

**ОЦЕНКА ВЗАИМОСВЯЗИ ОСНОВНЫХ ТИПОВ И ГЕНОВАРИАНТОВ
ВИРУСА ЭПШТЕЙНА-БАРР С КЛИНИКО-ЛАБОРАТОРНЫМИ
ПОКАЗАТЕЛЯМИ У ВИЧ-ИНФИЦИРОВАННЫХ ВЗРОСЛЫХ**

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.

**ASSESSMENT OF THE RELATIONSHIP BETWEEN EPSTEIN-BARR
VIRUS MAJOR TYPES AND GENOVARIANTS AS WELL AS CLINICAL
AND LABORATORY PARAMETERS IN HIV-INFECTED ADULTS**

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. У людей, живущих с вирусом иммунодефицита человека (ВИЧ), чаще наблюдается реактивация вируса Эпштейна-Барр (ВЭБ) и развитие ВЭБ-ассоциированных заболеваний. В России изучение клинической значимости генетического разнообразия ВЭБ у ВИЧ-инфицированных пациентов не проводилось. *Цель* исследования – оценка взаимосвязи основных типов ВЭБ и геновариантов LMP-1 с клинико-лабораторными показателями у ВИЧ-инфицированных взрослых. *Материалы и методы.* Исследованы лейкоциты крови 138 ВИЧ-инфицированных в возрасте 20–69 лет. Для дифференциальной детекции типов ВЭБ-1 и ВЭБ-2 применялся метод ПЦР. Определение нуклеотидных последовательностей С-концевого фрагмента гена *LMP-1* выполнено методом секвенирования по Сэнгеру. Биоинформационный анализ данных проводили с помощью программного обеспечения MEGA X. Для поиска взаимосвязи типов ВЭБ, вариантов и субвариантов LMP-1 данного вируса с клинико-лабораторными показателями (количество CD4⁺ Т-лимфоцитов, вирусная нагрузка ВИЧ, вирусная нагрузка ВЭБ, применение и приверженность антиретровирусной терапии (АРТ)) использован метод главных компонент и U-тест Манна-Уитни. *Результаты.* Показано, что определяемый уровень вирусной нагрузки ВИЧ возрастает у пациентов с низким содержанием CD4⁺ Т-лимфоцитов, высокой вирусной нагрузкой ВЭБ, низкой приверженностью АРТ или в ее отсутствие. В целом, при инфицировании только ВЭБ-2 или вариантом LMP-1 B95-8 вирусная нагрузка ВЭБ и ВИЧ была меньше по сравнению с другими вариантами вируса. Выявлены значимые субварианты LMP-1 ВЭБ-1, биологический потенциал которых реализовался в условиях иммунодефицита (количество CD4⁺ Т-лимфоцитов ≤ 200 клеток/мкл). При этом у «наивных» пациентов коинфекция ВЭБ-1/LMP-1(S309N)+ВИЧ протекала с более высокой, а ВЭБ-1/LMP-1(E328Q)+ВИЧ с наименьшей вирусной нагрузкой ВИЧ. Наиболее высокий уровень ДНК ВЭБ у этих пациентов наблюдался при молекулярно-генетическом профиле ВЭБ-1/LMP-1(Q334R)+ВИЧ. В группе «опытных»

пациентов концентрация ДНК ВЭБ в лейкоцитах крови была значительно ниже при инфицировании ВЭБ-1/LMP-1(E328Q)+ВИЧ и, наоборот, выше, в тех случаях, когда выявляли ВЭБ-1/LMP-1(H358P)+ВИЧ. *Заключение.* Впервые в России выявлены особенности клинико-лабораторных показателей ВЭБ+ВИЧ-коинфекции при инфицировании разными субвариантами LMP-1 ВЭБ-1 (на уровне аминокислотных замен S309N, E328Q, Q334R, H358P). Необходимо изучение функциональной роли выявленных мутаций *in vitro* и *in vivo*. В контексте изучения клинической значимости молекулярно-генетического разнообразия ВЭБ целесообразно проведение более масштабных исследований на разных территориях России.

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

Abstract

Introduction. People living with human immunodeficiency virus (HIV) are more likely to experience Epstein-Barr virus (EBV) reactivation and develop EBV-associated diseases. In Russia, the clinical significance of EBV genetic diversity in HIV-infected patients has not been assessed. *The aim* was to analyze a relationship between the major EBV types and LMP-1 genovariants with clinical and laboratory parameters in HIV-infected subjects. *Materials and methods.* Peripheral blood leukocytes were collected from 138 HIV(+) individuals aged 20-69 years. Association between EBV types, LMP-1 variants and subvariants with clinical and laboratory parameters (CD4⁺ T-lymphocyte count, HIV and EBV viral load, use and adherence to antiretroviral therapy (ART)), was performed using the principal component analysis method and the Mann-Whitney U test. *Results.* It has been shown that detectable HIV viral load increases in patients with low CD4⁺ T-lymphocyte counts, high EBV viral load, and low or no ART adherence. In general, infection with EBV-2 or the LMP-1 B95-8 alone resulted in lower EBV and HIV viral loads compared with other variants. Significant EBV-1 LMP-1 subvariants were identified, the biological potential of which was enabled in immunodeficiency state (CD4⁺ T-lymphocyte count ≤ 200 cells/ μ l). In “naive” patients, EBV-1/LMP-1(S309N)+HIV co-infection occurred with a higher, and EBV-1/LMP-1(E328Q)+HIV with the lowest HIV viral load. The highest EBV DNA concentrations were observed with EBV-1/LMP-1(Q334R)+HIV. In “experienced” patients, the level of EBV DNA was significantly lower when infected with EBV-1/LMP-1(E328Q)+HIV and, conversely, higher in case of detected EBV-1/LMP-1(H358P)+HIV. *Conclusion.* The features of clinical and laboratory parameters EBV+HIV co-infection caused by different EBV-1 LMP-1 subvariants (at the level of amino acid substitutions S309N, E328Q, Q334R, H358P) have been identified. It is necessary to study the functional role of such mutations *in vitro* and *in vivo*. In the context of assessing a clinical significance of EBV molecular genetic diversity, it is advisable to conduct larger-scale studies in different territories of Russia.

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

1 Введение

В настоящее время во всем мире инфицированность взрослого населения *Human gammaherpesvirus 4*, известным как вирус Эпштейна-Барр (ВЭБ), составляет более 90%. Первичное инфицирование ВЭБ происходит в раннем детском или подростковом возрасте. При этом у иммунокомпетентных лиц в 60-80% случаев наблюдается бессимптомная сероконверсия, реже развивается острая форма ВЭБ-инфекции – инфекционный мононуклеоз (ИМ). Впоследствии человек пожизненно остается вирусоносителем ВЭБ [3]. Однако у иммунокомпрометированных лиц ВЭБ-инфекция протекает с более выраженными клиническими проявлениями и осложнениями [1, 2, 9, 23, 35].

Большинство взрослых людей, которые заражаются ВИЧ, уже инфицированы ВЭБ [23, 45, 49]. Клинические наблюдения зарубежных и российских специалистов свидетельствуют о том, что у людей, живущих с ВИЧ (ЛЖВ), учащаются и продлеваются эпизоды реактивации ВЭБ, что может существенно влиять на показатели заболеваемости и смертности [2, 23, 31]. ВЭБ-инфекция, включая ИМ, выявляется у 38% амбулаторных ВИЧ-инфицированных пациентов [1]. Для сравнения, у здоровых доноров крови серологические маркеры реактивации ВЭБ-инфекции обнаруживают с частотой 13% [22]. ВЭБ рассматривается как кофактор прогрессирования ВИЧ-инфекции. В общем, коинфицирование ВЭБ+ВИЧ может приводить к развитию хронической активной ВЭБ-инфекции, волосатой лейкоплакии, лимфоидным интерстициальным пневмониям, нейроинфекции и широкому спектру злокачественных новообразований [2, 9, 32].

Несмотря на успехи антиретровирусной терапии (АРТ), прогнозы специалистов сводятся к тому, что эпидемический потенциал ВИЧ-инфекции на фоне увеличения продолжительности жизни пациентов будет сопровождаться ростом числа случаев выявления ВЭБ-ассоциированных опухолей, что требует продолжения междисциплинарных исследований в контексте данной проблемы [9, 19, 27, 28, 42, 45]. Среди наиболее значимых

30 онкогенов, участвующих в вирусной кооперации, отмечают связанные с ВИЧ-
31 1 гены *Tat* и *Vpr* и гены ВЭБ – *LMP-1* и *EBNA-2* [19].

32 Механизмы взаимодействия ВЭБ и ВИЧ при коинфекции остаются мало
33 изученными. Относительно недавно были получены первые данные об
34 иммунологическом профиле ВИЧ-инфицированных в зависимости от
35 инфицирующего типа ВЭБ – ВЭБ-1 и ВЭБ-2, которые различают на основе
36 генов ядерного антигена 2 и 3 (*EBNA-2*, *EBNA-3*). У ВИЧ-инфицированных
37 ВЭБ-1 был ассоциирован с меньшим количеством CD4⁺ Т-лимфоцитов и
38 высокой вирусной нагрузкой ВИЧ, в то время как ВЭБ-2 чаще встречался при
39 уровне CD4⁺ Т-лимфоцитов ≥ 500 клеток/мкл и низкой вирусной нагрузке ВИЧ
40 [35, 40]. Имеются сведения, что отсутствие или позднее начало АРТ у ВИЧ-
41 инфицированных пациентов повышает риск коинфекции ВЭБ-1+ВЭБ-2 и
42 развитие симптомов заболевания [34, 36]. Пока единственная работа о
43 распространенности вариантов ВЭБ при ВИЧ-инфекции в контексте наиболее
44 популярной классификации R. Edwards и соавт. [20], основанной на
45 полиморфизме С-концевой области гена латентного мембранного белка 1
46 (*LMP-1*), опубликована в мае 2023 года [43].

47 В России исследования молекулярно-генетического разнообразия ВЭБ
48 во взаимосвязи с клинико-лабораторными показателями у ЛЖВ до сих пор не
49 проводились. Расширение знаний о патогенезе ВЭБ на молекулярном уровне
50 лежит в основе перспективной разработки методов специфической
51 профилактики, диагностики и терапии ВЭБ-ассоциированных заболеваний у
52 пациентов с ВИЧ/СПИД [27].

53 Цель исследования – оценка взаимосвязи основных типов ВЭБ и
54 геновариантов LMP-1 с клинико-лабораторными показателями у ВИЧ-
55 инфицированных взрослых.

56 2 Материалы и методы

57 *Характеристика групп исследования.* Проведено комплексное клинико-
58 лабораторное обследование 138 ВИЧ-инфицированных пациентов в возрасте

59 20–69 лет, которые находились на диспансерном наблюдении в ГБУЗНО
60 «НОЦ СПИД» (г. Нижний Новгород) (группа ВИЧ(+)).

61 *Группы сравнения.* Сформированы группы сравнения ВИЧ(+) пациентов
62 на основе комбинации данных о степени иммунных нарушений (по
63 классификации ВОЗ [46]) и антиретровирусной терапии (АРТ): «наивные»
64 пациенты (без АРТ), CD4⁺ Т-лимфоциты <200 клеток/мкл (группа G1, n=30);
65 «наивные» пациенты (без АРТ), CD4⁺ Т-лимфоциты >500 клеток/мкл (группа
66 G2, n=20); «опытные» пациенты (получающие АРТ в среднем 36 месяцев),
67 CD4⁺ Т-лимфоциты <200 клеток/мкл (группа G3, n=43); «опытные» пациенты
68 (получающие АРТ в среднем 36 мес.), CD4⁺ Т-лимфоциты >500 клеток/мкл
69 (группа G4, n=45).

70 «Наивные» пациенты были обследованы перед началом АРТ (Z, n=50).

71 «Опытных» пациентов (n=88) различали по степени приверженности
72 АРТ: высокая (H, n=55), средняя (M, n=5), низкая (L, n=28).

73 *Соблюдение этических требований.* Работа проводилась с
74 деперсонализированными данными пациентов. Информированное согласие
75 пациентов на проведение исследовательской работы в соответствии с
76 положениями Хельсинкской декларации (2013) было получено лечащими
77 врачами медицинской организации. Работа получила одобрение на заседании
78 локального этического комитета ФБУН ННИИЭМ им. академика И.Н.
79 Блохиной Роспотребнадзора (Протокол №3 от 11.11.2021 г.).

80 Анализ клинико-лабораторных показателей каждого пациента (пол,
81 возраст, приверженность АРТ, результаты проточной цитофлуориметрии,
82 ИФА, иммуноблоттинга и ПЦР для определения маркеров ВИЧ-инфекции)
83 проведен ретроспективно на основе данных медицинской документации. Для
84 количественной оценки CD4⁺ Т-лимфоцитов использовали проточный
85 цитофлуориметр BD FACSCalibur (Becton Dickinson, США). Вирусную
86 нагрузку ВИЧ определяли методом ПЦР в реальном времени (ПЦР-РВ) с
87 помощью тест-системы «РеалБест РНК ВИЧ количественный» (АО «Вектор-

88 Бест», Россия). Рекомендуемый производителем тест-системы порог
89 определяемой вирусной нагрузки ВИЧ в плазме крови составляет 58 копий/мл.

90 ПЦР-исследования и секвенирование по Сэнгеру ДНК ВЭБ проводились
91 в лаборатории молекулярной биологии и биотехнологии ФБУН ННИИЭМ им.
92 академика И.Н. Блохиной Роспотребнадзора.

93 *Сбор биологического материала.* Материалом для исследования
94 послужила цельная периферическая кровь, стабилизированная К₃ЭДТА. Для
95 получения фракции лейкоцитов крови использовали реагент «Гемолитик»
96 (ФБУН ЦНИИЭ Роспотребнадзора, Россия) в соответствии с инструкцией
97 производителя.

98 *Определение ДНК ВЭБ.* Выделение тотальной нуклеиновой кислоты
99 проводили с помощью комплекта реагентов для выделения РНК/ДНК из
100 клинического материала «РИБО-преп» (ФБУН ЦНИИЭ Роспотребнадзора,
101 Россия). Выявление и количественное определение ДНК ВЭБ выполняли с
102 помощью ПЦР в реальном времени (ПЦР-РВ) с применением коммерческого
103 набора «АмплиСенс® EBV/CMV/HHV6-скрин-FL» (ФБУН ЦНИИЭ
104 Роспотребнадзора, Россия) на амплификаторе Rotor-Gene Q 5plex HRM
105 («Qiagen», Германия). Лабораторный протокол на всех этапах ПЦР-РВ
106 соблюдали согласно инструкции производителя.

107 *Дифференциальная детекция ВЭБ-1 и ВЭБ-2 методом ПЦР.* Для
108 отдельной детекции основных типов ВЭБ (ВЭБ-1 и ВЭБ-2) применен
109 оптимизированный нами ранее вариант однораундовой ПЦР на основе гена
110 EBNA-2 [5].

111 *ПЦР-анализ и секвенирование по Сэнгеру фрагмента гена LMP-1 ВЭБ.*
112 Положительные образцы, содержащие ДНК ВЭБ (по результатам ПЦР-РВ),
113 были использованы для амплификации С-концевого фрагмента гена LMP-1
114 вируса методом ПЦР в оптимизированном нами однораундовом варианте
115 исполнения [6]. Лабораторный протокол последующего секвенирования по
116 Сэнгеру фрагмента гена LMP-1 ВЭБ описан нами ранее [6].

117 *Биоинформационный анализ.* Биоинформационный анализ данных
118 проводился с помощью открытого программного обеспечения MEGA X (Mega
119 Software, США)¹ и языка программирования R версия 2022.12.0+353 (The R
120 Foundation for Statistical Computing, Inc)² Полученные исходные нуклеотидные
121 последовательности выравнивались по алгоритму ClustalW. В качестве
122 референсных последовательностей служили полученные из базы данных
123 GenBank³ полногеномные последовательности прототипного штамма *B95-8*
124 (V01555.1), а также нуклеотидные последовательности гена *LMP-1* – штаммы
125 *China 1* (AY337723.1), *China 2* (AY337724.1), *Med-* (AY337721.2), *Med+*
126 (AY337722.2), *NC* (AY337726.2), *Alaskan* (AY337725.1), *CAO* (X58140.1) и
127 *AG876* (DQ279927.1). Нуклеотидные последовательности исследуемых
128 изолятов ВЭБ и референсные последовательности транслировались в
129 аминокислотные по стандартному генетическому коду. Принадлежность
130 исследуемых последовательностей LMP-1 к определенным вариантам в
131 рамках классификации R. Edwards и соавт. устанавливалась по наличию
132 сигнатурных аминокислотных замен (согласно таблице 1 в [20]).
133 Предполагаемые рекомбинантные последовательности (*rec*) анализировали с
134 помощью программного обеспечения 3SEQ (BoniLab, Вьетнам – США).
135 Использовали длину окна 200 п.н. и шаг 10 п.н. Статистическую значимость
136 вероятных рекомбинационных событий оценивали с применением
137 непараметрического мозаичного теста.

138 Полученные нуклеотидные последовательности 82 нижегородских
139 изолятов ВЭБ из лейкоцитов крови ВИЧ-инфицированных взрослых
140 депонированы в международную базу данных GenBank: №№ доступа
141 OR862230-OR862311 (присвоены 12.12.2023).

142 *Статистическая обработка данных.* Статистическая обработка данных
143 проводилась с использованием языка программирования R и среды RStudio

¹ URL: <https://www.megasoftware.net>

² URL: <https://www.R-project.org/>

³ URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank>

144 версия 2022.12.0+353 (RStudio, RBC)^{2,4}. Принадлежность выборок к
145 нормальному распределению определяли с помощью критерия Шапиро-Уилка
146 и графиков квантилей. Для попарного сравнения независимых выборок
147 использован критерий Манна-Уитни. Полученное количество ДНК/РНК и
148 клеток представляли в виде Me [Q1; Q3] (где Me – медиана, Q1, Q3 – первый
149 и третий квартили). Долю описывали с указанием стандартного отклонения
150 процентной доли ($P \pm \sigma_p$), в %. Оценку различий относительных показателей в
151 анализируемых группах проводили с применением критерия χ^2 (хи-квадрат) с
152 поправкой Йетса и критерия Фишера. Различия считали статистически
153 значимыми при $p < 0,05$.

154 Оценку возможного влияния ВЭБ-инфекции на клинико-лабораторные
155 показатели у ВИЧ-инфицированных проводили с использованием метода
156 главных компонент (РСА-анализ). Анализировали распределение ВИЧ(+)
157 пациентов в координатах первых двух главных компонент (ГК) в зависимости
158 от вирусной нагрузки ВЭБ, содержания CD4⁺ Т-лимфоцитов и
159 приверженности пациентов АРТ. При этом приверженность терапии
160 выражали в числовых значениях от 0 до 1, где 0 – без АРТ, 1 – высокая
161 приверженность. Вклад переменных в состав компонент оценивали по
162 показателю корреляции вектора переменной и осью компоненты. Возможные
163 факторы группировки пациентов в координатах двух первых измерений
164 выявляли методом визуального наложения. Для количественной оценки
165 строили линейную модель зависимости возможных факторов группировки от
166 переменных со значительным вкладом в состав первых двух главных
167 компонент.

168 Оценивали вирусную нагрузку ВЭБ и ВИЧ, количество CD4⁺ Т-
169 лимфоцитов у ВИЧ(+) пациентов в зависимости от типа, варианта и
170 субварианта ВЭБ. Для анализа отбирались субварианты, достаточно широко

⁴ URL: <http://www.rstudio.com/>.

171 представленные среди обследованных пациентов ($n \geq 3$). Использовали U-тест
172 Манна-Уитни. Рассчитанные значения «р» корректировали с применением
173 поправки Холма-Бонферрони для множественных сравнений. Различия
174 описывали с указанием Δ (ДИ: CI.l1 – CI.ul) и уровня статистической
175 значимости (р), где Δ – разница положений распределений, CI.l1 и CI.ul –
176 нижняя и верхняя границы 95%-ного доверительного интервала (ДИ) разницы.
177 Различия считали статистически значимыми при скорректированном $p < 0,05$.

178 3 Результаты исследований

179 На первом этапе исследования все полученные образцы
180 лейкоцитов крови тестировались с помощью количественной ПЦР-РВ. ДНК
181 ВЭБ была обнаружена у $70,3 \pm 3,9\%$ ВИЧ(+) пациентов, при этом вирусная
182 нагрузка составила $18 [5; 139]$ копий/ 10^5 клеток.

183 Последующий PCA-анализ позволил охарактеризовать зависимость
184 между вирусной нагрузкой ВЭБ, вирусной нагрузкой ВИЧ, количеством $CD4^+$
185 Т-лимфоцитов и приверженностью АРТ. При анализе всех ВИЧ(+) пациентов
186 удалось установить их распределение в координатах двух первых компонент,
187 суммарно объяснявших 79,5% дисперсии. Анализируемые переменные
188 вносили различный вклад в состав главных компонент (табл. 1).

189 Выявлено, что в отношении первой компоненты вклад вирусной
190 нагрузки ВЭБ сопоставим, но противопоставлен вкладу содержания $CD4^+$ Т-
191 лимфоцитов и приверженности терапии. В состав второй компоненты
192 основной вклад внесли такие переменные как вирусная нагрузка ВЭБ и
193 приверженность терапии, их вклад был сопоставим и однонаправлен.

194 Для оценки возможного значения главных компонент мы провели
195 визуальное наложение фактора вирусной нагрузки ВИЧ на точки
196 расположения ВИЧ(+) пациентов в координатах двух первых измерений (рис.
197 1).

198 На графике барицентры двух групп располагались на выраженном
199 удалении друг от друга в первом и третьем квадрантах. Исходя из этого можно
200 предположить, что ось первой компоненты в большей степени отражала

201 вирусную нагрузку ВИЧ у пациентов, в то время как ось второй компоненты
202 — их приверженность терапии. Интересно отметить, что параметр вирусной
203 нагрузки ВЭБ вносил равноценный вклад в формирование как первой, так и
204 второй главных компонент.

205 Кроме того, все исследованные нами переменные оказывали влияние на
206 риск определяемой вирусной нагрузки ВИЧ. Так у пациентов с низкой
207 приверженностью терапии, низким содержанием CD4⁺ Т-лимфоцитов и
208 высокой вирусной нагрузкой ВЭБ риск выявления РНК ВИЧ выше 58
209 копий/мл возрастал, и наоборот.

210 Для количественной оценки зависимости возможных факторов
211 группировки от переменных со значительным вкладом в состав первых двух
212 главных компонент была построена линейная модель:

213 $[HIV] = 516103 + 114*[EBV] - 339*[CD4^+_{abs}] - 331575 * ther.code (1/0),$

214 где [HIV] – вирусная нагрузка ВИЧ (копии/мл); [EBV] – вирусная
215 нагрузка ВЭБ (копии/10⁵ клеток); [CD4⁺_abs] – абсолютное количество CD4⁺
216 Т-лимфоцитов (клеток/мкл); ther.code (1/0) – высокая приверженность АРТ
217 (есть/нет).

218 Используя данную модель, показано, что вирусная нагрузка ВИЧ
219 увеличивалась на 114±58 копий/мл при повышении количества ДНК ВЭБ на 1
220 копию/10⁵ клеток (p=0,049) или на 339±165 копий/мл при снижении CD4⁺ Т-
221 лимфоцитов на одну клетку (p=0,042). Наоборот, концентрация РНК ВИЧ
222 значительно снижалась (на 331575±123452 копий/мл), если у пациентов была
223 высокая приверженность АРТ (p=0,008). Отметим, что небольшое значение
224 коэффициента R² при высоком уровне значимости (R²=0,156, p<0,001)
225 свидетельствует о том, что помимо исследованных нами переменных в
226 показатель вирусной нагрузки ВИЧ вносят вклад и другие факторы.

227 На следующем этапе работы нами осуществлен анализ взаимосвязи
228 молекулярно-генетических особенностей ВЭБ с уровнем вирусной нагрузки
229 ВИЧ, количеством CD4⁺ Т-лимфоцитов и степенью приверженности АРТ у

230 ВИЧ(+). Анализ проводили по трем направлениям: типы ВЭБ,
231 варианты и субварианты LMP-1 ВЭБ.

232 По результатам дифференциальной детекции ВЭБ-1 и ВЭБ-2 у ВИЧ(+)
233 пациентов была получена следующая типовая структура изолятов: ВЭБ-1 –
234 $88,2 \pm 3,4\%$, ВЭБ-2 – $5,4 \pm 2,3\%$, коинфекция ВЭБ-1+ВЭБ-2 – $6,4 \pm 2,6\%$. Также
235 определена штаммовая принадлежность полученных нижегородских изолятов
236 ВЭБ по классификации R. Edwards и соавт. [20]. Доминирующим вариантом
237 LMP-1 ВЭБ у ВИЧ(+) пациентов являлся *B95-8* ($62,2 \pm 5,4\%$), реже встречались
238 *NC* ($15,5 \pm 4,0\%$), *Med-* ($11,9 \pm 3,6\%$), *China 1* ($4,8 \pm 2,3\%$), *Alaskan* ($2,4 \pm 1,7\%$) и
239 рекомбинантные варианты *rec* ($2,4 \pm 1,7\%$).

240 Для изучения возможного влияния типа ВЭБ и варианта LMP-1 на
241 состояние ВИЧ-инфицированных, повторили процедуру ПСА-анализа для
242 пациентов с установленным типом ВЭБ и установленным вариантом LMP-1
243 (табл. 1 и рис. 2). В связи с выявленной ранее более высокой дивергентностью
244 последовательностей LMP-1 вариантов *Med-*, *NC*, *Alaskan* и *China 1*, пациенты
245 были сгруппированы по принципу «вариант *B95-8* — другие варианты» [6, 10].

246 Из таблицы 1 и рисунка 2 видно, что распределение пациентов с
247 охарактеризованным ВЭБ в координатах двух главных компонент было
248 сопоставимо таковому для всех ВИЧ(+) пациентов. Анализируемые
249 переменные вносили сопоставимый вклад в состав компонент. А именно, ось
250 первой компоненты в большей степени отражала вирусную нагрузку ВИЧ у
251 пациентов, ось второй компоненты — их приверженность терапии, параметр
252 вирусной нагрузки ВЭБ вносил равноценный вклад в формирование как
253 первой, так и второй главных компонент.

254 Выявлено расхождение барицентров групп пациентов в зависимости от
255 типа ВЭБ (рис. 2А) и/или варианта LMP-1 ВЭБ (рис. 2Б). При этом в обоих
256 случаях расхождение наблюдали вдоль вектора переменной вирусной нагрузки
257 ВЭБ. Можно предположить, что тип и вариант ВЭБ оказывают влияние на
258 вирусную нагрузку ВЭБ и, косвенно, на вирусную нагрузку ВИЧ у ВИЧ(+)
259 пациентов. Исходя из полученных данных, следует ожидать, что у ВИЧ(+)

260 пациентов с сопоставимым уровнем CD4⁺ Т-лимфоцитов и одинаковой
261 приверженностью АРТ вирусная нагрузка ВЭБ (а, следовательно, и вирусная
262 нагрузка ВИЧ) при коинфицировании обоими типами ВЭБ (ВЭБ-1+ВЭБ-2)
263 будет выше, а у пациентов, инфицированных ВЭБ-2, наоборот, ниже по
264 сравнению с теми, у кого выявлен ВЭБ-1. У пациентов с вариантом LMP-1 B95-
265 8 вирусная нагрузка ВЭБ (и ВИЧ) будет ожидаемо ниже по сравнению с
266 пациентами с иными вариантами вируса.

267 Последующий анализ с использованием классических методов
268 статистики не позволил получить статистически значимые различия уровня
269 вирусной нагрузки ВЭБ, вирусной нагрузки ВИЧ и количества CD4⁺ Т-
270 лимфоцитов между пациентами, инфицированными разными типами и
271 вариантами ВЭБ, как в группе ВИЧ(+) в целом, так и в разрезе отдельных
272 групп сравнения. Исходя из полученных данных, мы предполагали, что
273 выраженность клинико-лабораторных проявлений ВИЧ-инфекции может
274 быть обусловлена прочими генетическими особенностями ВЭБ, а именно
275 наличием повторов, делеций и аминокислотных замен в гене *LMP-1*,
276 обозначенных нами как субварианты.

277 Для подтверждения данной гипотезы среди всех выявленных в данном
278 исследовании молекулярно-генетических характеристик С-концевой области
279 LMP-1 ВЭБ отобрали те, которые были представлены у пациентов в
280 достаточном количестве (3 и более случаев) (табл. 2). По типовой
281 принадлежности все сгенерированные субварианты LMP-1 были
282 представлены только ВЭБ-1. Анализ выполнен дифференцированно в группах
283 G1, G2, G3 и G4, учитывая иммунный, АРТ-статус пациентов и их влияние на
284 анализируемые показатели (табл. 3).

285 В результате установлено, что существуют субварианты LMP-1 ВЭБ-1 с
286 определенными молекулярно-генетическими признаками (на уровне
287 аминокислотных замен), которые ассоциированы с изменением количества
288 РНК ВИЧ и ДНК ВЭБ по сравнению с пациентами, инфицированными
289 другими геновариантами (табл. 4).

290 Полученные данные свидетельствуют о том, что клинико-лабораторные
291 особенности ВЭБ+ВИЧ-коинфекции при инфицировании разными
292 субвариантами LMP-1 ВЭБ проявляются только у пациентов с выраженным
293 иммунодефицитом при количестве CD4⁺ Т-лимфоцитов <200 клеток/мкл
294 (группы G1 и G3). В группах ВИЧ(+) пациентов, у которых CD4⁺ Т-
295 лимфоциты были >500 клеток/мкл (G2 и G4) взаимосвязь анализируемых
296 клинико-лабораторных показателей с инфицирующим субвариантом LMP-1
297 ВЭБ не выявлена.

298 Установлено, что у «наивных» пациентов в группе G1 субвариант *S309N*
299 (был представлен в 100% последовательностей LMP-1 *China 1*, *Med-*, *NC*,
300 *Alaskan* и *rec*) был ассоциирован с более высокими значениями концентрации
301 РНК ВИЧ в плазме крови. Напротив, при инфицировании субвариантом
302 *E328Q* (установлен исключительно в изолятах *B95-8*) в этой же группе ВИЧ-
303 инфицированных были понижены уровни вирусной нагрузки ВИЧ по
304 сравнению с теми, у кого в последовательностях LMP-1 данная мутация
305 отсутствовала. Обнаружение субварианта *Q334R* (специфическая мутация для
306 вариантов LMP-1 *China 1* и *Med-*) характеризовалось значительно более
307 высокими уровнями вирусной нагрузки ВЭБ.

308 У «опытных» пациентов в группе G3 была выявлена связь отдельных
309 субвариантов только с вирусной нагрузкой ВЭБ. При этом уровни вирусной
310 нагрузки ВЭБ были ниже при инфицировании субвариантом *E328Q* и,
311 наоборот, выше, если выявлялся субвариант *H358P* (типичная
312 аминокислотная замена в штаммах *NC*). Дополнительно отметим, что именно
313 изоляты *NC* ВЭБ-1 из лейкоцитов крови ВИЧ(+) лиц продемонстрировали
314 наибольшую дивергентность С-концевой области LMP-1 по сравнению со
315 всеми другими вариантами. В последовательностях *NC* присутствовало в
316 среднем на 2, 5 и 9 мутаций больше, чем в вариантах *Med-*, *China 1* и *B95-8*
317 соответственно ($p < 0,01$ для каждого варианта сравнения).

318 4 Обсуждение результатов

319 В России исследования молекулярно-генетического разнообразия ВЭБ и
320 оценка его взаимосвязи с выраженностью клинико-лабораторных показателей
321 у ЛЖВ не проводились. За рубежом при изучении данного вопроса
322 анализировались только однородные группы пациентов, сформированные на
323 основе одного признака (количество CD4⁺ Т-лимфоцитов либо АРТ) [34-36,
324 40]. При этом основная часть исследований была посвящена оценке типов
325 вируса – ВЭБ-1 и ВЭБ-2. В нашей работе анализ данных выполнен комплексно
326 с учетом количества CD4⁺ Т-лимфоцитов, вирусной нагрузки ВИЧ,
327 применения и приверженности АРТ у пациентов, с одной стороны, и
328 молекулярно-генетических особенностей ВЭБ (типа ВЭБ, варианта и
329 субварианта LMP-1 данного вируса), с другой стороны.

330 Нами показано, что определяемый уровень вирусной нагрузки ВИЧ
331 возрастает у пациентов с низким содержанием CD4⁺ Т-лимфоцитов, высокой
332 вирусной нагрузкой ВЭБ, низкой приверженностью АРТ или в ее отсутствие.
333 Анализ коэффициентов линейной модели показал, что вирусная нагрузка ВЭБ
334 вносит хоть и меньший по отношению к содержанию CD4⁺ Т-лимфоцитов и
335 приверженности АРТ, но статистически значимый вклад в изменение
336 вирусной нагрузки ВИЧ. Положительная корреляция между вирусной
337 нагрузкой ВЭБ и ВИЧ и обратная корреляция их уровней с количеством CD4⁺
338 Т-лимфоцитов ранее была установлена в ряде зарубежных исследований [24,
339 28, 37]. Отметим, что количественная характеристика ВЭБ у ВИЧ-
340 инфицированных в контексте приверженности АРТ до сих пор не
341 проводилась.

342 В основе типирования ВЭБ-1 и ВЭБ-2 лежат различия
343 последовательностей генов *EBNA-2*, *EBNA-3A*, *EBNA-3B* и *EBNA-3C*. Данная
344 классификация ВЭБ используется уже в течение 40 лет. Современные работы
345 подтверждают четкое разделение вирусной популяции на два основных типа
346 [8, 49]. Известно, что доминирующим типом во всем мире является ВЭБ-1. Его
347 наибольшая распространенность отмечается в Европе, Азии, Северной и
348 Южной Америке [49]. Представлены первые сведения о том, что

349 преимущественно ВЭБ-1 обнаруживается и в России [6, 11]. ВЭБ-2 также
350 встречается повсеместно, но наиболее высокая частота выявления данного
351 типа ограничивается странами Африки к югу от Сахары и отдельными
352 группами населения, включая лиц с ВИЧ/СПИД [18, 38, 48]. Отмечается, что
353 ВЭБ-2 редко выявляется в общей европеоидной популяции, но стал
354 эндемичным в сообществе гомосексуальных мужчин [48]. По данным
355 зарубежных публикаций в популяции ЛЖВ преобладает ВЭБ-1, за ним следует
356 ВЭБ-2 и коинфекция обоими типами вируса [18, 24, 35, 43]. Полученные нами
357 результаты типовой структуры нижегородских изолятов ВЭБ у ВИЧ(+)
358 пациентов согласуются с этими представлениями.

359 Анализ взаимосвязи изучаемых клинико-лабораторных показателей с
360 выявленными типами ВЭБ у ВИЧ(+) пациентов на основе метода главных
361 компонент показал, что вирусная нагрузка ВЭБ и ВИЧ при ВЭБ-1+ВЭБ-2
362 коинфицировании выше, а у пациентов, инфицированных только ВЭБ-2, ниже
363 по сравнению с теми, у кого выявлен ВЭБ-1. Данные других исследователей
364 на этот счет неоднозначны. В ряде работ приводятся аналогичные результаты
365 [35, 38]. При этом в иммунологическом профиле пациентов инфицирование
366 ВЭБ-2 значительно чаще сопряжено с количеством CD4⁺ Т-лимфоцитов ≥ 500
367 клеток/мкл [40] и низкими уровнями цитокинов, особенно IFN- γ и IL-4 [35]. В
368 других публикациях, наоборот, при инфицировании ВЭБ-2 регистрировалась
369 более высокая вирусная нагрузка, чем при ВЭБ-1 и ВЭБ-1+ВЭБ-2
370 [43]. Вопрос, посвященный изучению биологических функций основных
371 типов ВЭБ у ЛЖВ, требует продолжения исследований. В том числе в
372 контексте последних данных о том, что ВЭБ-2, в отличие от ВЭБ-1, *in vitro* и
373 *in vivo* инфицирует не только В-клетки, но и Т-клетки [16, 17].

374 Молекулярно-генетическая характеристика других генов ВЭБ также
375 лежит в основе ряда классификаций вируса [8]. Однако у ВИЧ-
376 инфицированных лиц они применялись редко. Так исследователи
377 ограничились поиском отдельных CAO-подобных мутаций в гене *LMP-1*
378 (делеция 30 н.о./10 а.к. (а.к. 346–355) и большой размер области tandemных

повторов) в контексте изучения ВИЧ-ассоциированных лимфом [18, 24, 25, 29, 48]. Отметим, что использование наиболее популярной классификации по R. Edwards и соавт. [20] у ВИЧ-инфицированных было представлено только в одной публикации в 2023 году [43].

Полученный нами спектр штаммов LMP-1 ВЭБ у ВИЧ-инфицированных включал варианты *B95-8*, *China 1*, *Med-*, *NC* и *Alaskan*, а также варианты *rec* вне классификации R. Edwards и соавт. [20]. Ранее последовательности LMP-1, изолированные в других регионах России, в основном у здоровых людей и онкологических больных, были отнесены к вариантам *B95-8*, *China 1*, *Med+*, *Med-* и *NC* [4, 10]. Российскими учеными были обнаружены также варианты LMP-1 «вне классификации», в том числе уникальный среди изолятов этнических татар Поволжья «LMP1-Tat^K» [11]. Собственные результаты дополняют уже имеющиеся сведения о доминировании на территории Европейской части России варианта *B95-8* (62,2% нижегородских изолятов) [6, 10]. Напротив, в работе ученых из Китая штаммы LMP-1 *B95-8* не были обнаружены совсем, а преобладал вариант *China 1* (73,8%) и сопряженные с ним *CAO*-подобные мутации [43]. В настоящее время накоплено достаточно данных, свидетельствующих о взаимосвязи циркулирующих штаммов ВЭБ с определенным географическим положением или этнической принадлежностью. Однако ключевым вопросом остается оценка клинической значимости генетического разнообразия ВЭБ.

Анализ взаимосвязи изучаемых нами клинико-лабораторных показателей с выявленными вариантами LMP-1 ВЭБ на основе метода главных компонент показал, что при инфицировании пациентов вариантом LMP-1 *B95-8* вирусная нагрузка ВЭБ и ВИЧ была меньше по сравнению с другими вариантами LMP-1. В предыдущих исследованиях нами продемонстрировано, что у детей, инфицированных вирусом с молекулярно-генетическим профилем ВЭБ-1/*B95-8*, ВЭБ-ИМ протекал легче и с меньшей выраженностью синдрома интоксикации [7].

408 Мировой опыт свидетельствует о том, что многочисленные попытки
409 найти варианты ВЭБ высокого онкогенного риска или специфические для ИМ
410 и других ВЭБ-ассоциированных заболеваний при использовании
411 классификации R. Edwards и соавт. [20] были мало доказательными [4, 13, 41].
412 В то же время выход за рамки этой классификации в направлении поиска
413 новых генетических маркеров ВЭБ (не только анализ транслированных
414 аминокислотных замен в LMP-1, но и дополнительные характеристики этого
415 и других генов) позволил достичь определенных успехов. Относительно
416 недавно было показано, что высокий (32-кратный) риск развития рака
417 носоглотки на эндемичной территории юга Китая ассоциирован с
418 аминокислотными заменами в трех вирусных белках (BALF2 V317M, BNRF1
419 G696R, BNRF1 V1222I, RPMS1 D51E) [47]. Сербские ученые обнаружили, что
420 повышение печеночных трансаминаз (АЛТ и АСТ) у больных ИМ,
421 ассоциировалось с вариантами LMP-1 ВЭБ, в составе которых были
422 обнаружены 3 или 4 тандемных повтора [13]. В наших ранних исследованиях
423 было показано, что аминокислотные замены L338S и S229T в белке LMP-1
424 связаны с более тяжелым течением ВЭБ-ИМ у детей [7].

425 В данной работе нами также применен комплексный подход,
426 основанный на оценке широкого спектра выявленных мутаций (делеции,
427 количество и состав тандемных повторов, аминокислотные замены),
428 обозначенных нами как субварианты вируса. В результате установлены
429 субварианты LMP-1 ВЭБ на уровне аминокислотных замен (S309N, E328Q,
430 Q334R, H358P), которые ассоциированы с изменением количества РНК ВИЧ
431 и ДНК ВЭБ по сравнению с пациентами, инфицированными другими
432 вариантами и субвариантами вируса. При этом полученные результаты
433 указывают на то, что биологический потенциал этих мутаций реализуется в
434 условиях иммунодефицита (ВИЧ(+)) пациенты в группах G1 и G3), когда
435 вследствие истощения пула CD4⁺ Т-лимфоцитов ≤ 200 клеток/мкл ВИЧ-
436 инфекция приводит к потере иммунологического контроля над ВЭБ-
437 инфекцией [34, 40, 45].

438 Известно, что LMP-1 представляет собой онкогенный сигнальный белок,
439 экспрессирующийся как в латентном, так и литическом циклах [14, 33]. С-
440 терминальный цитоплазматический домен ответственен за индукцию
441 множества внутриклеточных сигнальных путей, включая NF- κ B, митоген-
442 активируемые белковые киназы JNK и p38, малую ГТФазу cdc42 и
443 JAK/AP1/STAT каскады. Кроме того, в В- и эпителиальных клетках белок
444 LMP-1 работает как гомолог семейства рецептора фактора некроза опухоли
445 (TNFR) [44]. Следовательно, мутантный белок LMP-1 может оказывать
446 влияние на нормальные клеточные процессы, изменяя результаты
447 канонических сигнальных путей, непосредственно вмешиваясь в их
448 реализацию. К настоящему времени лишь небольшая часть из описанных в
449 литературе аминокислотных замен в белке LMP-1 была функционально
450 охарактеризована.

451 Среди выявленных нами значимых субвариантов LMP-1
452 аминокислотная замена E328Q встречалась исключительно в изолятах B95-8
453 (с частотой до 100%). Выявление этого субварианта у ВИЧ(+) лиц было
454 связано с меньшей репликативной активностью ВИЧ (в группе G1) и ВЭБ (в
455 группах G1 и G3). Накоплены данные, что мутация E328Q преобладает в
456 российских изолятах LMP-1 B95-8 как у больных, так и здоровых лиц [4, 6, 10].
457 В других географических регионах она встречается редко [12, 13]. Следует
458 отметить, что в литературе описаны и другие аминокислотные замены в
459 позиции 328 белка LMP-1. Например, мутация E328A, которая характеризует
460 известный штамм LMP-1 CAO, первоначально выделенный из образцов
461 карциномы носоглотки у пациента из Китая [10, 25], или замена E328D,
462 обнаруженная в 41% образцов карциномы слюнных желез и носоглотки в
463 странах Юго-Восточной Азии [26]. При исследовании российских изолятов
464 ВЭБ с набором часто встречающихся мутаций (I85L, F106Y, E328Q, S366T)
465 было показано, что их функциональное значение проявляется в снижении
466 цитотоксичности и усилении трансформирующей активности белка LMP-1 [4,

467 39]. Однако данные, экспериментально подтверждающие биологическую роль
468 именно аминокислотной замены E328Q, пока отсутствуют.

469 Другой значимый субвариант *S309N* связан с группой всех остальных,
470 так называемых высокодивергентных вариантов LMP-1 ВЭБ (не *B95-8*). В
471 нашем исследовании он был ассоциирован с более высокими значениями
472 концентрации РНК ВИЧ в плазме крови пациентов группы G1. Несмотря на
473 то, что данная аминокислотная замена входит в перечень известных *CAO*-
474 подобных мутаций, о ее функциональном значении известно мало. Только в
475 ранних публикациях приводятся свидетельства того, что замена серина в
476 положениях 309, 311, 313, как основных сайтов фосфорилирования в
477 интактном LMP-1, может приводить к изменению биологической функции
478 этого белка [30].

479 Субвариант *Q334R* (специфическая мутация для вариантов LMP-1 *China*
480 *I* и *Med*-) характеризовал значительно более высокие уровни вирусной
481 нагрузки ВЭБ у ВИЧ(+) пациентов в группе G1. Замена Q334R также известна
482 как *CAO*-мутация. Установлено, что в белке LMP-1 она находится в сайте
483 распознавания Т-лимфоцитов молекулой HLA I класса A24. Так в
484 последовательностях LMP-1 ВЭБ, установленных из образцов опухолей
485 носоглотки, были охарактеризованы мутации в эпитопах связывания
486 цитотоксических Т-лимфоцитов, в частности KGGRDGPPS (штаммы *China I*
487 и *Med*-) в координатах а.к. 330-338, которые по сравнению с KGGDQGPPPL
488 (штамм *B95-8*) препятствуют презентации LMP-1 в составе HLA I класса, что
489 приводит к снижению эффективности распознавания таких белков клетками
490 иммунной системы [21].

491 Уровни вирусной нагрузки ВЭБ в группе G3 были также выше, если
492 выявлялся субвариант *H358P*. Хотя это достаточно распространенная
493 типичная аминокислотная замена в штаммах *NC*, ее функциональная роль
494 остается неизученной [6, 10]. Мутация находится в координатах одного из *S*-
495 концевых активирующих доменов LMP-1 – STAR2 (а.к. 351-386), который
496 является основным активатором NF-κB посредством TRAF2 и TRAF6

497 (канонический путь), участвуя в регуляции множества клеточных процессов,
498 включая пролиферацию, дифференцировку и апоптоз клеток [15]. Кроме того,
499 предполагается, что указанная замена может приводить к нарушению
500 способности LMP-1 связывать HOS белки, что приводит к повышению его
501 концентрации в клетке [10].

502 Для выяснения функциональной роли выявленных мутаций LMP-1
503 необходимо продолжение экспериментальных работ *in vitro* и *in vivo*.

504 5 Заключение

505 Впервые в России выявлены особенности клинико-лабораторных
506 показателей ВЭБ+ВИЧ-коинфекции при инфицировании разными
507 субвариантами LMP-1 (на уровне аминокислотных замен). Коинфекция ВЭБ-
508 1/LMP-1(S309N)+ВИЧ у «наивных» пациентов с тяжелым иммунодефицитом
509 протекала с более высокой, а ВЭБ-1/LMP-1(E328Q)+ВИЧ с наименьшей
510 вирусной нагрузкой ВИЧ. При этом наиболее высокие значения концентрации
511 ДНК ВЭБ у этих пациентов наблюдались при коинфекции ВЭБ-1/LMP-
512 1(Q334R)+ВИЧ. Субварианты ВЭБ-1/LMP-1(E328Q) и ВЭБ-1/LMP-1(H358P)
513 в группе «опытных» пациентов с тяжелым иммунодефицитом на фоне
514 проводимой АРТ (в течение 3-х лет и более) и, следовательно, низкой или
515 неопределяемой вирусной нагрузкой ВИЧ были ассоциированы с вирусной
516 нагрузкой ВЭБ. При этом уровень ДНК ВЭБ в лейкоцитах крови был
517 значительно ниже при инфицировании вирусом с молекулярно-генетическим
518 профилем ВЭБ-1/LMP-1(E328Q) и, наоборот, выше, в случае профиля ВЭБ-
519 1/LMP-1(H358P).

520 На наш взгляд, важным аспектом является дальнейшее изучение
521 функциональных свойств именно этих мутаций. В контексте решаемых в
522 данном исследовании задач необходимо проведение более масштабных и
523 системных исследований на разных территориях РФ с участием профильных
524 специалистов научного и врачебного сообществ.

ТАБЛИЦЫ

Таблица 1. Корреляция анализируемых переменных и осей компонент.

Table 1. The correlation between analyzed variables and component axes.

Характеристика группы ВИЧ(+) HIV(+) group characteristics	n	Анализируемые переменные Analyzed variables	ГК 1 PC 1	ГК 2 PC 2
Всего Total	138	Приверженность к терапии Adherence to ART	0,57	0,62
		CD4 ⁺ Т-лимфоциты, клеток/мкл CD4 ⁺ T-lymphocytes, cells/ μ l	0,64	0,09
		ДНК ВЭБ, *10 ⁵ копий/10 ⁵ клеток EBV DNA, *10 ⁵ copies/10 ⁵ cells	-0,52	0,78
С установленным типом ВЭБ With verified EBV type	97	Приверженность АРТ Adherence to ART	0,53	0,75
		CD4 ⁺ Т-лимфоциты, клеток/мкл CD4 ⁺ T-lymphocytes, cells/ μ l	0,64	-0,05
		ДНК ВЭБ, *10 ⁵ копий/10 ⁵ клеток EBV DNA, *10 ⁵ copies/10 ⁵ cells	-0,56	0,66
С установленным вариантом LMP-1 ВЭБ With verified EBV LMP-1 variant	82	Приверженность АРТ Adherence to ART	0,55	0,74
		CD4 ⁺ Т-лимфоциты, клеток/мкл CD4 ⁺ T-lymphocytes, cells/ μ l	0,62	-0,04
		ДНК ВЭБ, *10 ⁵ копий/10 ⁵ клеток EBV DNA, *10 ⁵ copies/10 ⁵ cells	-0,56	0,67

Таблица 2. Проанализированные субварианты LMP-1 ВЭБ.

Table 2. Analyzed EBV LMP-1 subvariants.

Субвариант LMP-1 ВЭБ EBV LMP-1 subvariant	Частота среди всех изолятов ВЭБ Frequency among all EBV isolates	Частота среди выявленных вариантов LMP-1 ВЭБ Frequency among identified EBV LMP-1 variants
345_del10_354	4/82	<i>China 1</i> (4/4)
4*[PQDPDNTDDNG] 2*[PHDPL]	43/82	<i>B95-8</i> (43/51)
3*[PQDPDNTDDNG] 2*[PQGPDNTDDNG] 1*[PHDPL]	3/82	<i>Med-</i> (3/10)
3*[PQDPDNTDDNG] 1*[PHDPQ]	7/82	<i>NC</i> (7/13)
4*[PQDPDNTDDNG] 1*[PHDPQ]	4/82	<i>NC</i> (3/13), <i>rec</i> (1/2)
G212S	72/82	<i>Alaskan</i> (2/2), <i>B95-8</i> (47/51), <i>China 1</i> (3/4), <i>Med-</i> (10/10), <i>NC</i> (9/13), <i>rec</i> (1/2)
D216H	3/82	<i>B95-8</i> (2/51), <i>China 1</i> (1/4)
S229T	11/82	<i>B95-8</i> (1/51), <i>Med-</i> (10/10)
D250N	13/82	<i>NC</i> (13/13)
G252A	5/82	<i>Med-</i> (3/10), <i>rec</i> (2/2)
L306Q	14/82	<i>NC</i> (13/13), <i>rec</i> (1/2)
S309N	31/82	<i>Alaskan</i> (2/2), <i>China 1</i> (4/4), <i>Med-</i> (10/10), <i>NC</i> (13/13), <i>rec</i> (2/2)
S313P	14/82	<i>B95-8</i> (1/51), <i>NC</i> (13/13)
Q322E	10/82	<i>Med-</i> (9/10), <i>rec</i> (1/2)
Q322N	4/82	<i>China 1</i> (4/4)
Q322T	14/82	<i>Alaskan</i> (2/2), <i>NC</i> (12/13)
E328Q	48/82	<i>B95-8</i> (48/51)
G331Q	11/82	<i>NC</i> (11/11)
Q334R	15/82	<i>China 1</i> (4/4), <i>Med-</i> (9/10), <i>rec</i> (2/2)
G335D	3/82	<i>NC</i> (3/13)
L338P	14/82	<i>Alaskan</i> (2/2), <i>NC</i> (12/13)
L338S	11/82	<i>China 1</i> (2/4), <i>Med-</i> (8/10), <i>rec</i> (1/2)
D349A	3/82	<i>Med-</i> (2/10), <i>rec</i> (1/2)
H352N	11/82	<i>NC</i> (11/11)
H352R	12/82	<i>B95-8</i> (1/51), <i>Med-</i> (9/10), <i>rec</i> (2/2)

G355C	3/82	<i>B95-8 (1/51), China 1 (1/4), rec (1/2)</i>
H358P	13/82	<i>Med- (1/10), NC (12/13)</i>
S366T	73/82	<i>Alaskan (2/2), B95-8 (46/51), China 1 (4/4), Med- (8/10), NC (11/13), rec (2/2)</i>
D372N	4/82	<i>B95-8 (4/51)</i>

Таблица 3. Клинико-лабораторные показатели в группах ВИЧ(+) пациентов.

Table 3. Clinical and laboratory parameters in HIV(+) patient groups.

Показатель Parameter		Группа Group				
		G1 (n=30)	G2 (n=20)	G3 (n=43)	G4 (n=45)	Всего Total (n=138)
Возраст Age	лет years	41 [37; 46]	34 [29; 37]	40 [38; 46]	37 [32; 42]	38 [33; 44]
	Ж / F., n (%)	12 (40,0)	8 (40,0)	19 (44,2)	26 (57,8)	65 (47,1)
Пол Sex	М., n (%)	18 (60,0)	12 (60,0)	24 (55,8)	19 (42,2)	73 (52,9)
	отн., в % rel., in %	4,8 [2,0; 10,4]	34,9 [30,8; 37,9]	9,1 [6,0; 13,2]	33,8 [27,1; 39,9]	19,6 [7,4; 33,7]
CD4 ⁺ Т-лимфоциты CD4 ⁺ T-lymphocytes	клеток/мкл cells/ μ l	52 [16; 142]	628 [525; 787]	127 [89; 159]	658 [558; 910]	260 [100; 605]
	копий/мл copies/ml	270000 [43250; 660000]	7300 [2825; 18250]	1200 [58; 250000]	58 [58; 83]	1200 [58; 142500]
РНК ВИЧ HIV RNA	Р \pm ср, %	86,7 \pm 6,2	70,0 \pm 10,3	81,4 \pm 5,9	48,9 \pm 7,4	70,3 \pm 3,9
	копий/10 ⁵ клеток copies/10 ⁵ cells	121 [34; 252]	6 [1; 9]	54 [8; 212]	9 [2; 14]	18 [5; 139]
ДНК ВЭБ EBV DNA	Z, n (%)	30 (100)	20 (100)	0	0	50 (36,2)
	L, n (%)	0	0	23 (53,5)	5 (11,1)	28 (20,3)
	M, n (%)	0	0	1 (2,3)	4 (8,9)	5 (3,6)
	H, n (%)	0	0	19 (44,2)	36 (80,0)	55 (39,9)

Таблица 4. Различия показателей количества CD4⁺ Т-лимфоцитов и вирусной нагрузки ВЭБ и ВИЧ при инфицировании ВЭБ с разными молекулярно-генетическими характеристиками LMP-1.

Table 4. Differences in CD4⁺ T-lymphocyte counts and EBV and HIV viral load during infection with EBV with different LMP-1 molecular genetic characteristics.

Субвариант LMP-1 ВЭБ EBV LMP-1 subvariant	Группа Group	Показатель Indicator	Ед. измерения Units	Δ (95% ДИ), (нет-есть) Δ (95% CI), (absent-present)	скорр. p adj. p
S309N	G1	РНК ВИЧ HIV RNA	копии/мл copies/ml	-443278 (-135000 – -50000)	0,049
E328Q	G1	РНК ВИЧ HIV RNA	копии/мл copies/ml	441777 (50000–1350000)	0,049
Q334R	G1	ДНК ВЭБ EBV DNA	копии/10 ⁵ клеток copies/10 ⁵ cells	-460 (-11089– -15)	0,049
E328Q	G3	ДНК ВЭБ EBV DNA	копии/10 ⁵ клеток copies/10 ⁵ cells	107 (1–875)	0,049
H358P	G3	ДНК ВЭБ EBV DNA	копии/10 ⁵ клеток copies/10 ⁵ cells	-872 (-1031– -16)	0,049

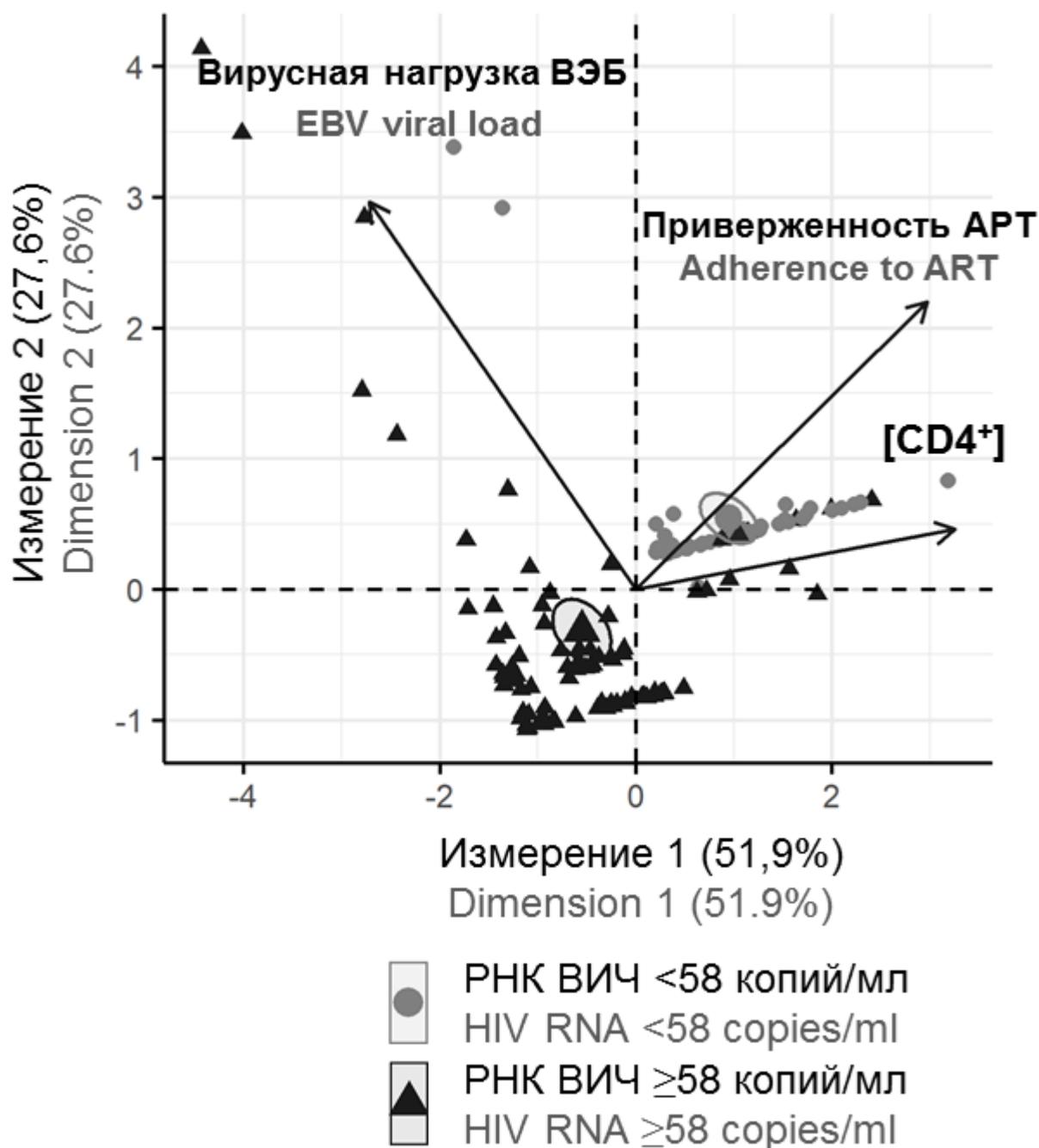
Примечание: В таблице приведены только выявленные статистически значимые различия (скорректированный p<0,05).

Note: Significant differences are presented (adjusted p<0.05).

РИСУНКИ

Рисунок 1. Расположение точек ВИЧ(+) пациентов в координатах двух первых главных компонент с визуальным наложением фактора выявления РНК ВИЧ выше или ниже определяемого уровня.

Figure 1. Location of HIV(+) patient points in the coordinates of the first two principal components with a visual overlay of the HIV RNA detection factor above or below the detectable level.

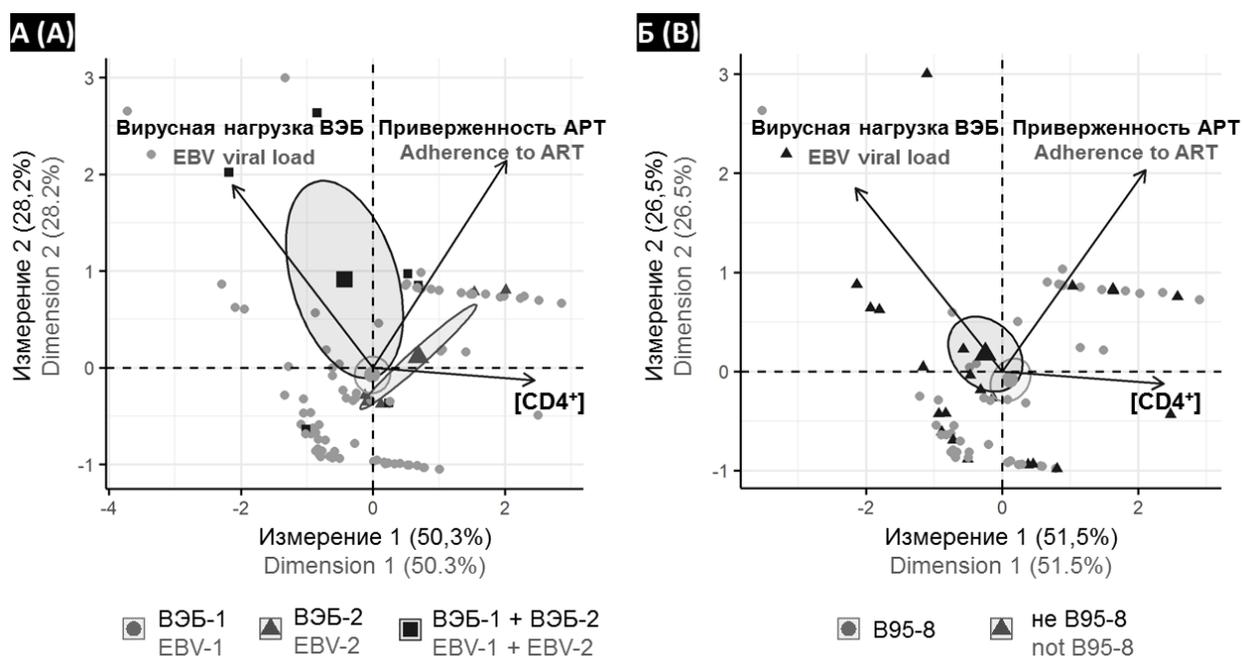


Примечание: Эллипс отображает 95%-ный доверительный интервал расположения барицентра групп. Стрелками обозначены вектора изученных переменных.

Note: The ellipse displays the 95% confidence interval of the barycenter location of the groups. The arrows indicate the vectors of the studied variables.

Рисунок 2. Расположение точек ВИЧ(+) пациентов в координатах двух первых главных компонент с визуальным наложением фактора: А - типа ВЭБ, Б - варианта LMP-1 ВЭБ.

Figure 2. Location of HIV(+) patient points in the coordinates of the first two principal components with visual overlay of the factor: A - EBV type, B - EBV LMP-1 variant.



Примечание: Эллипс отображает 95%-ный доверительный интервал расположения барицентра групп. Стрелками обозначены вектора изученных переменных.

Note: The ellipse displays the 95% confidence interval of the barycenter location of the groups. The arrows indicate the vectors of the studied variables.

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, Нижний Новгород, ул. Малая Ямская, д. 71;

телефон: 8(831)69-79-46, моб. / 8(906)352-60-15;

факс: 8(831)469-79-20;

e-mail: popmarig@mail.ru

Popkova Mariia 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, Nizhny Novgorod, Malaya Yamskaya st., 71;

telephone: 8(831)469-79-46 / 8(906)352-60-15;

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

e-mail: popmarig@mail.ru

Блок 2. Информация об авторах

Попкова М.И., 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;

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;

ORCID: 0000-0001-5864-5862;

e-mail: popmarig@mail.ru

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

ОЦЕНКА ВЗАИМОСВЯЗИ ОСНОВНЫХ ТИПОВ И ГЕНОВАРИАНТОВ
ВИРУСА ЭПШТЕЙНА-БАРР С КЛИНИКО-ЛАБОРАТОРНЫМИ
ПОКАЗАТЕЛЯМИ У ВИЧ-ИНФИЦИРОВАННЫХ ВЗРОСЛЫХ

ASSESSMENT OF THE RELATIONSHIP BETWEEN THE MAIN TYPES AND
GENOVARIANTS OF THE EPSTEIN-BARR VIRUS AND CLINICAL AND
LABORATORY PARAMETERS IN HIV-INFECTED ADULTS

Сокращенное название статьи для верхнего колонтитула:

КЛИНИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ LMP-1 ВЭБ
EBV LMP-1 CLINICAL SIGNIFICANCE

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

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

Оригинальная статья.

Количество страниц текста – 19, количество таблиц – 4, количество рисунков
– 2.

18.03.2024.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

Порядковый номер ссылки	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	Викулов Г.Х., Орадовская И.В., Колобухина Л.В., Русанова С.А., Антипят Н.А., Тюрин И.Н. Герпесвирусные инфекции и ВИЧ (диагностика и клинические особенности) // Врач. 2023. Т. 34, № 12. С. 91–97.	Vikulov G., Oradovskaya I., Kolobukhina L., Rusanova S., Antipyat N., Tyurin I. Herpesvirus infections and HIV (diagnosis and clinical features). Vrach, 2023, vol. 34, no. 12, pp. 91–97. (In Russ.)	URL: https://journals.eco-vector.com/0236-3054/article/view/625625/ru_RU [doi: 10.29296/25877305-2023-12-19]

2	Давидович Г.М., Карпов И.А. Клиническое течение вирусной инфекции Эпштейн-Барр у пациентов с ВИЧ // Рецепт. 2007. № 4 (54). С. 115–117.	Davidovich G.M., Karpov I.A. Clinical course of Epstein-Barr viral infection in patients with HIV. Retsept=Recipe, 2007, no. 4, pp. 115–117. (In Russ.)	URL: https://elibrary.ru/download/elibrary_20134387_39734170.pdf
3	Мартынова Г.П., Кузнецова Н.Ф., Мазанкова Л.Н., Шарипова Е.В. Клинические рекомендации (протокол лечения) оказания медицинской помощи детям больным инфекционным мононуклеозом. 2013. 70 с.	Martynova G.P., Kuznetsova N.F., Mazankova L.N., Sharipova E.V. Clinical recommendations (treatment protocol) for providing medical care to children with infectious mononucleosis. 2013. 70 p. (In Russ.)	URL: http://niidi.ru/dotAsset/a6816d03-b0d9-4d37-9b09-540f48e3ed43.pdf6
4	Павлиш О.А., Дидук С.В., Смирнова К.В., Щербак Л.Н., Гончарова Е.В., Шалгинских Н.А., Архипов В.В., Кичигина М.И., Степина В.Н., Белоусова Н.В., Османов Е.А., Яковлева Л.С., Гурцевич В.Э.	Pavlish OA, Diduk SV, Smirnova KV, Shcherbak LN, Goncharova EV, Shalginskikh NA, Arkhipov VV, Kichigina MIu, Stepina VN, Belousova NV, Osmanov EA, Iakovleva LS, Gurtsevich VE. Mutations of the	URL: https://api.semanticscholar.org/CorpusID:221022366

	<p>Мутации гена LMP1 вируса Эпштейна-Барра у российских больных с лимфоидной патологией и здоровых лиц // Вопросы вирусологии. 2008. Т. 53, № 1. С. 10–16.</p>	<p>Epstein-Barr virus LMP1 gene mutations in Russian patients with lymphoid pathology and healthy individuals. Voprosy virusologii = Problems of Virology, 2008, vol. 53, no. 1, pp. 10–16. (In Russ.)</p>	
5	<p>Попкова М.И., Уткин О.В., Соболева Е.А., Сахарнов Н.А., Брызгалова Д.А., Сенатская А.О., Кулова Е.А. Методические основы дифференциальной детекции ВЭБ1/ВЭБ2 и ВГЧ6А/ВГЧ6В // Инфекция и иммунитет. 2021. Т. 11, №6. С. 1057–1066.</p>	<p>Popkova M.I., Utkin O.V., Soboleva E.A., Sakharnov N.A., Bryzgalova D.A., Senatskaia A.O., Kulova E.A. Methodological basics for differential detection of EBV1/EBV2 and HHV6A/HHV6B. Russian Journal of Infection and Immunity, 2021, vol. 11, no. 6, pp. 1057–1066. (In Russ.)</p>	<p>URL: https://iimmun.ru/iimm/article/view/1661 [doi: 10.15789/2220-7619-MBF-1661]</p>
6	<p>Попкова М.И., Уткин О.В., Брызгалова Д.А., Сахарнов Н.А., Соболева Е.А., Кулова Е.А. Молекулярно-генетическая характеристика</p>	<p>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</p>	<p>URL: https://iimmun.ru/iimm/article/view/2056</p>

	нижегородских изолятов вируса Эпштейна–Барр у детей при инфекционном мононуклеозе и здоровом вирусоносительстве // Инфекция и иммунитет. 2023. Т. 13, №2. С. 275–288.	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.)	[doi: 10.15789/2220-7619-MAG-2056]
7	Попкова М.И., Уткин О.В., Филатова Е.Н., Брызгалова Д.А., Сахарнов Н.А., Соболева Е.А., Назарова Л.В. Молекулярно-генетическая характеристика вируса Эпштейна–Барр: взаимосвязь с клиническими особенностями инфекционного мононуклеоза у детей // Инфекция и иммунитет. 2023. Т. 13, №3. С. 481–496.	Popkova M.I., Utkin O.V., Filatova E.N., Bryzgalova D.A., Sakharnov N.A., Soboleva E.A., Nazarova L.V. Molecular genetic characterization of the Epstein–Barr Virus: a relationship with the clinical features of pediatric infectious mononucleosis. Russian Journal of Infection and Immunity, 2023, vol. 13, no. 3, pp. 481–496. (In Russ.)	URL: https://iimmun.ru/iimm/article/view/2121 [doi: 10.15789/2220-7619-MGC-2121]

8	<p>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.</p>	<p>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.)</p>	<p>URL: https://microbiol.crie.ru/jour/article/view/1181 [doi: 10.36233/0372-9311-228]</p>
9	<p>Рассохин В.В., Некрасова А.В., Байков В.В., Ильин Н.В., Виноградова Ю.Н. Эпидемиология, диагностика и лечение ВИЧ-ассоциированных неходжкинских лимфом // ВИЧ-инфекция и иммуносупрессии. 2018. Т. 10, № 3. С. 17–29.</p>	<p>Rassokhin V.V., Nekrasova A.V., Baikov V.V., Ilyin N.V., Vinogradova Yu.N. Epidemiology, diagnosis, and treatment of HIV-associated non-hodgkin lymphomas. HIV Infection and Immunosuppressive Disorders, 2018, vol. 10, no. 3, pp. 17–29. (In Russ.)</p>	<p>URL: https://hiv.bmoc-spb.ru/jour/article/view/365 [doi: 10.22328/2077-9828-2018-10-3-17-29]</p>
10	<p>Смирнова К.В., Дидук С.В., Гурцевич В.Э. Полиморфизм онкогена LMP1 вируса Эпштейна-Барр у</p>	<p>Smirnova K.V., Diduk S.V., Gurtsevitch V.E. Polymorphism of Epstein-Barr virus LMP1 oncogene in</p>	<p>URL: https://rjeid.com/1560-9529/article/view/409929.</p>

	представителей коренного малочисленного народа Дальнего Востока России // Эпидемиология и инфекционные болезни. 2017. Т. 22, № 5. С. 239–247.	nanaians, representatives of indigenous minority of the russian Far East. Epidemiology and Infectious Diseases, 2017, vol. 22, no. 5, pp. 239–247. (In Russ.)	[doi: 10.18821/1560-9529-2017-22-5-239-247]
11	Смирнова К.В., Сенюта 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.)	URL: https://virusjour.crie.ru/jour/article/view/282 [doi: 10.36233/0507-4088-2020-65-2-77-86]
12	Arturo-Terranova D., Giraldo-Ocampo S., Castillo A. Molecular characterization of Epstein-Barr virus variants detected in the oral cavity of adolescents in Cali,	---	URL: https://revistabiomedica.org/index.php/biomedica/article/view/4917 [doi: 10.7705/biomedica.4917]

	Colombia. Biomedica, 2020, vol. 40, supl. 1, pp. 76–88.		
13	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 Infectious Mononucleosis: Investigation of the Potential Correlation with Biochemical Parameters of Hepatic Involvement. J. Med. Biochem., 2016, vol. 35, no. 3, pp. 337–346.	---	URL: https://scindeks.ceon.rs/article.aspx?artid=1452-82581603337B [doi: 10.1515/jomb-2015-0021]
14	Caves E.A., Butch R.M., Cook S.A., Wasil L.R., Chen C., Di Y.P., Lee N., Shair K.H.Y. Latent Membrane Protein 1 Is a Novel Determinant of Epstein-Barr Virus Genome Persistence and Reactivation. mSphere, 2017, vol. 2, no. 6, pp. e00453-17.	---	URL: https://journals.asm.org/doi/10.1128/mspheredirect.00453-17 [doi: 10.1128/mSphereDirect.00453-17]

15	Cheerathodi M.R., Meckes D.G.Jr. The Epstein-Barr virus LMP1 interactome: biological implications and therapeutic targets. <i>Future Virol.</i> , 2018, vol. 13, no. 12, pp. 863–887.	---	URL: https://www.futuremedicine.com/doi/10.2217/fvl-2018-0120 [doi: 10.2217/fvl-2018-0120]
16	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. <i>J. Infect. Dis.</i> , 2017, vol. 216, no. 6, pp. 670–677.	---	URL: https://academic.oup.com/jid/article/216/6/670/4037410 [doi: 10.1093/infdis/jix363]
17	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.	---	URL: https://journals.asm.org/doi/10.1128/jvi.00813-18?url_ver=Z39.88-2003&rfr_id=ori%3Arid%3Acrossref.org&rfr_dat=cr_pub++0pubmed [doi: 10.1128/JVI.00813-18]

	J. Virol., 2018, vol. 92, no. 21, p. e00813-18.		
18	Correa R.M., Fellner M.D., Durand K., Redini L., Alonio V., Yampolsky C., Colobraro A., Sevelever G., Teysssié A., Benetucci J., Picconi M.A. Barr virus genotypes and LMP-1 variants in HIV-infected patients. J. Med. Virol., 2007, vol. 79, no. 4, pp. 401–407.	---	URL: https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/jmv.20782 [doi: 10.1002/jmv.20782]
19	Dandachi D., Morón F. Effects of HIV on the Tumor Microenvironment. Adv. Exp. Med. Biol., 2020, vol. 1263, pp. 45–54.	---	URL: https://link.springer.com/chapter/10.1007/978-3-030-44518-8_4 [doi: 10.1007/978-3-030-44518-8_4]
20	Edwards R.H., Seillier-Moiseiwitsch F., Raab-Traub N. Signature amino acid changes in latent membrane protein 1	---	URL: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0042682299998550?via%3Dihub

	distinguish Epstein-Barr virus strains. <i>Virology</i> , 1999, vol. 261, pp. 79–95.		[doi: 10.1006/viro.1999.9855]
21	Edwards R.H., Sitki-Green D., Moore D.T., Raab-Traub N. Potential selection of LMP1 variants in nasopharyngeal carcinoma. <i>J. Virol.</i> , 2004, vol. 78, no. 2, pp. 868-881.	---	URL: https://journals.asm.org/doi/10.1128/jvi.78.2.868-881.2004 [doi: 10.1128/jvi.78.2.868-881.2004]
22	Gärtner B.C., Kortmann K., Schäfer M., Mueller-Lantzsch N., Sester U., Kaul H., Pees H. No correlation in Epstein-Barr virus reactivation between serological parameters and viral load. <i>J. Clin. Microbiol.</i> , 2000, vol. 38, no. 6, p. 2458.	---	URL: https://journals.asm.org/doi/10.1128/jcm.38.6.2458-2458.2000 [doi: 10.1128/JCM.38.6.2458-2458.2000]
23	Gianella S., Massanella M., Wertheim J.O., Smith D.M. The Sordid Affair Between Human Herpesvirus and HIV. <i>J. Infect. Dis.</i> , 2015, vol. 212, no. 6, pp. 845–852.	---	URL: https://academic.oup.com/jid/article/212/6/845/984770 [doi: 10.1093/infdis/jiv148]

24	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. <i>J. Med. Virol.</i> , 2013, vol. 85, no. 12, pp. 2110–2118.	---	URL: https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/jmv.23722 [doi: 10.1002/jmv.23722]
25	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 nasopharyngeal carcinoma. <i>J. Gen. Virol.</i> , 1991, vol. 72, no. 1, pp. 2399–2409.	---	URL: https://www.microbiologyresearch.org/content/journal/jgv/10.1099/0022-1317-72-10-2399#tab2 [doi: 10.1099/0022-1317-72-10-2399]

26	Jen K.Y., Higuchi M., Cheng J., Li J., Wu L.Y., Li Y.F., Lin H.L., Chen Z., Gurtsevitch V., Fujii M., Saku T. Nucleotide sequences and functions of the Epstein-Barr virus latent membrane protein 1 genes isolated from salivary gland lymphoepithelial carcinomas. <i>Virus Genes</i> , 2005, vol. 3, no. 2, pp. 223–235.	---	URL: https://link.springer.com/article/10.1007/s11262-004-5630-5 [doi: 10.1007/s11262-004-5630-5]
27	Lang F., Pei Y., Lamplugh Z.L., Robertson E.S. Molecular Biology of EBV in Relationship to HIV/AIDS-Associated Oncogenesis. <i>Cancer Treat. Res.</i> , 2019, vol. 177, pp. 81–103.	---	URL: https://link.springer.com/chapter/10.1007/978-3-030-03502-0_4 [doi: 10.1007/978-3-030-03502-0_4]
28	Lupo J., Germi R., Lancar R., Algarte-Genin M., Hendel-Chavez H., Taoufik	---	URL: https://journals.lww.com/aidsonl

	<p>Y., Mounier N., Partisani M., Bonnet F., Meyohas M.C., Marchou B., Filippova A., Prevot S., Costagliola D., Morand P., Besson C. Prospective evaluation of blood Epstein-Barr virus DNA load and antibody profile in HIV-related non-Hodgkin lymphomas. AIDS, 2021, vol. 35, no. 6, pp. 861–868.</p>		<p>ine/abstract/2021/05010/prospect ive_evaluation_of_blood_epstein _barr_virus.2.aspx [doi:10.1097/QAD.000000000000 02839]</p>
--	---	--	---

29	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. J. Infect., 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]
30	Moorthy R.K., Thorley-Lawson D.A. Biochemical, genetic, and functional analyses of the phosphorylation sites on the Epstein-Barr virus-encoded oncogenic latent membrane protein LMP-	---	URL: https://journals.asm.org/doi/10.1128/jvi.67.5.2637-2645.1993?url_ver=Z39.88-2003&rfr_id=ori%3Arid%3Acrossref.org&rfr_dat=cr_pub++0pubmed

	1. J. Virol., 1993, vol. 67, no. 5, pp. 2637-2645.		[doi: 10.1128/JVI.67.5.2637-2645.1993]
31	Mujtaba S., Varma S., Sehgal S. Coinfection with epstein barr virus in north Indian patients with HIV/AIDS. Indian. J. Pathol. Microbiol., 2005, vol. 48, no. 3, pp. 349–353.	---	URL: https://api.semanticscholar.org/CorpusID:44435280
32	Musukuma-Chifulo K., Siddiqi O.K., Chilyabanyama O.N., Bates M., Chisenga C.C., Simuyandi M., Sinkala E., Dang X., Korálnik I.J., Chilengi R., Munsaka S. Epstein-Barr Virus Detection in the Central Nervous System of HIV-Infected Patients. Pathogens, 2022, vol. 11, no. 10, p. 1080.	---	URL: https://www.mdpi.com/2076-0817/11/10/1080 [doi: 10.3390/pathogens11101080]

33	Nawandar D.M., Ohashi M., Djavadian R., Barlow E., Makielski K., Ali A., Lee D., Lambert P.F., Johannsen E., Kenney S.C. Differentiation-Dependent LMP1 Expression Is Required for Efficient Lytic Epstein-Barr Virus Reactivation in Epithelial Cells. J. Virol., 2017, vol. 91, no. 8, pp. e02438-16.	---	URL: https://journals.asm.org/doi/10.1128/jvi.02438-16?url_ver=Z39.88-2003&rfr_id=ori%3Arid%3Acrossref.org&rfr_dat=cr_pub++0pubmed [doi: 10.1128/JVI.02438-16]
34	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 in the Brazilian Amazon region. Sci. Rep., 2021, vol. 11, no. 1, p. 18476.	---	URL: https://www.nature.com/articles/s41598-021-97707-4#change-history [doi: 10.1038/s41598-021-97707-4]

35	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]
36	Petrara M.R., Penazzato M., Massavon W., Nabachwa S., Nannyonga M., Mazza A., Gianesin 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	---	URL: https://academic.oup.com/jid/article/210/3/392/2908531?login=false [doi: 10.1093/infdis/jiu099]

	Uganda. J. Infect. Dis., 2014, vol. 210, no. 3, pp. 392–399.		
37	Sachithanandham J., Kannangai R., Pulimood S.A., Desai A., Abraham A.M., Abraham O.C., Ravi V., Samuel P., Sridharan G. Significance of Epstein-Barr virus (HHV-4) and CMV (HHV-5) infection among subtype-C human immunodeficiency virus-infected individuals. Indian J. Med. Microbiol., 2014, vol. 32, no. 3, pp. 261–269.	---	URL: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S025508572100431X?via%3Dihub [doi: 10.4103/0255-0857.136558]
38	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]

39	Smirnova K.V., Diduk S.V., Gurtsevitch V.E. The functional analysis of Epstein-Barr virus latent membrane proteins (LMP1) in patients with lymphoproliferative disorders. Biochem. Moscow Suppl. Ser. B, 2010, vol. 4, pp. 386–394.	---	URL: https://link.springer.com/article/10.1134/S1990750810040116 [doi: 10.1134/S1990750810040116]
40	Traore L., Nikiema O., Ouattara A.K., Compaore T.R., Soubeiga S.T., Diarra B., 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. Mediterr. J. Hematol. Infect. Dis., 2017, vol. 9, no. 1, p. e2017049.	---	URL: https://www.mjhid.org/index.php/mjhid/article/view/2017.049 [doi: 10.4084/MJHID.2017.049]

41	Tzellos S., Farrell P.J. Epstein-barr virus sequence variation-biology and disease. Pathogens, 2012, vol. 1, no. 2, pp. 156–174.	---	URL: https://www.mdpi.com/2076-0817/1/2/156 [doi: 10.3390/pathogens1020156]
42	Vangipuram R., Tyring S.K. AIDS-Associated Malignancies. Cancer Treat. Res., 2019, vol. 177, pp. 1–21.	---	URL: https://link.springer.com/chapter/10.1007/978-3-030-03502-0_1 [doi: 10.1007/978-3-030-03502-0_1]
43	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 variation in people living with human immunodeficiency virus in southeastern China. Virol. J., 2023, vol. 20, no. 1, p. 107.	---	URL: https://virologyj.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12985-023-02078-z [doi: 10.1186/s12985-023-02078-z]

44	Wang L., Ning S. New Look of EBV LMP1 Signaling Landscape. <i>Cancers</i> (Basel.), 2021, vol. 13, no. 21, p. 5451.	---	URL: https://www.mdpi.com/2072-6694/13/21/5451 [doi: 10.3390/cancers13215451]
45	Whitehurst C.B., Rizk M., Teklezghi A., Spagnuolo R.A., Pagano J.S., Wahl A. HIV co-infection augments EBV-induced tumorigenesis in vivo. <i>Front. Virol.</i> , 2022, vol. 2, p. 861628.	---	URL: https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fviro.2022.861628/full [doi: 10.3389/fviro.2022.861628]
46	WHO case definitions of HIV for surveillance and revised clinical staging and immunological classification of HIV-related disease in adults and children - Geneva: World Health Organization, 2007. 48 p.	---	URL: https://iris.who.int/bitstream/handle/10665/43699/9789241595629_eng.pdf?sequence=1&isAllowed=y

47	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]
48	Yao Q.Y., Croom-Carter D.S., Tierney R.J., Habeshaw G., Wilde J.T., Hill F.G., Conlon C., Rickinson A.B. Epidemiology of infection with Epstein-Barr virus types 1 and 2: lessons from the study of a T-cell-immunocompromised hemophilic cohort. <i>J. Virol.</i> , 1998, vol. 72, no. 5, pp. 4352–4363.	---	URL: https://journals.asm.org/doi/10.1128/jvi.72.5.4352-4363.1998 [doi: 10.1128/JVI.72.5.4352-4363.1998]

49	Zealiyas K., Teshome S., Haile A.F., Weigel C., Alemu A. Amogne W., Yimer G., Abebe T., 1erhe 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]
----	--	-----	--