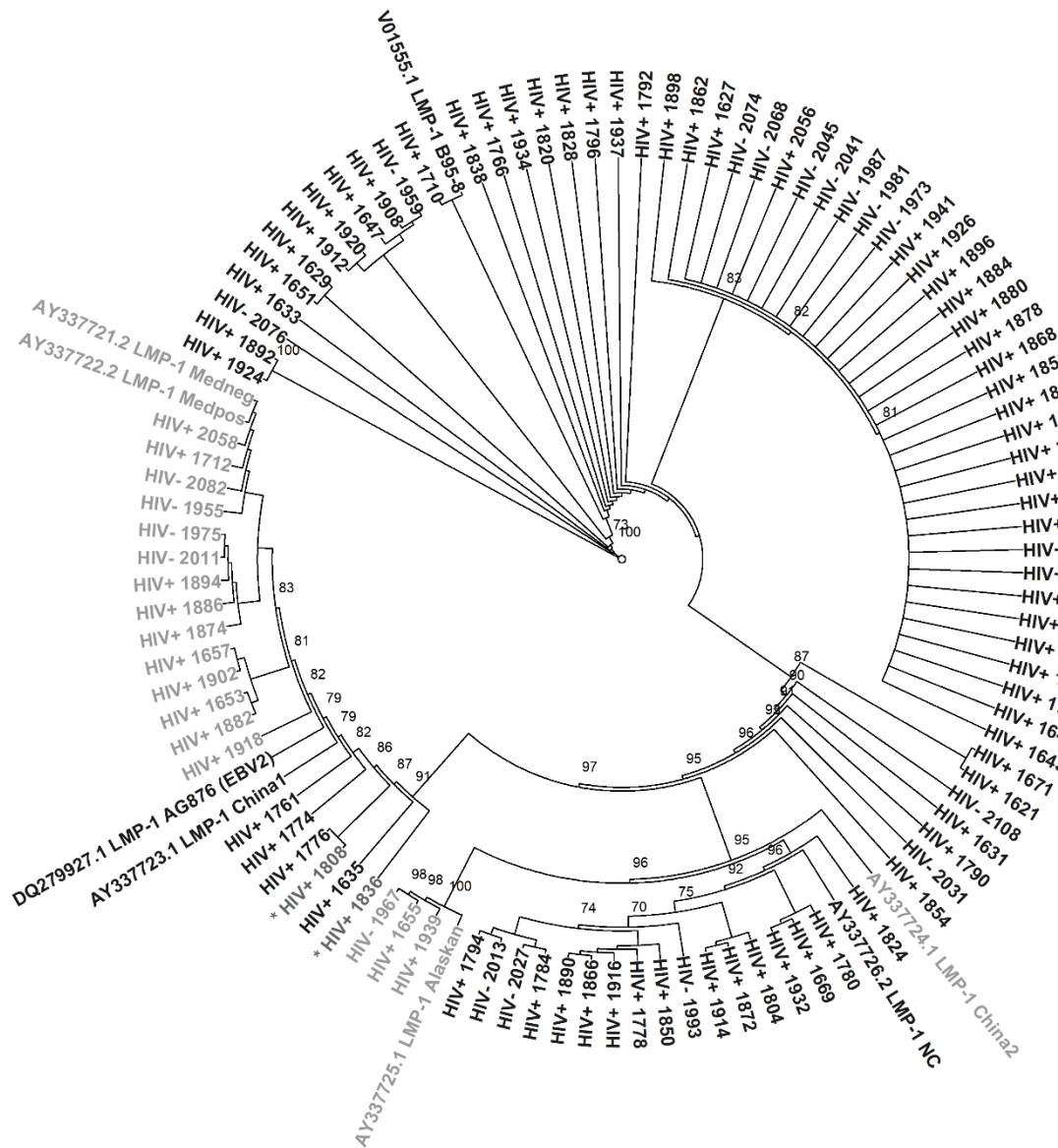
	HIV(+)					
--	--------	--	--	--	--	--

Примечание: ВИЧ(+) – лица, живущие с ВИЧ. ВИЧ(-) – здоровые доноры. МНПК – мононуклеарные клетки периферической крови. * - 40% и 10% изолятов ВЭБ у ВИЧ(+) и ВИЧ(-), соответственно, не типированы. **- частота рассчитана исходя из общей численности выборки.

Note: HIV(+) – persons living with HIV. HIV(-) – healthy donors. PBMC – peripheral blood mononuclear cells. * - 40% and 10% of EBV isolates in HIV(+) and HIV(-), respectively, are not typed. **- frequency calculated based on the total sample size.

РИСУНКИ

Рисунок 1. Филогенетическое дерево, построенное на основе сравнения аминокислотных последовательностей С-концевого участка LMP-1 102 нижегородских изолятов ВЭБ и 8 референсных последовательностей, полученных из базы данных GenBank (метод максимального правдоподобия)
Figure 1. Phylogenetic tree constructed based on comparison of amino acid sequences of the C-terminal region of LMP-1 of 102 Nizhny Novgorod region EBV isolates and 8 reference sequences obtained from the GenBank database (maximum likelihood method)



ТИТУЛЬНЫЙ ЛИСТ_МЕТАДААННЫЕ

Блок 1. Информация об авторе ответственном за переписку

Попкова Мария Игоревна – кандидат медицинских наук, ведущий научный сотрудник лаборатории молекулярной биологии и биотехнологии ФБУН «Нижегородский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. академика И.Н. Блохиной» Роспотребнадзора;

адрес: 603950, Россия, г. Нижний Новгород, ул. Малая Ямская, 71;

телефоны: 8(831)469-79-46 (служебн.) / 8 (906) 352-60-15 (моб.);

факс: 8(831) 469-79-20;

ORCID: 0000-0001-5864-5862;

e-mail: popmarig@mail.ru

Popkova M. I. – PhD (Medicine), Leading Researcher of Laboratory of Molecular Biology and Biotechnology, Academician I.N. Blokhina Nizhny Novgorod Scientific Research Institute of Epidemiology and Microbiology;

address: 603950, Russian Federation, Nizhny Novgorod, Malaya Yamskaya st., 71;

telephones: 8(831)469-79-46 (office) / 8 (906) 352-60-15 (mobile);

fax: 8(831) 469-79-20;

ORCID: 0000-0001-5864-5862;

e-mail: popmarig@mail.ru

Блок 2. Информация об авторах

Филатова Е. Н. – кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории молекулярной биологии и биотехнологии ФБУН «Нижегородский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. академика И.Н. Блохиной» Роспотребнадзора;

ORCID: 0000-0002-6683-7191;

e-mail: filatova@nniem.ru

Filatova E. N. – PhD (Biology), Leading Researcher of Laboratory of Molecular Biology and Biotechnology, Academician I.N. Blokhina Nizhny Novgorod Scientific Research Institute of Epidemiology and Microbiology;

ORCID: 0000-0002-6683-7191;

e-mail: filatova@nniem.ru

Минаева С. В. – кандидат медицинских наук, доцент кафедры эпидемиологии, микробиологии и доказательной медицины ФГБОУ ВО «Приволжский исследовательский медицинский университет» Минздрава России;

ORCID: 0009-0004-9476-6214;

e-mail: mistella@yandex.ru

Minaeva S. V. – PhD (Medicine), Associate Professor of the Epidemiology, Microbiology and Evidence-Based Medicine Department, Privolzhskiy Research Medical University;

ORCID: 0009-0004-9476-6214;

e-mail: mistella@yandex.ru

Сахарнов Н. А. – кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории молекулярной биологии и биотехнологии ФБУН «Нижегородский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. академика И.Н. Блохиной» Роспотребнадзора;

ORCID: 0000-0003-3965-2033;

e-mail: saharnov@nniem.ru

Sakharnov N. A. – PhD (Biology), Senior Researcher of Laboratory of Molecular Biology and Biotechnology, Academician I.N. Blokhina Nizhny Novgorod Scientific Research Institute of Epidemiology and Microbiology;

ORCID: 0000-0003-3965-2033;

e-mail: saharnov@nniem.ru

Уткин О. В. – кандидат биологических наук, заведующий лабораторией молекулярной биологии и биотехнологии ФБУН «Нижегородский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. академика И.Н. Блохиной» Роспотребнадзора;

ORCID: 0000-0002-7571-525X;

e-mail: utkino2004@mail.ru

Utkin O. V. – PhD (Biology), Head of Laboratory of Molecular Biology and Biotechnology, Academician I.N. Blokhina Nizhny Novgorod Scientific Research Institute of Epidemiology and Microbiology;

ORCID: 0000-0002-7571-525X;

e-mail: utkino2004@mail.ru

Блок 3. Метаданные статьи

МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ИЗОЛЯТОВ
ВИРУСА ЭПШТЕЙНА-БАРР У ВЗРОСЛЫХ ПАЦИЕНТОВ С ВИЧ-
ИНФЕКЦИЕЙ В НИЖЕГОРОДСКОЙ ОБЛАСТИ

MOLECULAR AND GENETIC CHARACTERISTICS OF EPSTEIN-BARR
VIRUS ISOLATES IN ADULT PATIENTS WITH HIV INFECTION IN NIZHNY
NOVGOROD REGION

Сокращенное название статьи для верхнего колонтитула:

РАЗНООБРАЗИЕ ВЭБ
EBV DIVERSITY

Ключевые слова: ВЭБ-1, ВЭБ-2, LMP-1, ВИЧ-инфекция, секвенирование,
ПЦР.

Keywords: EBV-1, EBV-2, LMP-1, HIV infection, sequencing, PCR.

Оригинальные статьи.

Количество страниц текста – 19, количество таблиц – 3, количество рисунков
– 1.

22.12.2023

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

По- ряд-ко вый но-мер ссыл- ки	Авторы, название публикации и источника, где она опубликована, выходные данные	ФИО, название публикации и источника на английском	Полный интернет-адрес (URL) цитируемой статьи и/или DOI
1	Гончарова Е.В., Сенюта Н.Б., Смирнова К.В., Щербак Л.Н., Гурцевич В.Э. Вирус Эпштейна-Барр (ВЭБ) в России: инфицированность населения и анализ вариантов гена LMP1 у больных ВЭБ-ассоциированными патологиями и здоровых лиц // Вопросы вирусологии. 2015. Т. 60, № 2. С. 11–17.	Goncharova E.V., Senyuta N.B., Smirnova K.V., Shcherbak L.N., Gurtsevich V.E. Epstein-Barr virus (EBV) in Russia: infection of the population and analysis of the LMP1 gene variants in patients with EBV-associated pathologies and healthy individuals. Problems of virology, 2015, vol. 60, no. 2, pp. 11–17. (In Russ.)	URL: https://virusjour.elpub.ru/jour/article/view/318/196#
2	Гурцевич В.Э., Лубенская А.К., Сенюта Н.Б., Душенькина Т.Е., Смирнова К.В.	Gurtsevitch V.E., Lubenskaya A.K., Senyuta N.B., Dushenkina T.E., Smirnova K.V.	URL: https://virusjour.crie.ru/jour/article/view/620

	<p>Вирус Эпштейна–Барр (<i>Herpesviridae: Gammaherpesvirinae: Lymphocryptovirus: Human gammaherpesvirus 4</i>) у калмыков и славян, проживающих на территории России: типы вируса, варианты онкогена LMP1 и злокачественные опухоли // Вопросы вирусологии. 2022. Т. 67, № 3. С. 246–257.</p>	<p>Epstein–Barr virus (<i>Herpesviridae: Gammaherpesvirinae: Lymphocryptovirus: Human gammaherpesvirus 4</i>) in Kalmyks and Slavs living in Russia: virus types, <i>LMP1</i> oncogene variants, and malignancies. <i>Problems of Virology</i>, 2022, vol. 67, no. 3, pp. 246–257. (In Russ.)</p>	<p>[doi: 10.36233/0507-4088-120]</p>
<p>3</p>	<p>Гурцевич В.Э., Смирнова К.В., Ботезату И.В., Душенькина Т.Е., Лубенская А.К., Дубар Э., Сенюта Н.Б., Лихтенштейн А.В., Петров С.В. Полиморфизм онкогена LMP1 вируса Эпштейна–Барр в двух этнических группах России, татар и славян, и его влияние на развитие некоторых злокачественных опухолей // Инфекция и иммунитет. 2020. Т. 10, № 2. С. 347–358.</p>	<p>Gurtsevitch V.E., Smirnova K.V., Botezatu I.V., Dushenkina T.E., Lubenskaya A.K., Dubar E., Senyuta N.B., Lichtenstein A.V., Petrov S.V. Epstein–Barr virus LMP1 oncogene polymorphism in tatar and slavic populations in Russian Federation impacting on some malignant tumours. <i>Russian Journal of Infection and Immunity</i>, 2020, vol. 10, no. 2, pp. 347–358. (In Russ.)</p>	<p>URL: https://iimmun.ru/iimm/article/view/1162 [doi: 10.15789/2220-7619-EBV-1162]</p>

4	Попкова М.И., Уткин О.В. Генетическое разнообразие вируса Эпштейна–Барр: современный взгляд на проблему // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунологии. 2022. Т. 99, № 1. С. 93–108.	Popkova M.I., Utkin O.V. Genetic diversity of the Epstein–Barr virus: a modern view of the problem. Journal of microbiology, epidemiology and immunobiology, 2022, vol. 99, no. 1, pp. 93–108. (In Russ.)	URL: https://microbiol.crie.ru/jour/article/view/1181 [doi: 10.36233/0372-9311-228]
5	Попкова М.И., Уткин О.В., Брызгалова Д.А., Сахарнов Н.А., Соболева Е.А., Кулова Е.А. Молекулярно-генетическая характеристика нижегородских изолятов вируса Эпштейна–Барр у детей при инфекционном мононуклеозе и здоровом вирусоносительстве // Инфекция и иммунитет. 2023. Т. 13, № 2. С. 275–288.	Popkova M.I., Utkin O.V., Bryzgalova D.A., Sakharnov N.A., Soboleva E.A., Kulova E.A. Molecular and genetic characteristics of Nizhny Novgorod Region Epstein–Barr virus isolates in children with infectious mononucleosis and healthy virus carriers. Russian Journal of Infection and Immunity, 2023, vol. 13, no. 2, pp. 275–288. (In Russ.)	URL: https://iimmun.ru/iimm/article/view/2056/ru_RU [doi: 10.15789/2220-7619-MAG-2056]
6	Сенюта Н.Б., Игнатова А.В., Ломая М.В., Гончарова Е.В., Щербак Л.Н., Душенькина Т.Е., Гугунов Д.В., Мудунов А.М., Гурцевич В.Э. Вирус Эпштейна–	Senyuta N.B., Ignatova A.V., Lomaya M.V., Goncharova E.V., Scherback L.N., Dushenkina T.E., Gugunov D.V., Mudunov A.M., Gurtsevitch V.E. Epstein–Barr virus in	URL: https://iimmun.ru/iimm/article/view/478/ru_RU

	Барр у больных раком носоглотки и здоровых лиц в двух географически различных регионах России // Инфекция и иммунитет. 2017. Т. 7, № 1. С. 41–50.	the population of two geographically different regions of Russia. Russian Journal of Infection and Immunity, 2017, vol. 7, no. 1, pp. 41–50. (In Russ.)	[doi: 10.15789/2220-7619-2017-1-41-50]
7	Сенюта Н.Б., Смирнова К.В., Дидук С.В., Гончарова Е.В., Щербак Л.Н., Гурцевич В.Э. Структурно-функциональная характеристика онкогена LMP1 у больных с опухолями, ассоциированными и не ассоциированными с вирусом Эпштейна—Барр // Молекулярная генетика, микробиология и вирусология. 2016. Т. 34, № 2. С. 71–75.	Senyuta N.B., Smirnova K.V., Diduk S.V., Goncharova E.V., Shcherbak L.N., Gurtsevitch V.E. Structural and functional characteristics of the LMP1 oncogene in patients with tumors associated and not associated with the Epstein–Barr virus. Molecular Genetics, Microbiology and Virology , 2016, vol. 31, no. 2, pp. 87–93. (In Russ.)	URL: https://elibrary.ru/item.asp?id=26135758 [doi: 10.18821/0208-0613-2016-34-2-71-75]
8	Смирнова К.В., Дидук С.В., Гурцевич В.Э. Полиморфизм онкогена LMP1 вируса Эпштейна-Барр у представителей коренного малочисленного народа Дальнего Востока России //	Smirnova K.V., Diduk S.V., Gurtsevitch V.E. Polymorphism of Epstein-Barr virus LMP1 oncogene in nanaians, representatives of indigenous minority of the russian Far	URL: https://rjeid.com/1560-9529/article/view/409929 . [doi: 10.18821/1560-9529-2017-22-5-239-247]

	Эпидемиология и инфекционные болезни. 2017. Т. 22, № 5. С. 239–247.	East. Epidemiology and Infectious Diseases, 2017, vol. 22, no. 5, pp. 239–247. (In Russ.)	
9	Смирнова К.В., Дидук С.В., Сенюта Н.Б., Гурцевич В.Э. Молекулярно-биологические свойства гена lmp1 вируса Эпштейна–Барр: структура, функции и полиморфизм // Вопросы вирусологии. 2015. Т. 60, № 3. С. 5–13.	Smirnova K. V. , Diduk S. V. , Senyuta N. B. , Gurtsevitch V. E. Molecular biological properties of the Epstein-Barr virus LMP1 gene: structure, function and polymorphism. Problems of Virology, 2015, vol. 60, no. 3, pp. 5–13. (In Russ.)	URL: https://virusjour.crie.ru/jour/article/view/327
10	Смирнова К.В., Сенюта Н.Б., Ботезату И.В., Душенькина Т.Е., Лубенская А.К., Фроловская А.А., Петров С.В., Лихтенштейн А.В., Гурцевич В.Э. Вирус Эпштейна–Барр у этнических татар: инфицированность и сиквенсные варианты онкогена LMP1 // Успехи молекулярной онкологии. 2018. Т. 5, № 3. С. 65–74.	Smirnova K.V., Senyuta N.B., Botezatu I.V., Dushenkina T.E., Lubenskaya A.K., Frolovskaya A.A., Petrov S.V., Lichtenstein A.V., Gurtsevitch V.E. Epstein–Barr virus in the ethnic Tatars population: the infection and sequence variants of LMP1 oncogene. Advances in Molecular Oncology, 2018, vol. 5, no. 3, pp. 65–74. (In Russ.)	URL: https://umo.abvpress.ru/jour/article/view/167 [doi: 10.17650/2313-805X-2018-5-3-65-74]

11	Смирнова К.В., Сеньюта Н.Б., Лубенская А.К., Душенькина Т.Е., Гурцевич В.Э. Древние варианты вируса Эпштейна–Барр (Herpesviridae, Lymphocryptovirus, HHV-4): гипотезы и факты // Вопросы вирусологии. 2020. Т. 65, № 2. С. 77–86.	Smirnova K.V., Senyuta N.B., Lubenskaya A.K., Dushenkina T.E., Gurtsevich V.E. Ancient variants of the Epstein–Barr virus (Herpesviridae, Lymphocryptovirus, HHV-4): hypotheses and facts. Problems of Virology, 2020, vol. 65, no. 2, pp. 77–86. (In Russ.)	<p><u>URL:</u> https://virusjour.crie.ru/jour/article/view/282 [doi: 10.36233/0507-4088-2020-65-2-77-86]</p>
12	Яковлева Л.С., Сеньюта Н.Б., Гончарова Е.В., Щербак Л.Н., Смирнова К.В., Павлиш О.А., Гурцевич В.Э. Варианты онкогена LMP1 вируса Эпштейна–Барр в клеточных линиях различного происхождения // Молекулярная биология. 2015. Т. 49, № 5. С. 800–810.	Yakovleva L.S., Senyuta N.B., Goncharova E.V., Scherback L.N., Smirnova R.V., Pavlish O.A. Gurtsevitch V.E. Epstein-Barr Virus LMP1 oncogene variants in cell lines of different origin. Mol. Biol. (Mosk), 2015, vol. 49, no. 5, pp. 800-810. (In Russ.)	<p><u>URL:</u> https://elibrary.ru/item.asp?doi=10.7868/S0026898415050213 [doi: 10.7868/S0026898415050213]</p>
13	Alves P., Larrate M., Garcia-Costa A., Rohan P., Gama B.E., Abdelhay E., Delatorre E., Hassan R. Spatial Dispersal of Epstein-Barr Virus in South America Reveals an African	---	<p><u>URL:</u> https://www.mdpi.com/1999-4915/14/8/1762 [doi: 10.3390/v14081762]</p>

	American Variant in Brazilian Lymphomas. Viruses, 2022, vol. 14, no. 8, p. 1762.		
14	Baer R., Bankier A.T., Biggin M.D., Deininger P.L., Farrell P.J., Gibson T.G. DNA sequence and expression of the B95-8 Epstein-Barr virus genome. Nature (London), 1984, vol. 310, pp. 207–211.	---	URL: https://www.nature.com/articles/310207a0 [doi: 10.1038/310207a0]
15	Banko A.V., Lazarevic I.B., Folic M.M., Djukic V.B., Cirkovic A.M., Karalic D.Z., Cupic M.D., Jovanovic T.P. Characterization of the Variability of Epstein-Barr Virus Genes in Nasopharyngeal Biopsies: Potential Predictors for Carcinoma Progression. PLoS One, 2016, vol. 11, no. 4, p. e0153498.	---	URL: https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0153498 [doi: 10.1371/journal.pone.0153498]
16	Banko A., Lazarevic I., Stevanovic G., Cirkovic A., Karalic D., Cupic M., Banko B., Milovanovic J., Jovanovic T. Analysis of the Variability of Epstein-Barr Virus Genes in	---	URL: https://scindeks.ceon.rs/article.aspx?artid=1452-82581603337B

	Infectious Mononucleosis: Investigation of the Potential Correlation with Biochemical Parameters of Hepatic Involvement. J. Med. Biochem., 2016, vol. 35, no. 3, pp. 337–346.		[doi: 10.1515/jomb-2015-0021]
17	Baroncelli S., Galluzzo C.M., Liotta G., Andreotti M., Orlando S., Ciccacci F., Mphwere R., Luhanga R., Sagno J.B., Amici R., Marazzi M.C., Giuliano M. HIV-exposed infants with EBV infection have a reduced persistence of the immune response to the HBV vaccine. AIDS Res. Ther., 2021, vol. 18, no. 1, p. 48.	---	URL: https://aidsrestherapy.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12981-021-00375-7 [doi: 10.1186/s12981-021-00375-7]
18	Bridges R., Correia S., Wegner F., Venturini C., Palser A., White R.E., Kellam P., Breuer J., Farrell P.J. Essential role of inverted repeat in Epstein-Barr virus IR-1 in B cell transformation; geographical variation of the viral genome. Philos. Trans. R. Soc. Lond. B	---	URL: https://royalsocietypublishing.org/doi/full/10.1098/rstb.2018.0299?rfr_dat=cr_pub++0pubmed&url_ver=Z39.88-

	Biol. Sci., 2019, vol. 374, no. 1773, p. 20180299.		2003&rfr_id=ori%3Arid%3A crossref.org [doi: 10.1098/rstb.2018.0299]
19	Coleman C.B., Daud I.I., Ogolla S.O., Ritchie J.A., Smith N.A., Sumba P.O., Dent A.E., Rochford R. Epstein-Barr Virus Type 2 Infects T Cells in Healthy Kenyan Children. J. Infect. Dis., 2017, vol. 216, no. 6, pp. 670–677.	---	URL: https://academic.oup.com/jid/a rticle/216/6/670/4037410 [doi: 10.1093/infdis/jix363]
20	Coleman C.B., Lang J., Sweet L.A., Smith N.A., Freed B.M., Pan Z., Haverkos B., Pelanda R., Rochford R. Epstein-Barr Virus Type 2 Infects T Cells and Induces B Cell Lymphomagenesis in Humanized Mice. J. Virol., 2018, vol. 92, no. 21, p. e00813-18.	---	URL: <a href="https://journals.asm.org/doi/10.1128/jvi.00813-18?url_ver=Z39.88-2003&rfr_id=ori%3Arid%3A
crossref.org&rfr_dat=cr_pub+
+0pubmed">https://journals.asm.org/doi/10 .1128/jvi.00813- 18?url_ver=Z39.88- 2003&rfr_id=ori%3Arid%3A crossref.org&rfr_dat=cr_pub+ +0pubmed [doi: 10.1128/JVI.00813-18]

21	Correa R.M., Fellner M.D., Durand K., Redini L., Alonio V., Yampolsky C., Colobraro A., Sevlever G., Teyssié A., Benetucci J., Picconi M.A. Barr virus genotypes and LMP-1 variants in HIV-infected patients. <i>J. Med. Virol.</i> , 2007, vol. 79, no. 4, pp. 401–407.	---	URL: https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/jmv.20782 [doi: 10.1002/jmv.20782]
22	Correia S., Palser A., Elgueta Karstegl C., Middeldorp J.M., Ramayanti O., Cohen J.I., Hildesheim A., Fellner M.D., Wiels J., White R.E., Kellam P., Farrell P.J. Natural Variation of Epstein-Barr Virus Genes, Proteins, and Primary MicroRNA Natural Variation of Epstein-Barr Virus Genes, Proteins, and Primary MicroRNA. <i>J. Virol.</i> , 2017, vol. 91, no. 15, p. e00375-17.	---	URL: https://journals.asm.org/doi/10.1128/jvi.00375-17 [doi: 10.1128/JVI.00375-17]
23	Dolcetti R., Zancai P., De Re V., Gloghini A., Bigoni B., Pivetta B., De Vita S., Carbone A.,	---	URL: https://www.sciencedirect.com

	Boiocchi M. Epstein-Barr virus strains with latent membrane protein-1 deletions: prevalence in the Italian population and high association with human immunodeficiency virus-related Hodgkin's disease. <i>Blood</i> , 1997, vol. 89, no, 5, pp. 1723–1731.		/science/article/pii/S0006497120591581?via%3Dihub
24	Edwards R.H., Seillier-Moiseiwitsch F., Raab-Traub N. Signature amino acid changes in latent membrane protein 1 distinguish Epstein-Barr virus strains. <i>Virology</i> , 1999, vol. 261, pp. 79–95.	---	URL: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0042682299998550?via%3Dihub [doi: 10.1006/viro.1999.9855]
25	Farrell P.J., White R.E. Do Epstein–Barr Virus Mutations and Natural Genome Sequence Variations Contribute to Disease? <i>Biomolecules</i> , 2022, vol. 12, no. 1, p. 17.	---	URL: https://www.mdpi.com/2218-273X/12/1/17 [doi: 10.3390/biom12010017]
26	Gantuz M., Lorenzetti M.A., Chabay P.A., Preciado M.V. A novel recombinant variant of latent membrane protein 1 from Epstein	---	URL: https://journals.plos.org/ploso

	Barr virus in Argentina denotes phylogeographical association. PLoS One, 2017, vol. 12, no. 3, p. e0174221.		ne/article?id=10.1371/journal.pone.0174221 [doi: 10.1371/journal.pone.0174221]
27	Giron L.B., Ramos da Silva S., Barbosa A.N., Monteiro de Barros Almeida R.A., Rosário de Souza Ld., Elgui de Oliveira D. Impact of Epstein-Barr virus load, virus genotype, and frequency of the 30 bp deletion in the viral BNLF-1 gene in patients harboring the human immunodeficiency virus. J. Med. Virol., 2013, vol. 85, no. 12, pp. 2110–2118.	---	URL: https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/jmv.23722 [doi: 10.1002/jmv.23722]
28	Hu L.F., Zabarovsky E.R., Chen F., Cao S.L., Ernberg I., Klein G., Winberg G. Isolation and sequencing of the Epstein-Barr virus BNLF-1 gene (LMP1) from a Chinese	---	URL: https://www.microbiologyresearch.org/content/journal/jgv/10.1099/0022-1317-72-10-2399#tab2

	nasopharyngeal carcinoma. <i>J. Gen. Virol.</i> , 1991, vol. 72, no. 1, pp. 2399–2409.		[doi: 10.1099/0022-1317-72-10-2399]
29	Mainou B.A., Raab-Traub N. LMP1 strain variants: biological and molecular properties. <i>J. Virol.</i> , 2006, vol. 80, no. 13, pp. 6458–6468.	---	URL: https://journals.asm.org/doi/10.1128/jvi.00135-06 [doi: 10.1128/JVI.00135-06]
30	Martini M., Capello D., Serraino D., Navarra A., Pierconti F., Cenci T., Gaidano G., Larocca L.M. Characterization of variants in the promoter of EBV gene BZLF1 in normal donors, HIV-positive patients and in AIDS-related lymphomas. <i>J. Infect.</i> , 2007, vol. 54, no. 3, pp. 298–306.	---	URL: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S016344530600154X?via%3Dihub [doi: 10.1016/j.jinf.2006.04.015]
31	Pai P.C., Tseng C.K., Chuang C.C., Wei K.C., Hao S.P., Hsueh C., Chang K.P., Tsang N.M. Polymorphism of C-terminal activation region 2 of Epstein-Barr virus latent membrane protein 1 in predicting	---	URL: https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/hed.20483 [doi: 10.1002/hed.20483]

	distant failure and post-metastatic survival in patients with nasopharyngeal carcinoma. <i>Head Neck</i> , 2007, vol. 29, pp. 109–119.		
32	Pedneault L., Lapointe N., Alfieri C., Ghadirian P., Carpentier L., Samson J., Joncas J. Natural history of Epstein-Barr virus infection in a prospective pediatric cohort born to human immunodeficiency virus-infected mothers. <i>J. Infect. Dis.</i> , 1998, vol. 177, no. 4, pp. 1087–1090.	---	URL: https://academic.oup.com/jid/article/177/4/1087/928999 [doi: 10.1086/517401]
33	Pereira L.M.S., Dos Santos França E., Costa I.B., Lima I.T., Freire A.B.C., de Paula Ramos F.L., Monteiro T.A.F., Macedo O., Sousa R.C.M., Freitas F.B., Costa I.B., Vallinoto A.C.R. Epidemiological risk factors associated with primary infection by Epstein-Barr virus in HIV-1-positive subjects	---	URL: https://www.nature.com/articles/s41598-021-97707-4#change-history [doi: 10.1038/s41598-021-97707-4]

	in the Brazilian Amazon region. <i>Sci. Rep.</i> , 2021, vol. 11, no. 1, p. 18476.		
34	Pereira L.M.S., França E.D.S., Costa I.B., Lima I.T., Freire A.B.C., Ramos F.L.P., Monteiro T.A.F., Macedo O., Sousa R.C.M., Freitas F.B., Brasil Costa I., Vallinoto A.C.R. Epstein-Barr Virus (EBV) Genotypes Associated with the Immunopathological Profile of People Living with HIV-1: Immunological Aspects of Primary EBV Infection. <i>Viruses</i> , 2022, vol. 14, no. 2, p. 168.	---	URL: https://www.mdpi.com/1999-4915/14/2/168 [doi: 10.3390/v1402016]
35	Petrara M.R., Cattelan A.M., Zanchetta M., Sasset L., Freguja R., Gianesin K., Cecchetto M.G., Carmona F., De Rossi A. Epstein-Barr virus load and immune activation in human immunodeficiency virus type 1-infected	---	URL: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1386653211005208?via%3Dihub [doi: 10.1016/j.jcv.2011.12.013]

	patients. J. Clin. Virol., 2012, vol. 53, no. 3, pp. 195–200.		
36	Petrara M.R., Penazzato M., Massavon W., Nabachwa S., Nannyonga M., Mazza A., Giancesin K., Del Bianco P., Lundin R., Sumpter C., Zanchetta M. Giaquinto C., De Rossi A. Epstein-Barr virus load in children infected with human immunodeficiency virus type 1 in Uganda. J. Infect. Dis., 2014, vol. 210, no. 3, pp. 392–399.	---	URL: https://academic.oup.com/jid/article/210/3/392/2908531?login=false [doi: 10.1093/infdis/jiu099]
37	Salahuddin S., Azhar J., Akhtar H., Khan J., Muhammad N. Epstein - Barr virus epidemiology in HIV infected transsexuals. J. Pak. Med. Assoc., 2021, vol. 71, no. 8, pp. 1984–1988.	---	URL: https://www.ojs.jpma.org.pk/index.php/public_html/article/view/673 [doi: 10.47391/JPMA.02-339]
38	Samayoa-Reyes G., Ogolla S.O., Daud I.I., Jackson C., Sabourin K.R., Dent A., Rochford R. Maternal HIV Infection as a	---	URL: https://www.frontiersin.org/jo

	Risk Factor for Primary Epstein-Barr Virus Infection in Kenyan Infants. <i>Front. Oncol.</i> , 2022, vol. 11, p. 805145.		urnals/oncology/articles/10.3389/fonc.2021.805145/full [doi: 10.3389/fonc.2021.805145]
39	Santos L., Azevedo K., Silva L., Oliveira L. Epstein-Barr virus in oral mucosa from human immunodeficiency virus positive patients. <i>Rev. Assoc. Med. Bras.</i> (1992), 2014, vol. 60, no. 3, pp. 262–269.	---	URL: https://www.scielo.br/j/ramb/a/FhFTLrgkGSbLpncHrsf3SJD/?lang=en [doi: 10.1590/1806-9282.60.03.016]
40	Sitki-Green D., Edwards R.H., Webster-Cyriaque J., Raab-Traub N. Identification of Epstein-Barr virus strain variants in hairy leukoplakia and peripheral blood by use of a heteroduplex tracking assay. <i>J. Virol.</i> , 2002, vol. 76, no. 19, pp. 9645–9656.	---	URL: https://journals.asm.org/doi/10.1128/jvi.76.19.9645-9656.2002 [doi: 10.1128/jvi.76.19.9645-9656.2002]
41	Traore L., Nikiema O., Ouattara A.K., Compaore T.R., Soubeiga S.T., Diarra B.,	---	URL: https://www.mjhid.org/index.p

	Obiri-Yeboah D., Sorgho P.A., Djigma F.W., Bisseye C., Yonli A.T., Simpore J. EBV and HHV-6 Circulating Subtypes in People Living with HIV in Burkina Faso, Impact on CD4 T cell count and HIV Viral Load. <i>Mediterr. J. Hematol. Infect. Dis.</i> , 2017, vol. 9, no. 1, p. e2017049.		hp/mjhjhid/article/view/2017.049 [doi: 10.4084/MJHID.2017.049]
42	Tsai M.H., Lin X., Shumilov A., Bernhardt K., Feederle R., Poirey R., Kopp-Schneider A., Pereira B., Almeida R., Delecluse H.J. The biological properties of different Epstein-Barr virus strains explain their association with various types of cancers. <i>Oncotarget</i> , 2017, vol. 8, no. 6, pp. 10238–10254.	---	URL: https://www.oncotarget.com/article/14380/text/ [doi: 10.18632/oncotarget.14380]
43	Tzellos S., Farrell P.J. Epstein-barr virus sequence variation-biology and disease. <i>Pathogens</i> , 2012, vol. 1, no. 2, pp. 156–174.	---	URL: https://www.mdpi.com/2076-0817/1/2/156

			[doi: 10.3390/pathogens1020156]
44	Vaysberg M., Hatton O., Lambert S.L., Snow A.L., Wong B., Krams S.M., Martinez O.M. Tumor-derived variants of Epstein-Barr virus latent membrane protein 1 induce sustained Erk activation and c-Fos. <i>J. Biol. Chem.</i> , 2008, vol. 283, no. 52, pp. 36573–36585.	---	URL: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0021925820496668?via%3Dihub [doi: 10.1074/jbc.M802968200]
45	Verdu-Bou M., Tapia G., Hernandez-Rodriguez A., Navarro J.T. Therapeutic Implications of Epstein-Barr Virus in HIV-Related Lymphomas. <i>Cancers (Basel.)</i> , 2021, vol. 13, no. 1, p. 5534.	---	URL: https://www.mdpi.com/2072-6694/13/21/5534 [doi: 10.3390/cancers13215534]
46	Wan Z., Chen Y., Hui J., Guo Y., Peng X., Wang M., Hu C., Xie Y., Su J., Huang Y., Xu X., Xu Y., Zhu B. Epstein-Barr virus	---	URL: https://virologyj.biomedcentra

	variation in people living with human immunodeficiency virus in southeastern China. <i>Viol. J.</i> , 2023, vol. 20, no. 1, p. 107.		l.com/articles/10.1186/s12985-023-02078-z [doi: 10.1186/s12985-023-02078-z]
47	Wang L., Ning S. New Look of EBV LMP1 Signaling Landscape. <i>Cancers (Basel.)</i> , 2021, vol. 13, no. 21, p. 5451.	---	URL: https://www.mdpi.com/2072-6694/13/21/5451 [doi: 10.3390/cancers13215451]
48	Xue W.Q., Wang T.M., Huang J.W., Zhang J.B., He Y.Q., Wu Z.Y., Liao Y., Yuan L.L., Mu J., Jia W.H. A comprehensive analysis of genetic diversity of EBV reveals potential high-risk subtypes associated with nasopharyngeal carcinoma in China. <i>Virus Evol.</i> , 2021, vol. 7, no. 1, p. veab010.	---	URL: https://academic.oup.com/ve/article/7/1/veab010/6292131?login=false [doi: 10.1093/ve/veab010]
49	Yao Q.Y., Tierney R.J., Croom-Carter D., Cooper G.M., Ellis C.J., Rowe M., Rickinson	---	URL: https://journals.asm.org/doi/10

	A.B. Isolation of intertypic recombinants of Epstein-Barr virus from T-cell-immunocompromised individuals. <i>J. Virol.</i> , 1996, vol. 70, no. 8, pp. 4895–4903.		.1128/jvi.70.8.4895-4903.1996?url_ver=Z39.88-2003&rfr_id=ori%3Arid%3Acrossref.org&rfr_dat=cr_pub++0pubmed [doi: 10.1128/JVI.70.8.4895-4903.1996]
50	Zealiyas K., Teshome S., Haile A.F., Weigel C., Alemu A. Amogne W., Yimer G., Abebe T., Berhe N., Ahmed E.H., Baiocchi R.A. Genotype characterization of Epstein-Barr virus among adults living with human immunodeficiency virus in Ethiopia. <i>Front Microbiol.</i> , 2023, vol. 14, p. 1270824.	---	URL: https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fmicb.2023.1270824/full [doi: 10.3389/fmicb.2023.1270824]
51	Zuercher E., Buttica C., Wyniger J., Martinez R., Battegay M., Boffi El Amari E., Dang T., Egger J.F., Fehr J., Mueller-Garamvögyi E., Parini A., Schaefer S.C.,	---	URL: https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0032168

	<p>Schoeni-Affolter F., Thurnheer C., Tinguely M., Telenti A., Rothenberger S. Swiss HIV Cohort Study. Genetic diversity of EBV-encoded LMP1 in the Swiss HIV Cohort Study and implication for NF-Kb activation. PLoS One, 2012, vol. 7, no. 2, p. e32168.</p>		<p>[doi: 10.1371/journal.pone.0032168]</p>
--	--	--	---