

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

М.И. Попкова¹, Е.Н. Филатова¹, С.В. Минаева², Н.А. Сахарнов¹, О.В. Уткин¹

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

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

Адрес для переписки:

Попкова Мария Игоревна
603950, Россия, г. Нижний Новгород, ул. Малая Ямская, 71,
ФБУН Нижегородский НИИ эпидемиологии и микробиологии
им. академика И.Н. Блохиной Роспотребнадзора.
Тел.: 8 (831) 469-79-46 (раб.), 8 906 352-60-15 (моб.).
Факс: 8 (831) 469-79-20. E-mail: popmarig@mail.ru

Для цитирования:

Попкова М.И., Филатова Е.Н., Минаева С.В., Сахарнов Н.А., Уткин О.В.
Оценка взаимосвязи основных типов и геновариантов вируса
Эпштейна–Барр с клинико-лабораторными показателями у ВИЧ-
инфицированных взрослых // Инфекция и иммунитет. 2024. Т. 14, № 5.
С. 936–950. doi: 10.15789/2220-7619-AOT-17623

© Попкова М.И. и соавт., 2024

Contacts:

Mariia I. Popkova
603950, Russian Federation, Nizhny Novgorod,
Malaya Yamskaya str., 71, Academician I.N. Blokhina Nizhny Novgorod
Scientific Research Institute of Epidemiology and Microbiology.
Phone: +7 (831) 469-79-46 (office), +7 906 352-60-15 (mobile).
Fax: +7 (831) 469-79-20. E-mail: popmarig@mail.ru

Citation:

Popkova M.I., Filatova E.N., Minaeva S.V., Sakharov N.A., Utkin O.V.
Assessment of the relationship between Epstein–Barr virus major types and
genovariants as well as clinical and laboratory parameters in HIV-infected
adults // Russian Journal of Infection and Immunity = Infektsiya i
mmunitet, 2024, vol. 14, no. 5, pp. 936–950. doi: 10.15789/2220-7619-AOT-17623

DOI: <http://dx.doi.org/10.15789/2220-7619-AOT-17623>

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.

ASSESSMENT OF THE RELATIONSHIP BETWEEN EPSTEIN–BARR VIRUS MAJOR TYPES AND GENOVARIENTS 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

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

^bPrivolzhskiy Research Medical University, Nizhniy Novgorod, Russian Federation

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 persons. *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- δ 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 \leq 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.

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

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, лимфоид-

ным интерстициальным пневмонитам, 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 онкогенов, участвующих в вирусной кооперации, отмечают связанные с ВИЧ-1 гены *Tat* и *Vpr* и гены ВЭБ — *LMP-1* и *EBNA-2* [19].

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

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

Цель исследования — оценка взаимосвязи основных типов ВЭБ и геновариантов *LMP-1* с клинико-лабораторными показателями у ВИЧ-инфицированных взрослых.

Материалы и методы

Характеристика групп исследования. Проведено комплексное клинико-лабораторное обследование 138 ВИЧ-инфицированных паци-

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

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

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

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

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

Анализ клинико-лабораторных показателей каждого пациента (пол, возраст, приверженность АРТ, результаты проточной цитофлуориметрии, ИФА, иммуноблоттинга и ПЦР для определения маркеров ВИЧ-инфекции) проведен ретроспективно на основе данных медицинской документации. Для количественной оценки $CD4^+$ Т-лимфоцитов использовали проточный цитофлуориметр BD FACSCalibur (Becton Dickinson, США). Вирусную нагрузку ВИЧ определяли методом ПЦР в реальном времени (ПЦР-РВ) с помощью тест-системы «РеалБест РНК ВИЧ количественный» (АО «Вектор-Бест», Россия). Рекомендательный порог определяемой вирусной нагрузки ВИЧ в плазме крови составляет 58 копий/мл.

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

Сбор биологического материала. Материалом для исследования послужила цельная периферическая кровь, стабилизированная K_3 ЭДТА.

Для получения фракции лейкоцитов крови использовали реагент «Гемолитик» (ФБУН ЦНИИЭ Роспотребнадзора, Россия) в соответствии с инструкцией производителя.

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

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

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

Биоинформационный анализ. Биоинформационный анализ данных проводился с помощью открытого программного обеспечения MEGA X (Mega Software, США)¹ и языка программирования R, версия 2022.12.0+353 (The R Foundation for Statistical Computing, Inc)². Полученные исходные нуклеотидные последовательности выравнивались по алгоритму ClustalW. В качестве референсных последовательностей служили полученные из базы данных GenBank³ полногеномные последовательности прототипного штамма *B95-8* (V01555.1), а также нуклеотидные последовательности гена *LMP-1* — штаммы *China 1* (AY337723.1), *China 2* (AY337724.1), *Med-* (AY337721.2), *Med+* (AY337722.2), *NC* (AY337726.2), *Alaskan* (AY337725.1), *CAO* (X58140.1) и *AG876* (DQ279927.1). Нуклеотидные последовательности исследуемых изолятов ВЭБ и референсные последовательности транслировались в аминокислотные по стандартному генетическому коду. Принадлежность исследуемых последо-

вательностей LMP-1 к определенным вариантам в рамках классификации R. Edwards и соавт. устанавливалась по наличию сигнатурных аминокислотных замен (согласно табл. 1 в [20]). Предполагаемые рекомбинантные последовательности (*rec*) анализировали с помощью программного обеспечения 3SEQ (BoniLab, Вьетнам—США). Использовали длину окна 200 п.н. и шаг 10 п.н. Статистическую значимость вероятных рекомбинационных событий оценивали с применением непараметрического мозаичного теста.

Полученные нуклеотидные последовательности 82 нижегородских изолятов ВЭБ из лейкоцитов крови ВИЧ-инфицированных взрослых депонированы в международную базу данных GenBank: номера доступа OR862230-OR862311 (присвоены 12.12.2023).

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

Оценку возможного влияния ВЭБ-инфекции на клинико-лабораторные показатели у ВИЧ-инфицированных проводили с использованием метода главных компонент (РСА-анализ). Анализировали распределение ВИЧ(+) пациентов в координатах первых двух главных компонент (ГК) в зависимости от вирусной нагрузки ВЭБ, содержания $CD4^+$ Т-лимфоцитов и приверженности пациентов АРТ. При этом приверженность терапии выражали в числовых значениях от 0 до 1, где 0 — без АРТ, 1 — высокая приверженность. Вклад переменных в состав компонент оценивали по показателю корреляции вектора переменной и осью компоненты. Возможные факторы группировки пациентов в координатах двух первых измерений выявляли методом визуального наложения. Для количественной оценки строили линейную модель

¹ URL: <https://www.megasoftware.net>

² URL: <https://www.Rproject.org>

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

⁴ URL: <http://www.rstudio.com>

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, $\times 10^5$ копий/10^5 клеток EBV DNA, $\times 10^5$ 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, $\times 10^5$ копий/10^5 клеток EBV DNA, $\times 10^5$ 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, $\times 10^5$ копий/10^5 клеток EBV DNA, $\times 10^5$ copies/ 10^5 cells	-0,56	0,67

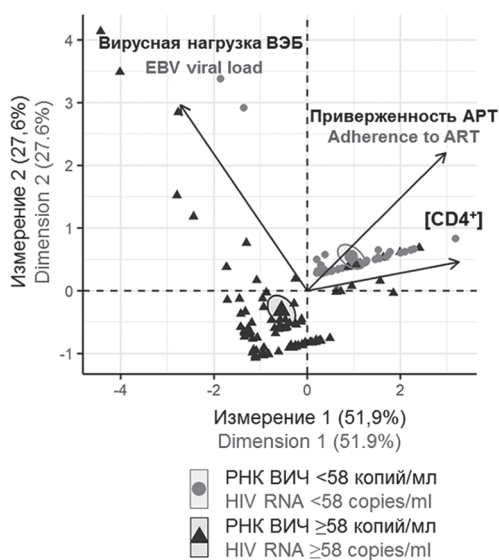


Рисунок 1. Расположение точек ВИЧ(+) пациентов в координатах двух первых главных компонент с визуальным наложением фактора выявления РНК ВИЧ выше или ниже определяемого уровня

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%-й 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.

зависимости возможных факторов группировки от переменных со значительным вкладом в состав первых двух главных компонент.

Оценивали вирусную нагрузку ВЭБ и ВИЧ, количество CD4⁺ Т-лимфоцитов у ВИЧ(+) пациентов в зависимости от типа, варианта и субварианта ВЭБ. Для анализа отбирались субварианты, достаточно широко представленные среди обследованных пациентов (n \geq 3). Использовали U-тест Манна–Уитни. Рассчитанные значения «p» корректировали с применением поправки Холма–Бонферрони для множественных сравнений. Различия описывали с указанием Δ (ДИ: CI.l1 — CI.ul) и уровня статистической значимости (p), где Δ — разница положений распределений, CI.l1 и CI.ul — нижняя и верхняя границы 95%-ного доверительного интервала (ДИ) разницы. Различия считали статистически значимыми при скорректированном p < 0,05.

Результаты

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

Последующий РСА-анализ позволил охарактеризовать зависимость между вирусной нагрузкой ВЭБ, вирусной нагрузкой ВИЧ, количеством CD4⁺ Т-лимфоцитов и приверженностью АРТ. При анализе всех ВИЧ(+) пациен-

тов удалось установить их распределение в координатах двух первых компонент, суммарно объяснявших 79,5% дисперсии. Анализируемые переменные вносили различный вклад в состав главных компонент (табл. 1).

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

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

На графике барицентры двух групп располагались на выраженном удалении друг от друга в первом и третьем квадрантах. Исходя из этого можно предположить, что ось первой компоненты в большей степени отражала вирусную нагрузку ВИЧ у пациентов, в то время как ось второй компоненты — их приверженность терапии. Интересно отметить, что параметр вирусной нагрузки ВЭБ вносил равноценный вклад в формирование как первой, так и второй главных компонент.

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

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

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

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

Используя данную модель, показано, что вирусная нагрузка ВИЧ увеличивалась на 114±58 копий/мл при повышении количества ДНК ВЭБ на 1 копию/10⁵ клеток (p = 0,049) или на 339±165 копий/мл при снижении CD4⁺ Т-лимфоцитов на одну клетку (p = 0,042). Наоборот, концентрация РНК ВИЧ значительно снижалась (на 331 575±123 452 копий/мл), если у пациентов была высокая приверженность АРТ (p = 0,008).

Отметим, что небольшое значение коэффициента R² при высоком уровне значимости (R² = 0,156, p < 0,001) свидетельствует о том, что помимо исследованных нами переменных в показатель вирусной нагрузки ВИЧ вносят вклад и другие факторы.

На следующем этапе работы нами осуществлен анализ взаимосвязи молекулярно-генетических особенностей ВЭБ с уровнем вирусной нагрузки ВИЧ, количеством CD4⁺ Т-лимфоцитов и степенью приверженности АРТ у ВИЧ(+) пациентов. Анализ проводили по трем направлениям: типы ВЭБ, варианты и субварианты LMP-1 ВЭБ.

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

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

Из табл. 1 и рис. 2 видно, что распределение пациентов с охарактеризованным ВЭБ в координатах двух главных компонент было сопоставимо таковому для всех ВИЧ(+) пациентов. Анализируемые переменные вносили сопоставимый вклад в состав компонент, а именно: ось первой компоненты в большей степени отражала вирусную нагрузку ВИЧ у пациентов, ось второй компоненты — их приверженность терапии, параметр вирусной нагрузки ВЭБ вносил равноценный вклад в формирование как первой, так и второй главных компонент.

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

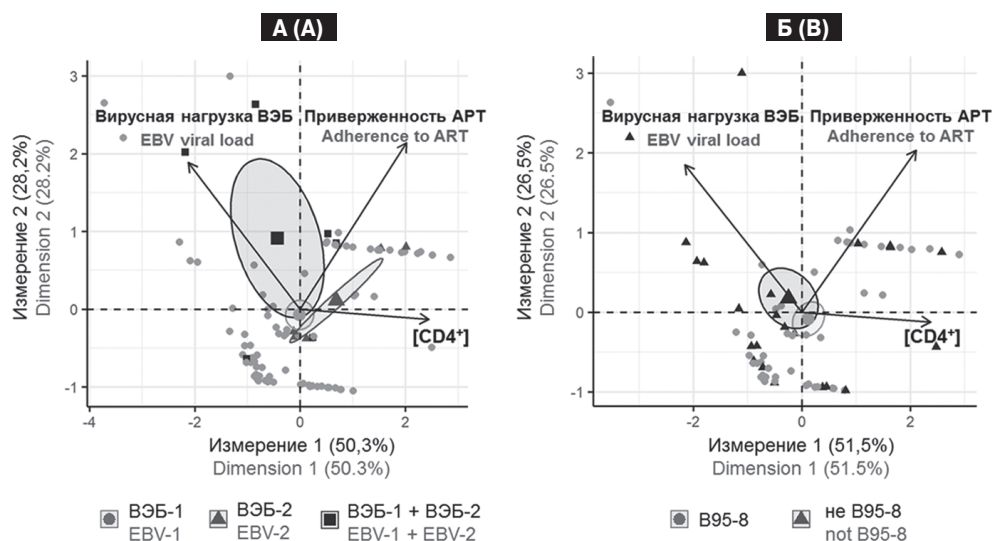


Рисунок 2. Расположение точек ВИЧ(+) пациентов в координатах двух первых главных компонент с визуальным наложением фактора: А — типа ВЭБ, Б — варианта LMP-1 ВЭБ

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%-й доверительный интервал расположения барисцентра 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.

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

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

Для подтверждения данной гипотезы среди всех выявленных в данном исследовании молекулярно-генетических характеристик С-концевой области LMP-1 ВЭБ отобрали те, которые были представлены у пациентов в достаточном количестве (3 и более случаев) (табл. 2). По ти-

повой принадлежности все сгенерированные субварианты LMP-1 были представлены только ВЭБ-1. Анализ выполнен дифференцированно в группах G1, G2, G3 и G4, учитывая иммунный, АРТ-статус пациентов и их влияние на анализируемые показатели (табл. 3).

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

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

Установлено, что у «наивных» пациентов в группе G1 субвариант S309N (был представлен в 100% последовательностей LMP-1 China I, Med-, NC, Alaskan и rec) был ассоциирован с более высокими значениями концентрации РНК ВИЧ в плазме крови. Напротив, при ин-

фицировании субвариантом *E328Q* (установлен исключительно в изолятах *B95-8*) в этой же группе ВИЧ-инфицированных были понижены уровни вирусной нагрузки ВИЧ по сравнению с теми, у кого в последовательностях LMP-1 данная мутация отсутствовала. Обнаружение субварианта *Q334R* (специфическая мутация для вариантов LMP-1 *China 1* и *Med-*) характеризовалось значительно более высокими уровнями вирусной нагрузки ВЭБ.

У «опытных» пациентов в группе G3 была выявлена связь отдельных субвариантов только с вирусной нагрузкой ВЭБ. При этом уровни

вирусной нагрузки ВЭБ были ниже при инфицировании субвариантом *E328Q* и, наоборот, выше, если выявлялся субвариант *H358P* (типичная аминокислотная замена в штаммах *NC*). Дополнительно отметим, что именно изоляты *NC* ВЭБ-1 из лейкоцитов крови ВИЧ(+) лиц продемонстрировали наибольшую дивергентность С-концевой области LMP-1 по сравнению со всеми другими вариантами. В последовательностях *NC* присутствовало в среднем на 2, 5 и 9 мутаций больше, чем в вариантах *Med-*, *China 1* и *B95-8* соответственно ($p < 0,01$ для каждого варианта сравнения).

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
346_del10_355	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</i> (1/51), <i>China 1</i> (1/4), <i>rec</i> (1/2)
H358P	13/82	<i>Med-</i> (1/10), <i>NC</i> (12/13)
S366T	73/82	<i>Alaskan</i> (2/2), <i>B95-8</i> (46/51), <i>China 1</i> (4/4), <i>Med-</i> (8/10), <i>NC</i> (11/13), <i>rec</i> (2/2)
D372N	4/82	<i>B95-8</i> (4/51)

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]
	женский, n (%) female, n (%)	12 (40,0)	8 (40,0)	19 (44,2)	26 (57,8)	65 (47,1)
Пол Sex	мужской, n (%) male, 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]
	РНК ВИЧ HIV RNA	копий/мл copies/ml	270000 [43 250; 660 000]	7300 [2825; 18 250]	1200 [58; 250 000]	58 [58; 83]
ДНК ВЭБ EBV DNA	R \pm ор, %	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]
Приверженность АРТ Adherence to ART	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-1Table 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	-443 278 (-135 000 — -50 000)	0,049
E328Q	G1	РНК ВИЧ HIV RNA	копии/мл copies/ml	441 777 (50 000-1 350 000)	0,049
Q334R	G1	ДНК ВЭБ EBV DNA	копии/10 ⁵ клеток copies/10 ⁵ cells	-460 (-11 089 — -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).

Обсуждение

В России исследования молекулярно-генетического разнообразия ВЭБ и оценка его взаимосвязи с выраженностью клинико-лабораторных показателей у ЛЖВ не проводились. За рубежом при изучении данного вопроса анализировались только однородные группы пациентов, сформированные на основе одного признака (количество CD4⁺ Т-лимфоцитов либо АРТ) [34, 35, 36, 40]. При этом основная часть исследований была посвящена оценке типов вируса — ВЭБ-1 и ВЭБ-2. В нашей работе анализ данных выполнен комплексно с учетом количества CD4⁺ Т-лимфоцитов, вирусной нагрузки ВИЧ, применения и приверженности АРТ у пациентов, с одной стороны, и молекулярно-генетических особенностей ВЭБ (типа ВЭБ, варианта и субварианта LMP-1 данного вируса), с другой стороны.

Нами 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. Анализ коэффициентов линейной модели показал, что вирусная нагрузка ВЭБ вносит хоть и меньший по отношению к содержанию CD4⁺ Т-лимфоцитов и приверженности АРТ, но статистически значимый вклад в изменение вирусной нагрузки ВИЧ. Положительная корреляция между вирусной нагрузкой ВЭБ и ВИЧ и обратная корреляция их уровней с количеством CD4⁺ Т-лимфоцитов ранее была установлена в ряде зарубежных исследований [24, 28, 37]. Отметим, что количественная характеристика ВЭБ у ВИЧ-инфицированных в контексте приверженности АРТ до сих пор не проводилась.

В основе типирования ВЭБ-1 и ВЭБ-2 лежат различия последовательностей генов *EBNA-2*, *EBNA-3A*, *EBNA-3B* и *EBNA-3C*. Данная классификация ВЭБ используется уже в течение 40 лет. Современные работы подтверждают четкое разделение вирусной популяции на два основных типа [8, 49]. Известно, что доминирующим типом во всем мире является ВЭБ-1. Его наибольшая распространенность отмечается в Европе, Азии, Северной и Южной Америке [49]. Представлены первые сведения о том, что преимущественно ВЭБ-1 обнаруживается и в России [6, 11]. ВЭБ-2 также встречается повсеместно, но наиболее высокая частота выявления данного типа ограничивается странами Африки к югу от Сахары и отдельными группами населения, включая лиц с ВИЧ/СПИД [18, 38, 48]. Отмечается, что ВЭБ-2 редко выявляется в общей европеоидной популяции, но стал эндемичным в сообществе гомосексуальных мужчин [48]. По данным зарубежных

публикаций в популяции ЛЖВ преобладает ВЭБ-1, за ним следует ВЭБ-2 и коинфекция обоими типами вируса [18, 24, 35, 43]. Полученные нами результаты типовой структуры нижегородских изолятов ВЭБ у ВИЧ(+) пациентов согласуются с этими представлениями.

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

Молекулярно-генетическая характеристика других генов ВЭБ также лежит в основе ряда классификаций вируса [8]. Однако у ВИЧ-инфицированных лиц они применялись редко. Так исследователи ограничились поиском отдельных SAO-подобных мутаций в гене *LMP-1* (делеция 30 н.о./10 а.к. (а.к. 346–355) и больший 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 г. [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-TatK» [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 САО-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].

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

В данной работе нами также применен комплексный подход, основанный на оценке широкого спектра выявленных мутаций (делеции, количество и состав tandemных повторов, аминокислотные замены), обозначенных нами как субварианты вируса. В результате установлены

субварианты *LMP-1 ВЭБ* на уровне аминокислотных замен (*S309N*, *E328Q*, *Q334R*, *N358P*), которые ассоциированы с изменением количества РНК ВИЧ и ДНК ВЭБ по сравнению с пациентами, инфицированными другими вариантами и субвариантами вируса. При этом полученные результаты указывают на то, что биологический потенциал этих мутаций реализуется в условиях иммунодефицита (ВИЧ+) пациенты в группах *G1* и *G3*), когда вследствие истощения пула $CD4^+$ Т-лимфоцитов ≤ 200 клеток/мкл ВИЧ-инфекция приводит к потере иммунологического контроля над ВЭБ-инфекцией [34, 40, 45].

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

Среди выявленных нами значимых субвариантов *LMP-1* аминокислотная замена *E328Q* встречалась исключительно в изолятах *B95-8* (с частотой до 100%). Выявление этого субварианта у ВИЧ(+) лиц было связано с меньшей репликативной активностью ВИЧ (в группе *G1*) и ВЭБ (в группах *G1* и *G3*). Накоплены данные, что мутация *E328Q* преобладает в российских изолятах *LMP-1 B95-8* как у больных, так и здоровых лиц [4, 6, 10]. В других географических регионах она встречается редко [12, 13]. Следует отметить, что в литературе описаны и другие аминокислотные замены в позиции 328 белка *LMP-1*. Например, мутация *E328A*, которая характеризует известный штамм *LMP-1 САО*, первоначально выделенный из образцов карциномы носоглотки у пациента из Китая [10, 25], или замена *E328D*, обнаруженная в 41% образцов карциномы слюнных желез и носоглотки в странах Юго-Восточной Азии [26]. При исследовании российских изолятов ВЭБ с набором часто встречающихся мутаций (*I85L*, *F106Y*, *E328Q*, *S366T*) было показано, что их функциональное значение проявляется в снижении цитотоксичности и усилении трансформирующей активности белка *LMP-1* [4, 39]. Однако

данные, экспериментально подтверждающие биологическую роль именно аминокислотной замены E328Q, пока отсутствуют.

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

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

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

ством TRAF2 и TRAF6 (канонический путь), участвуя в регуляции множества клеточных процессов, включая пролиферацию, дифференцировку и апоптоз клеток [15]. Кроме того, предполагается, что указанная замена может приводить к нарушению способности LMP-1 связывать NOD белки, что приводит к повышению его концентрации в клетке [10].

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

Заключение

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

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

Список литературы/References

1. Видулов Г.Х., Орадовская И.В., Колобухина Л.В., Русанова С.А., Антипаят 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 = The Doctor*, 2023, vol. 34, no. 12, pp. 91–97. (In Russ.)] 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.)]
3. Мартынова Г.П., Кузнецова Н.Ф., Мазанкова Л.Н., Шарипова Е.В. Клинические рекомендации (протокол лечения) оказания медицинской помощи детям, больным инфекционным мононуклеозом. СПб., 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. *St. Petersburg*, 2013. 70 p. (In Russ.)] URL: <http://niidi.ru/dotAsset/a6816d03-b0d9-4d37-9b09-540f48e3ed43.pdf6> (13.12.2022)

4. Павлиш О.А., Дидук С.В., Смирнова К.В., Шербак 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. Мутации гена LMP1 вируса Эпштейна–Барр у российских больных с лимфоидной патологией и здоровых лиц // Вопросы вирусологии. 2008. Т. 53, № 1. С. 10–16. [Pavlish O.A., Diduk S.V., Smirnova K.V., Shcherbak L.N., Goncharova E.V., Shalginskikh N.A., Arkhipov V.V., Kichigina M.I., Stepina V.N., Belousova N.V., Osmanov E.A., Iakovleva L.S., Gurtsevich V.E. Mutations of the 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.)]
5. 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. [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. *Infektsiya i immunitet = Russian Journal of Infection and Immunity*, 2021, vol. 11, no. 6, pp. 1057–1066. (In Russ.)] doi: 10.15789/2220-7619-MBF-1661
6. 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 вирусоносителе // 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. *Infektsiya i immunitet = 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. *Infektsiya i immunitet = Russian Journal of Infection and Immunity*, 2023, vol. 13, no. 3, pp. 481–496. (In Russ.)] doi: 10.15789/2220-7619-MGC-2121
8. Попкова М.И., Уткин О.В. Генетическое разнообразие вируса Эпштейна–Барр: современный взгляд на проблему // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. 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. *Zhurnal mikrobiologii, epidemiologii i immunobiologii = Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology*, 2022, vol. 99, no. 1, pp. 93–108. (In Russ.)] doi: 10.36233/0372-9311-228
9. 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. [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. *VICH-infektsiya i immunosupressii = HIV Infection and Immunosuppressive Disorders*, 2018, vol. 10, no. 3, pp. 17–29. (In Russ.)] doi: 10.22328/2077-9828-2018-10-3-17-29
10. Смирнова К.В., Дидук С.В., Гурцевич В.Э. Полиморфизм онкогена LMP1 вируса Эпштейна–Барр у представителей коренного малочисленного народа Дальнего Востока России // Эпидемиология и инфекционные болезни. 2017. Т. 22, № 5. С. 239–247. [Smirnova K.V., Diduk S.V., Gurtsevich V.E. Polymorphism of Epstein–Barr virus LMP1 oncogene in nanaians, representatives of indigenous minority of the russian Far East. *Epidemiologiya i infeksionnye bolezni = 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. *Voprosy virusologii = Problems of Virology*, 2020, vol. 65, no. 2, pp. 77–86. (In Russ.)] 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, Colombia. *Biomedica*, 2020, vol. 40, suppl. 1, pp. 76–88. doi: 10.7705/biomedica.4917
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. 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: e00453-17. 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. *Future Virol.*, 2018, vol. 13, no. 12, pp. 863–887. 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. *J. Infect. Dis.*, 2017, vol. 216, no. 6, pp. 670–677. 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. *J. Virol.*, 2018, vol. 92, no. 21: e00813-18. doi: 10.1128/JVI.00813-18
18. Correa R.M., Fellner M.D., Durand K., Redini L., Alonio V., Yampolsky C., Colobraro A., Sevlever G., Teysié 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. 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. doi: 10.1007/978-3-030-44518-8_4
20. Edwards R.H., Seillier-Moisevitch F., Raab-Traub N. Signature amino acid changes in latent membrane protein 1 distinguish Epstein–Barr virus strains. *Virology*, 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. *J. Virol.*, 2004, vol. 78, no. 2, pp. 868–881. 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. *J. Clin. Microbiol.*, 2000, vol. 38, no. 6: 2458. 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. *J. Infect. Dis.*, 2015, vol. 212, no. 6, pp. 845–852. 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. *J. Med. Virol.*, 2013, vol. 85, no. 12, pp. 2110–2118. 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. *J. Gen. Virol.*, 1991, vol. 72, no. 1, pp. 2399–2409. 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. *Virus Genes*, 2005, vol. 3, no. 2, pp. 223–235. 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. *Cancer Treat. Res.*, 2019, vol. 177, pp. 81–103. doi: 10.1007/978-3-030-03502-0_4
28. Lupo J., Germe R., Lancar R., Algarte-Genin M., Hendel-Chavez H., Taoufik 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. doi: 10.1097/QAD.0000000000002839
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. 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-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.
32. Musukuma-Chifulo K., Siddiqi O.K., Chilyabanyama O.N., Bates M., Chisenga C.C., Simuyandi M., Sinkala E., Dang X., Koralknik 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: 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: e02438-16. 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: 18476. 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. *Viruses*, 2022, vol. 14, no. 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 Uganda. *J. Infect. Dis.*, 2014, vol. 210, no. 3, pp. 392–399. doi: 10.1093/infdis/jiu099
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. 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. 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. 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: e2017049. 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. doi: 10.3390/pathogens1020156
42. Vangipuram R., Tyring S.K. AIDS-Associated Malignancies. *Cancer Treat. Res.*, 2019, vol. 177, pp. 1–21. 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: 107. doi: 10.1186/s12985-023-02078-z

44. Wang L., Ning S. New Look of EBV LMP1 Signaling Landscape. *Cancers (Basel.)*, 2021, vol. 13, no. 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. *Front. Virol.*, 2022, vol. 2: 861628. 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.
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. *Virus Evol.*, 2021, vol. 7, no. 1: veab010. 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. *J. Virol.*, 1998, vol. 72, no. 5, pp. 4352–4363. 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., Ierhe N., Ahmed E.H., Baiocchi R.A. Genotype characterization of Epstein–Barr virus among adults living with human immunodeficiency virus in Ethiopia. *Front. Microbiol.*, 2023, vol. 14: 1270824. doi: 10.3389/fmicb.2023.1270824

Авторы:

Попкова М.И., к.м.н., ведущий научный сотрудник лаборатории молекулярной биологии и биотехнологии ФБУН Нижегородский НИИ эпидемиологии и микробиологии им. академика И.Н. Блохиной Роспотребнадзора, г. Нижний Новгород, Россия;
Филатова Е.Н., к.б.н., ведущий научный сотрудник лаборатории молекулярной биологии и биотехнологии ФБУН Нижегородский НИИ эпидемиологии и микробиологии им. академика И.Н. Блохиной Роспотребнадзора, г. Нижний Новгород, Россия;
Минаева С.В., к.м.н., доцент кафедры эпидемиологии, микробиологии и доказательной медицины ФГБОУ ВО Приволжский исследовательский медицинский университет Минздрава России, г. Нижний Новгород, Россия;
Сахарнов Н.А., к.б.н., старший научный сотрудник лаборатории молекулярной биологии и биотехнологии ФБУН Нижегородский НИИ эпидемиологии и микробиологии им. академика И.Н. Блохиной Роспотребнадзора, г. Нижний Новгород, Россия;
Уткин О.В., к.б.н., зав. лабораторией молекулярной биологии и биотехнологии ФБУН Нижегородский НИИ эпидемиологии и микробиологии им. академика И.Н. Блохиной Роспотребнадзора, г. Нижний Новгород, Россия.

Authors:

Popkova M.I., PhD (Medicine), Leading Researcher, Laboratory of Molecular Biology and Biotechnology, Academician I.N. Blokhina Nizhny Novgorod Scientific Research Institute of Epidemiology and Microbiology, Nizhny Novgorod, Russian Federation;
Filatova E.N., PhD (Biology), Leading Researcher, Laboratory of Molecular Biology and Biotechnology, Academician I.N. Blokhina Nizhny Novgorod Scientific Research Institute of Epidemiology and Microbiology, Nizhny Novgorod, Russian Federation;
Minaeva S.V., PhD (Medicine), Associate Professor of the Epidemiology, Microbiology and Evidence-Based Medicine Department, Privolzhskiy Research Medical University, Nizhny Novgorod, Russian Federation
Sakharnov N.A., PhD (Biology), Senior Researcher, Laboratory of Molecular Biology and Biotechnology, Academician I.N. Blokhina Nizhny Novgorod Scientific Research Institute of Epidemiology and Microbiology, Nizhny Novgorod, Russian Federation;
Utkin O.V., PhD (Biology), Head of the Laboratory of Molecular Biology and Biotechnology, Academician I.N. Blokhina Nizhny Novgorod Scientific Research Institute of Epidemiology and Microbiology, Nizhny Novgorod, Russian Federation.