

МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ВИРУСА ЭПШТЕЙНА– БАРР: ВЗАИМОСВЯЗЬ С КЛИНИЧЕСКИМИ ОСОБЕННОСТЯМИ ИНФЕКЦИОННОГО МОНОНУКЛЕОЗА У ДЕТЕЙ



М.И. Попкова¹, О.В. Уткин¹, Е.Н. Филатова¹, Д.А. Брызгалова¹, Н.А. Сахарнов¹,
Е.А. Соболева², Л.В. Назарова³

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

² ГБУЗ НО Нижегородский областной центр по профилактике и борьбе со СПИД и инфекционными заболеваниями, Нижний Новгород, Россия

³ ГБУЗ НО Инфекционная клиническая больница № 23 г. Нижнего Новгорода, Нижний Новгород, Россия

Резюме. *Введение.* Инфекционный мононуклеоз (ИМ) — актуальная вирусная инфекция у детей. Вирус Эпштейна–Барр (ВЭБ) является основным этиологическим агентом ИМ. ВЭБ классифицируется на два основных типа — ВЭБ-1 и ВЭБ-2. Помимо этого выделяют разные варианты вируса на основе отдельных генов, среди которых наибольшую известность получил ген *LMP-1* и кодируемый им онкобелок. До сих пор изучение клинической значимости генетического разнообразия вируса при ВЭБ-ИМ у детей в России не проводилось. Цель исследования — оценить взаимосвязь молекулярно-генетических вариантов *LMP-1* ВЭБ с клинико-лабораторными проявлениями ИМ у детей. *Материалы и методы.* Материалом исследования послужили лейкоциты крови и слюна детей в возрасте 1–17 лет с ВЭБ-ИМ (n = 69). Всего исследовано 132 изолята ВЭБ. Для дифференциальной детекции ВЭБ-1/ВЭБ-2 в работе применялся оптимизированный нами ранее одноразовый вариант ПЦР с электрофоретической детекцией продуктов амплификации в агарозном геле. Определение нуклеотидных последовательностей С-концевого фрагмента гена *LMP-1* выполнено методом секвенирования по Сэнгеру с последующим анализом полученных сиквенсов с помощью программного обеспечения MEGA X. Для поиска взаимосвязи вариантов *LMP-1* с клинико-лабораторными проявлениями ИМ (32 признака и 8 групп признаков) использован многофакторный анализ. *Результаты.* Установлено, что у всех детей идентифицирован только один тип вируса — ВЭБ-1. При этом степень выраженности клинических проявлений ВЭБ-ИМ у детей значительно варьировала (суммарно от 15,5 до 35,5 баллов). Молекулярно-генетический анализ последовательностей С-концевой области *LMP-1* нижегородских изолятов ВЭБ продемонстрировал значительную гетерогенность вирусной популяции, которая не ограничивалась только их группировкой по известным вариантам. По частоте выявления доминирующим вариантом *LMP-1* являлся *B95-8* (60,6±6,0% случаев), реже встречались другие варианты (*China 1*, *NC*, *Med*– и *China 1+B95-8*). Выявлено,

Адрес для переписки:

Попкова Мария Игоревна
603950, Россия, 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

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

Для цитирования:

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.
doi: 10.15789/2220-7619-MGC-2121

Citation:

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 =
Infektsiya i immunitet, 2023, vol. 13, no. 3, pp. 481–496. doi: 10.15789/2220-
7619-MGC-2121

© Попкова М.И. и соавт., 2023

DOI: <http://dx.doi.org/10.15789/2220-7619-MGC-2121>

что ВЭБ-ИМ протекал легче и с меньшей выраженностью синдрома интоксикации в случаях инфицирования вирусом, имеющим молекулярно-генетический профиль ВЭБ-1/*B95-8*, в частности ВЭБ-1/*B95-8/E214D*. Наоборот, профили ВЭБ-1/*Med-*, а также ВЭБ-1/*Med-/L338S*, ВЭБ-1/*Med-/S229T*, ВЭБ-1/*China 1/L338S* и ВЭБ-1/*NC/S229T* ассоциировались с более тяжелым течением инфекции. *Заключение.* Впервые выявлено влияние генетического разнообразия ВЭБ на клинические проявления ИМ у детей. В контексте решаемых в данном исследовании задач необходимо проведение более масштабных и системных исследований на разных территориях России.

Ключевые слова: вирус Эпштейна–Барр, инфекционный мононуклеоз, ВЭБ-1, ВЭБ-2, LMP-1, секвенирование, ПЦР, геноварианты.

MOLECULAR GENETIC CHARACTERIZATION OF THE EPSTEIN–BARR VIRUS: A RELATIONSHIP WITH THE CLINICAL FEATURES OF PEDIATRIC INFECTIOUS MONONUCLEOSIS

Popkova M.I.^a, Utkin O.V.^a, Filatova E.N.^a, Bryzgalova D.A.^a, Sakharnov N.A.^a, Soboleva E.A.^b, Nazarova L.V.^c

^a *Academician I.N. Blokhina Nizhny Novgorod Scientific Research Institute of Epidemiology and Microbiology of Federal Service for Surveillance on Consumer Rights Protection and Human Wellbeing, Nizhny Novgorod, Russian Federation*

^b *Nizhny Novgorod Regional Center for the Prevention and Control of AIDS and Infectious Diseases, Nizhny Novgorod, Russian Federation*

^c *Infectious Clinical Hospital No. 23, Nizhny Novgorod, Russian Federation*

Abstract. Introduction. Infectious mononucleosis (IM) is an high priority viral infection in children. Epstein-Barr virus (EBV) is the main etiological agent of IM. EBV is classified into two main types — EBV-1 and EBV-2. In addition, different variants of the virus are isolated based on individual genes, among which the *LMP-1* gene and the oncoprotein it encodes are the most well known. So far, the study of the clinical significance of EBV genetic diversity in EBV-IM in children in Russia has not been conducted. The aim of the study was to evaluate a relationship between EBV *LMP-1* molecular genetic variants and clinical and laboratory manifestations of IM in children. *Materials and methods.* The material of the study was presented by blood leukocyte and saliva samples of children aged 1–17 years with EBV-IM (n = 69). A total of 132 EBV isolates were studied. For differential detection of EBV-1/EBV-2, we used a previously optimized one-round PCR variant with electrophoretic detection of amplification products in agarose gel. The nucleotide sequences of the C-terminal region of the *LMP-1* gene were determined by Sanger sequencing followed by analysis of the obtained sequences using the MEGA X software. Multiple Factor Analysis was used to search for the relationship between *LMP-1* variants and clinical and laboratory manifestations of IM (32 signs and 8 groups of signs). *Results.* It was established that only one type of virus, EBV-1, was identified in all children. At the same time, the severity of clinical manifestations of EBV-IM in children varied significantly (from 15.5 to 35.5 scores in total). Molecular genetic analysis of the sequences of the *LMP-1* C-terminal region in Nizhny Novgorod region EBV isolates demonstrated a significant heterogeneity of the viral population, which was not limited only to their grouping according to known variants. According to the frequency of detection, *B95-8* was the dominant variant of *LMP-1* (60.6±6.0% of cases), other variants were less common (*China 1*, *NC*, *Med-* and *China 1+B95-8*). It was found that EBV-IM proceeded more easily and with less severity of the intoxication syndrome in cases of infection with a virus having the molecular genetic profile of EBV-1/*B95-8*, in particular EBV-1/*B95-8/E214D*. Conversely, EBV-1/*Med-*, as well as EBV-1/*Med-/L338S*, EBV-1/*Med-/S229T*, EBV-1/*China 1/L338S* and EBV-1/*NC/S229T* profiles were associated with more severe infection. *Conclusion.* For the first time, the influence of the genetic diversity of EBV on the clinical manifestations of IM in children was revealed. In the context of the tasks to be solved in this study, it is necessary to conduct a larger-scale and systemic studies in different territories of Russia.

Key words: Epstein-Barr virus, infectious mononucleosis, EBV-1, EBV-2, LMP-1, sequencing, PCR, genovariants.

Введение

Инфекционный мононуклеоз (ИМ) — острое антропонозное вирусное заболевание, сопровождающееся лихорадкой, поражением ротоглотки, лимфатических узлов, печени и селезенки и специфическими изменениями гемограммы [8, 12]. В Российской Федерации (РФ) в последнее десятилетие отмечается значимый экономический ущерб, обусловленный ростом заболеваемости ИМ [9, 10, 21]. При этом в воз-

растной структуре заболевших по-прежнему преобладают дети до 14 лет [9]. Основным этиологическим агентом ИМ является вирус Эпштейна–Барр (ВЭБ), на долю которого приходится в среднем 76,6% случаев [5]. По литературным данным ИМ характеризуется выраженным полиморфизмом клинических проявлений. Описаны особенности клинического течения ИМ в зависимости от этиологии, в разрезе разных возрастных групп, а также в сравнении первичной ВЭБ-инфекции или ее реак-

тивации [1, 4, 5, 6, 11, 22, 23]. Однако остается недостаточно изученным вопрос о взаимосвязи различных клинико-лабораторных проявлений ИМ с молекулярно-генетическими характеристиками самого вируса.

Согласно современной таксономии вирусов ВЭБ относится к семейству *Herpesviridae*, подсемейству *Gammaherpesvirinae*, роду *Lymphocryptoviruses*, виду *Human gammaherpesvirus 4* [38]. Анализ мировой литературы показал, что популяция ВЭБ отличается выраженной генетической гетерогенностью [15]. Единой, унифицированной системы, учитывающей все генетическое разнообразие ВЭБ, не существует. Основной классификацией остается разделение вируса на два типа — ВЭБ-1 и ВЭБ-2 (на основе последовательностей генов ядерного антигена вируса, а именно *EBNA-2* и *EBNA-3*) [32, 33, 36, 43]. Показано, что разные типы вируса отличаются по географическому распределению, тропности к В- и Т-клеткам, фенотипическим характеристикам *in vitro* [25, 26, 30, 31, 36, 43, 44, 48]. Информации о связи заболеваний с определенным типом ВЭБ недостаточно. В РФ изучение типов ВЭБ ограничивается единичными работами, посвященными только оценке распространенности ВЭБ-1 и ВЭБ-2 среди взрослого условно здорового населения [3, 20].

Основное внимание зарубежных и российских исследователей сосредоточилось на изучении структурно-функционального полиморфизма наиболее вариабельного участка генома ВЭБ — геналатентного мембранного протеина 1 (*LMP-1*) и кодируемого им одноименного онкобелка, а также поиске САО-подобных изолятов вируса в контексте ВЭБ-ассоциированных онкологических заболеваний у взрослых [2, 7, 17, 19, 24, 28, 37, 39, 46]. Преимущественно использовалась наиболее популярная классификация вариантов ВЭБ по R.H. Edwards и соавт., основанная на характерных аминокислотных (а.к.) паттернах С-концевой области LMP-1 [34]. В современный период достаточно широко изучаются особенности распространения вариантов LMP-1 на разных территориях при широком спектре доброкачественных и злокачественных заболеваний, продолжается интенсивный поиск генетических подтипов ВЭБ высокого онкогенного риска. При этом вопросу изучения молекулярно-генетической характеристики вируса при ВЭБ-инфекции у детей уделяется недостаточно внимания. Оценка клинической значимости генетического разнообразия ВЭБ при ИМ у детей в РФ до сих пор не проводилась.

Цель исследования — оценить взаимосвязь молекулярно-генетических вариантов LMP-1 ВЭБ с клинико-лабораторными проявлениями ИМ у детей.

Материалы и методы

Характеристика групп исследования. Проведен молекулярно-генетический анализ 132 изолятов ВЭБ из лейкоцитов крови и слюны, полученных от 69 детей в возрасте 1–17 (медиана 5 [2; 10]) лет, находившихся на лечении в ГБУЗ НО «Детская инфекционная больница № 8 г. Нижнего Новгорода» с диагнозом «инфекционный мононуклеоз, вызванный ВЭБ» (ВЭБ-ИМ).

Соблюдение этических требований. Информированное согласие родителей или опекунов 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.).

Сбор биологического материала. Материалом для исследования послужила цельная периферическая кровь, стабилизированная КЗЭДТА, и нестимулированная смешанная слюна (далее слюна). В работе использовались остаточные количества образцов цельной крови, полученных для проведения стандартных диагностических исследований в клинической практике. Сбор биоматериала производили однократно при поступлении в стационар.

Определение ДНК ВЭБ. Для получения фракции лейкоцитов периферической крови использовали реагент «Гемолитик» (ФБУН ЦНИИЭ Роспотребнадзора, Россия) в соответствии с инструкцией производителя. Пробоподготовку слюны выполняли оптимизированным нами ранее способом [16]. Выделение тотальной нуклеиновой кислоты проводили с помощью комплекта реагентов для выделения РНК/ДНК из клинического материала «РИБО-преп» (ФБУН ЦНИИЭ Роспотребнадзора, Россия) с модификациями [14, 16]. Выявление и количественное определение ДНК ВЭБ в лейкоцитах крови и слюне 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 соблюдался согласно инструкции производителя.

Дифференциальная детекция ВЭБ-1/ВЭБ-2 методом ПЦР. Для отдельной детекции основных типов ВЭБ (ВЭБ-1 и ВЭБ-2) применен оптимизированный нами ранее вариант однораундовой ПЦР на основе гена *EBNA-2* [14, 16].

ПЦР-анализ 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. ПЦР-анализ проводили не в двухраундовой «полугнездовой» ПЦР, описанной в статье М.К. Smatti и соавт. [47], а в однораундовом варианте. При этом использовали праймеры, ранее предназначавшиеся для первого раунда: А1 5'-AGT CAT AGT AGC TTA GCT GAA-3' и А2 5'-ССА TGG ACA ACG ACA CAG T-3' [47]. Состав реакционной смеси общим объемом 25 мкл включал следующие реагенты: праймеры (5 пкМ в реакцию) (ДНК-синтез, Россия); 5-кратный Taq Red буфер 12,5 мМ Mg²⁺ («Евроген», Россия); 5 е.а. Taq-Ф ДНК-полимеразы (ФБУН ЦНИИЭ Роспотребнадзора, Россия); смесь дезоксирибонуклеозидтрифосфатов (до конечной концентрации 0,1 мМ) (Евроген, Россия); деионизированную воду I типа (Milli-Q Integral 3, Франция). В качестве матрицы использовали выделенную ДНК в объеме 5 мкл на реакцию. Условия амплификации: инициация 95°C – 15 мин, 40 циклов (95°C – 5 мин, 53°C – 1 мин, 72°C – 1 мин.), финальная элонгация 72°C – 10 мин. Амплификацию проводили на амплификаторе МахуGene Gradient (Ахуген, США). В результате амплифицировали фрагмент С-концевой области гена *LMP-1* размером 602 п.н. [47]. Продукты ПЦР-амплификации анализировали с помощью электрофореза в 1,8% агарозном геле, содержащем бромид этидия (0,02% по объему). Результаты детектировали на трансиллюминаторе InGenius 3 с использованием программного обеспечения GeneSys (Syngene, Великобритания).

Секвенирование по Сэнгеру фрагмента гена LMP-1 ВЭБ. Выделение и очистку полученных ампликонов *LMP-1* из агарозного геля проводили с помощью коммерческого набора «ФБиоГель» (Фрактал Био, Россия) в соответствии с инструкцией производителя. Конечный объем элюата составил 30 мкл. Концентрацию очищенной ДНК определяли с помощью спектрофотометра Eppendorf BioPhotometer plus (Eppendorf, Германия). В среднем количество ДНК составляло 150–300 нг на образец. Для реакции мечения прямой и обратной последовательностей ДНК флуоресцентными терминальными нуклеотидами использовался набор «Big Dye Terminator v.3.1 Cycle Sequencing Kit» (Applied Biosystems, США). Лабораторный протокол на всех этапах анализа соблюдали согласно инструкции производителя. Очистку меченой ДНК *LMP-1* от компонентов реакционной

смеси проводили с использованием ацетата натрия (рН = 7,0) и изопропанола. Очищенный фрагмент элюировали в 20 мкл HiDi формамида (Applied Biosystems, США). Определение нуклеотидных последовательностей ДНК *LMP-1* осуществлялось на генетическом анализаторе AB-3500 genetic analyzer (Applied Biosystems, США) с использованием оригинального программного обеспечения 3500 Data Collection Software v. 1.0.

Биоинформационный анализ. Биоинформационный анализ данных проводился с помощью открытого программного обеспечения MEGA X (Mega Software, США)¹. Полученные исходные нуклеотидные последовательности выравнивались по алгоритму ClustalW. В качестве референсных служили полученные из базы данных GenBank² последовательности анализируемого участка гена *LMP-1* штаммов B95-8 (V01555.2), *China 1* (AY337723.1), *China 2* (AY337724.1), *Med-* (AY337721.2), *Med+* (AY337722.2), *NC* (AY337726.2), *Alaskan* (AY337725.1). Нуклеотидные последовательности полученных изолятов ВЭБ и референтов транслировались в аминокислотные последовательности по стандартному генетическому коду. Принадлежность исследуемых последовательностей *LMP-1* к определенным вариантам в рамках классификации R.H. Edwards и соавт. [34] устанавливалась по наличию сигнатурных аминокислотных замен (согласно табл. 1 в [34]).

Полученные нуклеотидные последовательности нижегородских изолятов ВЭБ от больных ВЭБ-ИМ детей депонированы в базе данных GenBank/NCBI от 09.08.2022 г. под регистрационными номерами OP105256-OP105376.

Статистическая обработка данных. Статистический анализ выполнен на основе языка программирования R версия 4.1.2 (The R Foundation for Statistical Computing, Inc)³ и среды RStudio версия 2022.02.0+443 «Prairie Trillium» Release (RStudio, PBC)⁴. Числовые данные описывали в виде Me [Q1; Q3], где Me — медиана, а Q1 и Q3 — первый и третий квартиль соответственно. Долю описывали с указанием стандартного отклонения процентной доли (P±σр), в %. Наличие взаимосвязей между факторными переменными оценивали с применением точного теста Фишера. Различия значений количественных переменных в группах сравнения оценивали с применением рангового критерия Манна–Уитни с поправкой Бенджамини–Хохберга на множественные

¹ URL: <https://www.megasoftware.net>

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

³ URL: <https://www.R-project.org>

⁴ URL: <http://www.rstudio.com>

сравнения. Различия анализируемых признаков описывали с указанием Δ ($DI = CI_{II} - CI_{Iul}$), где Δ — разница положений распределений, CI_{II} и CI_{Iul} — нижняя и верхняя границы 95% доверительного интервала (ДИ) разницы. Результат считали статистически значимым при скорректированном $p < 0,05$.

При оценке взаимосвязи особенностей клинического течения ВЭБ-ИМ с молекулярно-генетическими вариантами LMP-1 вируса из всей совокупности клинико-лабораторных данных о каждом пациенте поэтапно по разработанному нами алгоритму были выделены три категории признаков: исходные, анализируемые и значимые. На первом этапе исходные качественные параметры (клинические симптомы) выражали в ранговых единицах (категориях) 0/1/2, при этом оценку степени тяжести проводили по алгоритму О.А. Поповой и соавт. [13], где 0 обозначал отсутствие или слабо выраженный признак, 1 — умеренно выраженный признак, 2 — значительно выраженный признак. Количественные параметры (результаты лабораторных исследований) для нивелирования возможных различий, обусловленных полом и возрастом пациентов, также выражали в категориях $(-1)/0/1$, где (-1) соответствовал значениям ниже возрастной и половой нормы, 0 — значениям в пределах возрастной и половой нормы, 1 — значениям, превышающим возрастную и половую норму.

По результатам нормализации неизменяющиеся признаки из последующего анализа исключались. Оценка взаимосвязи проводилась на основе анализируемых параметров (32 признака и сформированные из них 8 групп признаков), представленных в табл. 1.

Для оценки комплекса анализируемых признаков применяли множественный факторный анализ (Multiple Factor Analysis, МФА) [27]. При этом использовали два первых измерения (две первые компоненты), суммарно объясняющих 32,36% дисперсии. Значимость переменных групп признаков и каждого признака по отдельности оценивали, анализируя их вклад (contribution). Значимыми считали переменные, чей вклад в компоненты превышал средний рассчитанный (вклад, который делала бы каждая переменная при условии равенства их значимости). Незначимые переменные из дальнейшего анализа исключали.

Среди полученных и охарактеризованных по вариантам (согласно классификации R.H. Edwards и соавт. [34]) и субвариантам (на основе выявленных делеций, аминокислотных замен и числа тандемных повторов) нижегородских изолятов ВЭБ для последующего анализа отбирали только такие, которые выявлялись у трех и более больных детей. Для каждого вари-

анта и субварианта LMP-1 оценивали различия суммы баллов по группам признаков или по совокупности установленных значимых признаков. Баллы признаков суммировали по модулю.

Результаты

Молекулярно-генетическая характеристика ВЭБ у детей при ВЭБ-ИМ

Анализ молекулярно-генетического разнообразия нижегородских изолятов ВЭБ из лейкоцитов крови и слюны детей при ВЭБ-ИМ проводился по нескольким направлениям: определение типа вируса, варианта и субварианта LMP-1. По результатам типирования ВЭБ на основе гена *EBNA-2* была выявлена принадлежность всех полученных изолятов только к одному типу вируса — ВЭБ-1.

Также во всех положительных на ДНК ВЭБ (по результатам ПЦР-РВ) пробах была проведена амплификация С-концевого фрагмента гена *LMP-1* с последующим секвенированием продуктов ПЦР-реакции. Всего было получено 123 сиквенса С-концевого фрагмента гена *LMP-1* ВЭБ от 66 пациентов с ВЭБ-ИМ. Результативность секвенирования ДНК из лейкоцитов крови и слюны составила 93,2% (123 из 132 анализированных последовательностей). Для последующего анализа полученные нуклеотидные последовательности были транслированы в аминокислотные.

На основе классификации ВЭБ по R.H. Edwards и соавт. [34] в нижегородских изолятах вируса у детей с ВЭБ-ИМ было выявлено 4 из 7 известных вариантов LMP-1, а именно: *B95-8*, *China 1*, *NC* и *Med*. Отметим, что изоляты LMP-1 *Med* были представлены исключительно вариантом *Med-* (не содержащий CAO-подобную делецию 10 а.к. в координатах 346–355 а.к.). Варианты LMP-1 *Med+*, *China 2*, *China 3* и *Alaskan* не были обнаружены ни в одном исследованном образце.

По частоте выявления доминирующим вариантом являлся *B95-8* (60,6±6,0% детей с ВЭБ-ИМ). Значительно реже встречались варианты *China 1* (16,7±4,6%), *NC* (16,7±4,6%) и *Med-* (4,5±2,5%). Коинфицирование разными вариантами (в лейкоцитах крови — *China 1*, в слюне — *B95-8*) было установлено только в одном случае ВЭБ-ИМ. У остальных пациентов на момент постановки диагноза в лейкоцитах крови и слюне был выявлен один и тот же вариант LMP-1.

Последующий анализ последовательностей С-концевого участка LMP-1 нижегородских изолятов ВЭБ продемонстрировал выраженное молекулярно-генетическое разнообразие за счет вариативности области тандемных повторов, наличия делеций и аминокислотных замен (табл. 2).

Таблица 1. Группировка анализируемых клинических и лабораторных признаков ВЭБ-ИМ у детей и их обозначение

Table 1. Grouping of analyzed clinical and laboratory signs of EBV-IM in children and their designation

Группа признаков и ее обозначение Group of signs and its designation	Клинические и лабораторные признаки Clinical and laboratory signs	Обозначение признаков Signs designation
Биохимические показатели крови — БХ Biochemical blood indicators — BC	Глюкоза Glucose	01
Синдром цитолиза — ЦИТ Cytolysis syndrome — CYT	Аланинаминотрансфераза Alanine aminotransferase	02
	Аспартатаминотрансфераза Aspartate aminotransferase	03
	Билирубин общий Bilirubin total	04
	Билирубин прямой Bilirubin direct	05
	Билирубин непрямой Bilirubin indirect	06
Гепатоспленомегалия — ГС Hepatosplenomegaly — HS	Увеличение размера печени Liver enlargement	07
	Увеличение размера селезенки Spleen enlargement	08
Лимфаденопатия — ЛА Lymphadenopathy — LA	Увеличение лимфатических узлов Lymph nodes enlargement	09
Гематологические показатели — ГЕМ Hematological indicators — HEM	Эритроциты Erythrocytes	10
	Тромбоциты Platelets	11
	Гемоглобин Hemoglobin	12
	Скорость оседания эритроцитов Erythrocytes sedimentation rate	13
Синдром поражения рото- и носоглотки — ТОН Syndrome of oropharyngeal and nasopharyngeal lesions — TON	Отечность лица Puffiness of the face	14
	Увеличение миндалин Tonsil enlargement	15
	Гиперемия Hyperemia	16
	Налеты Plaques	17
	Заложенность носа Nasal congestion	18
	Храп Snore	19
Синдром интоксикации — ТОКС Syndrome of intoxication — TOX	Вялость Lethargy	20
	Беспокойство Anxiety	21
	Снижение аппетита Decreased appetite	22
	Нарушение сна Sleep disturbance	23
	Приглушенные тоны сердца Muffled heart sounds	24
	Тахикардия Tachycardia	25
	Рвота Vomit	26

Группа признаков и ее обозначение Group of signs and its designation	Клинические и лабораторные признаки Clinical and laboratory signs	Обозначение признаков Signs designation
Лейкоцитарные показатели — ЛЕЙ Leukocyte indicators — LEU	Лейкоциты Leukocytes	27
	Палочкоядерные нейтрофилы Stab neutrophils	28
	Сегментоядерные нейтрофилы Segmented neutrophils	29
	Моноциты Monocytes	30
	Лимфоциты Lymphocytes	31
	Ядерный индекс интоксикации Nuclear Intoxication Index	32

На основе полученных данных были отобраны молекулярно-генетические характеристики LMP-1 ВЭБ, которые встречались у трех и более человек. Именно они составили основные анализируемые субварианты. Одни из них отличались специфичностью для конкретного варианта LMP-1, обуславливая внутри- и межвариантные различия в исследуемой области гена, другие были вариант-независимыми (выявлялись с разной частотой в нескольких вариантах вируса). Так, в число анализируемых вариант-специфичных характеристик нижегородских изолятов LMP-1 *B95-8* вошли аминокислотные замены

D209N, E214D, E328Q, G354S. Наоборот, аминокислотная замена S309N и делеция 5 а.к. (а.к. 276–280) присутствовали во всех нижегородских изолятах *China 1*, *Med-* и *NC*, но не в *B95-8*. Только в последовательностях *China 1* были обнаружены делеция 10 а.к. (а.к. 346–355) и аминокислотные замены E214Q, Q332N, а в *NC* — L306Q, S313P, Q322T, L338P, G335D и D250N+G331Q+H358P. Независимо от варианта LMP-1 встречались такие мутации как G212S (*B95-8*, *China 1*, *Med-*, *NC*), S229T (*Med-*, *NC*), Q334R (*China 1*, *Med-*, *NC*), L338S (*China 1*, *Med-*), H352R (*B95-8*, *Med-*), а также тандемные повторы $\leq 4,5$ или $\geq 5,0$.

Таблица 2. Молекулярно-генетическая характеристика С-концевой области LMP-1 нижегородских изолятов ВЭБ от детей при инфекционном мононуклеозе (относительно прототипного штамма *B95-8*)

Table 2. Molecular and genetic characteristics of LMP-1 C-terminal region in Nizhny Novgorod region EBV isolates from children with infectious mononucleosis (relative to the prototypic strain *B95-8*)

		Варианты LMP-1 ВЭБ/EBV LMP-1 variants			
		<i>B95-8</i> (n = 40)	<i>China 1</i> (n = 11)	<i>Med-</i> (n = 3)	<i>NC</i> (n = 11)
Референсные последовательности Reference sequences	Номер регистрации в GenBank GenBank accession number	V01555.2	AY337723.1	AY337721.2	AY337726.2
	Аминокислотные замены Amino acid substitutions	Прототипный штамм с нулевым уровнем мутаций Zero Mutation Prototype Strain	G212S S309N Q322N Q334R L338S S366T	S229T S309N Q322E Q334R L338S H352R S366T	G212S L306Q S309N S313P Q322T G331Q L338P H352N H358P S366T
	Делеции Deletions		5 а.к. а.к. 276–280 10 а.к. а.к. 346–355 5 аа. аа. 276–280 10 аа. аа. 346–355	5 а.к. а.к. 276–280 5 аа. аа. 276–280	5 а.к. а.к. 276–280 5 аа. аа. 276–280
	Тандемные повторы Tandem repeats	4,5	4,0	4,0	4,0

Окончание таблицы 2. Молекулярно-генетическая характеристика С-концевой области LMP-1 нижегородских изолятов ВЭБ от детей при инфекционном мононуклеозе (относительно прототипного штамма B95-8)

Table 2. Molecular and genetic characteristics of LMP-1 C-terminal region in Nizhny Novgorod region EBV isolates from children with infectious mononucleosis (relative to the prototype strain B95-8) (continued)

		Варианты LMP-1 ВЭБ/EBV LMP-1 variants			
		B95-8 (n = 40)	China 1 (n = 11)	Med- (n = 3)	NC (n = 11)
Нижегородские изоляты ВЭБ EBV isolates from Nizhny Novgorod region	Перечень аминокислотных замен (n) List of amino acid substitutions (n)	A207P (1) D209H (5) D210A (1) D210Y (1) G212S (37) E214D (3) E214K (2) E214N (1) H225R (2) G243A (1) D250N (1) G252A (1) D296E (1) G315E (1) D317Y (1) E328Q (40) D349N (2) G351S (1) H352K (1) H352R (2) G354S (3) G355N (1) G355V (1) D356N (1) P357S (1) T361K (1) T361M (1) L364W(1) S366A (1) S366T (39)	G212S (11) E214Q (5) D288G (1) S309N (11) D317Y (1) Q322N (11) E326D (2) Q334R (11) L338S (11) S366A (1) S366T (11)	G212S (3) S229T (3) G246E (1) G252A (1) D277G (2) D282G (2) N289D (1) D293G (1) D304G (1) S309N (3) Q322D (1) Q322E (2) V327D (1) D333H (1) Q334K (1) Q334R (2) P337A (1) L338S (3) D349N (1) H352R (2) S366T (3)	G212S(11) S229T (2) G243A (1) D250N (10) L306Q (11) S309N (11) S313P (11) Q322T (11) G331Q (10) Q334R (2) G335D (5) L338P (11) H352N (9) H358P (9) P357Q (1) T361M (1) S366T (11) G368S (1)
	Делеции (n) Deletions (n)	21 а.к. (1) а.к. 335–355 21 аа. (1) аа. 335–355	5 а.к. (11) а.к. 276–280 10 а.к. (11) а.к. 346–355 5 аа. (11) аа. 276–280 10 аа. (11) аа. 346–355	2 а.к. (1) а.к. 215–216 5 а.к. (3) а.к. 276–280 2 аа. (1) аа. 215–216 5 аа. (3) аа. 276–280	5 а.к. (11) а.к. 276–280 5 аа. (11) аа. 276–280
	Тандемные повторы (n) Tandem repeats (n)	4,5 (38) 5,5 (2)	3,0 (1) 5,0 (9) 6,0 (1)	4,0 (1) 5,0 (1) 7,0 (1)	3,0 (5) 3,5 (1) 4,0 (3) 6,0 (2)

Примечание. Жирным шрифтом выделены молекулярно-генетические признаки, которые совпадали с соответствующей референсной последовательностью. В скобках указано число пациентов (n).

Note. Molecular genetic characteristics that matched the corresponding reference sequence are shown in bold. The number of patients is shown in parentheses (n).

Оценка взаимосвязи вариантов и субвариантов LMP-1 ВЭБ с клинико-лабораторными проявлениями ВЭБ-ИМ у детей

Клиническая картина ВЭБ-ИМ у детей характеризовалась типичным течением. Такие ведущие синдромы как лихорадка, интоксикация, лимфаденопатия и поражение рото- и носоглотки присутствовали у всех пациентов, гепатоспленомегалия развилась у $91,3 \pm 3,4\%$ детей. Несмотря на то, что все анализируемые случаи ВЭБ-ИМ у детей были ассоциированы только с ВЭБ-1, применение алгоритма балльной оценки степени тяжести ИМ, разработанного О.А. Поповой и соавт. [13] показало, что выраженность отдельных клинических и лабораторных признаков ИМ и рассчитанная сумма баллов степени тяжести заболевания индивидуально для каждого пациента варьировала от 15,5 до 35,5 баллов. Кроме того, у $8,7 \pm 3,4\%$ детей с общей суммой баллов, равной 29,0 и выше, была верифицирована тяжелая форма заболевания. Остальные дети перенесли ВЭБ-ИМ средней степени тяжести (оценивается в интервале от 15,0 до 28,0 баллов).

Полученные данные о различной выраженности клинических и лабораторных признаков ВЭБ-ИМ у наблюдаемых нами детей стали предпосылками для продолжения исследований, направленных на поиск взаимосвязи особенностей клинического течения инфекции и генетической гетерогенности вирусной популяции ВЭБ-1. Мы предполагали, что симптомы заболевания и тяжесть их проявлений могут быть обусловлены известными вариантами LMP-1, а также другими молекулярно-генетическими характеристиками вируса, которые не ограничиваются только их группировкой по вариантам, описанным в классификации R.H. Edwards и соавт. [34].

По разработанному нами алгоритму была проведена оценка взаимосвязи выявленных молекулярно-генетических характеристик ВЭБ с особенностями проявлений ВЭБ-ИМ у детей по 32 анализируемым признакам и 8 группам признаков (табл. 1). На первом этапе исследования МФА показал, что в рамках двух первых компонент выделяются два ключевых фактора, ассоциированных с различиями клинико-лабораторных проявлений ВЭБ-ИМ: возраст пациента и вариант вируса (рис. 1). Как видно на рис. 1, в координатах двух первых компонент пациенты младшей (до 6 лет) и старшей (6 и более лет) возрастных групп формировали противопоставленные кластеры с барицентрами во втором и четвертом квадрантах. Вдоль оси второй компоненты наблюдали формирование субкластеров пациентов, инфицированных разными вариантами LMP-1 ВЭБ. Таким образом, рис. 1 демонстрирует, что первая компонента

характеризует разнообразие клинических и лабораторных признаков ВЭБ-ИМ у пациентов в зависимости от возраста, а вторая — в зависимости от инфицирующего варианта вируса.

Далее нами были проанализированы клинико-лабораторные признаки, вносящие значимый вклад в формирование второй компоненты. В результате показано, что в ее формирование значимый вклад внесли такие группы признаков как синдром интоксикации и гематологические показатели (рис. 2А), а также значимые переменные признаки: концентрация гемоглобина, увеличение лимфоузлов, беспокойство, отечность лица, снижение аппетита, нарушение сна, вялость, уровень глюкозы, увеличение селезенки и количество моноцитов (рис. 2Б).

Обобщая полученные данные МФА (рис. 1 и рис. 2А), отметим, что в контексте первой компоненты возраст пациента оказывает влияние преимущественно на степень выраженности цитолитического синдрома, в то время как анализ второй компоненты указывает на то, что различные варианты LMP-1 детерминируют разную выраженность синдрома интоксикации. Основываясь на расположении барицентров пациентов в координатах второго измерения, инфицирование вариантами *China 1*

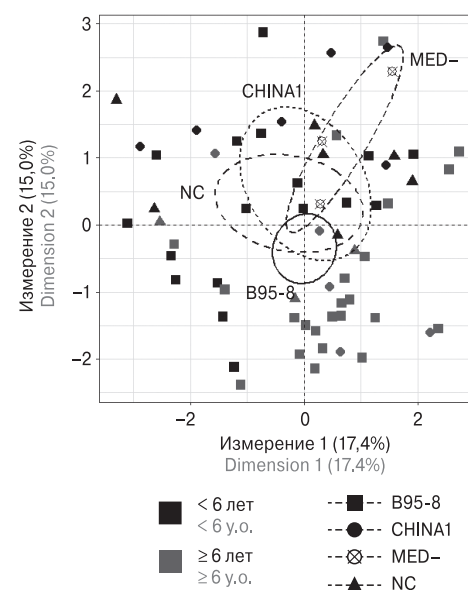


Рисунок 1. Расположение пациентов с ВЭБ-ИМ в координатах двух первых измерений. Эллипсами показан 95% доверительный интервал барицентра местоположений пациентов с соответствующим вариантом LMP-1 в координатах измерений

Figure 1. A position of patients with EBV-IM in the coordinates of the first two measurements. Ellipses show the 95% confidence interval of the barycenter of patient locations with the corresponding LMP-1 variant in measurement coordinates

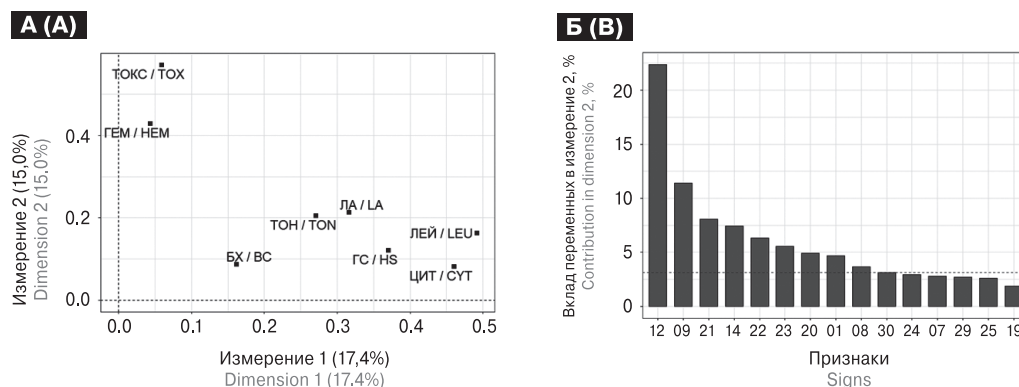


Рисунок 2. Характеристики групп признаков и значимых признаков ВЭБ-ИМ у детей

Figure 2. Characteristics of groups of signs and significant signs of EBV-IM in children

Примечание. А — расположение переменных групп признаков в координатах двух первых измерений. Б — вклад переменных признаков в состав второго измерения. Пунктирной линией обозначен уровень среднего рассчитанного вклада (3,1%). Отображены 15 переменных с наибольшим вкладом. Обозначения признаков и групп признаков представлено в таблице 1.

Note. A — the location of the variable groups of signs in the coordinates of the first two dimensions. B — the contribution of variable signs to the composition of the second dimension. The dotted line indicates the level of the average calculated contribution (3.1%). The 15 variable signs with the largest contribution are displayed. Designations of signs and groups of signs are presented in Table 1.

и *Med*— ассоциировано с наиболее выраженными, а *B95-8* — с наименее выраженными проявлениями синдрома интоксикации у детей.

На заключительном этапе проведена оценка различий выраженности клинико-лабораторных признаков и групп признаков, вносящих весомый вклад во вторую компоненту, у пациентов с различными вариантами и субвариантами LMP-1 ВЭБ. В результате выявлены статистически значимые различия (скорректированный $p < 0,05$) по сумме баллов синдрома интоксикации для варианта *B95-8* и субвариантов, содержащих аминокислотные замены E214D, L338S, а также по сумме баллов совокупности значимых признаков для вариантов *B95-8*, *Med*— и субвариантов с мутациями S229T, L338S (табл. 3).

Выявлено, что при инфицировании вариантом *B95-8* по сравнению с другими вариантами LMP-1 вируса, ВЭБ-ИМ у детей характеризовался менее выраженными проявлениями син-

дрома интоксикации и суммы баллов значимых признаков в целом, что соответствовало более легкому течению заболевания. При этом с еще меньшей выраженностью синдрома интоксикации были ассоциированы случаи ВЭБ-ИМ, вызванные субвариантом, содержащим аминокислотную замену E214D (выявлена в 8% последовательностей ДНК изолятов *B95-8*).

Наоборот, утяжеление синдрома интоксикации и проявлений одновременно всех значимых признаков ВЭБ-ИМ наблюдали у пациентов, инфицированных субвариантом, содержащим аминокислотную замену L338S (сигнатурная аминокислотная замена, характеризующая варианты *China 1* и *Med*—). Кроме того, при инфицировании вариантом *Med*— или субвариантом, содержащим аминокислотную замену S229T (выявлена в 100% изолятов *Med*— (сигнатурная замена) и 18% изолятов *NC*), сумма баллов всех значимых признаков ВЭБ-ИМ также была выше

Таблица 3. Различия суммы баллов всех значимых признаков и групп признаков ВЭБ-ИМ при инфицировании вирусом с разными молекулярно-генетическими характеристиками LMP-1

Table 3. Differences in the sum of scores of all significant signs and groups of signs of EBV-IM in case of infection with a virus with different molecular genetic characteristics of LMP-1

Вариант/субвариант Variant/Subvariant	Δ (95% ДИ) (нет—есть)/Δ (95% CI) (absent—present)	
	Сумма баллов всех значимых признаков Sum of scores of all significant signs	Сумма баллов синдрома интоксикации Sum of scores of intoxication syndrome
<i>B95-8</i>	2 (1–4)	2 (0–3)
<i>Med</i> —	–4 (–8 – 0)	–
E214D	–	3 (0–6)
S229T	–4 (–6 – –1)	–
L338S	–2 (–4 – 0)	–2 (–4 – 0)

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

Note. Only significant differences are shown ($p < 0.05$).

по сравнению с другими вариантами или субвариантами LMP-1 ВЭБ. Суммарно доля случаев инфицирования вариантом *Med*- и субвариантами, несущими аминокислотные замены L338S и S229T, составила 24,6%. Дополнительно отметим, что только при инфицировании субвариантом LMP-1, несущим аминокислотную замену S229T, было установлено статистически значимое превышение в 7 раз концентрации вирусной ДНК в лейкоцитах крови по отношению к случаям ВЭБ-ИМ, вызванным вирусом с другими молекулярно-генетическими характеристиками (790 (95% ДИ: 39–2781) копий ДНК ВЭБ/10⁵ клеток, $p = 0,038$). При этом медиана вирусной нагрузки составила 1105 [297; 2848] против 158 [70; 481] копий ДНК ВЭБ/10⁵ клеток.

Таким образом, полученные результаты свидетельствуют о том, что особенности клинико-лабораторных проявлений ВЭБ-ИМ у детей могут зависеть от молекулярно-генетических характеристик вируса. При этом отдельные типичные признаки заболевания и степень их выраженности ассоциированы с конкретным вариантом или субвариантом LMP-1. В анализируемой группе детей ВЭБ-ИМ протекал легче и с меньшей выраженностью синдрома интоксикации в случаях инфицирования вирусом, имеющим молекулярно-генетический профиль (тип/вариант/субвариант) ВЭБ-1/*B95-8*, в частности ВЭБ-1/*B95-8/E214D*. В то время как ВЭБ-1/*Med*-, а также ВЭБ-1/*Med*-/*L338S*, ВЭБ-1/*Med*-/*S229T*, ВЭБ-1/*China 1/L338S* и ВЭБ-1/*NC/S229T*, по сравнению с другими вариантами вируса, были ассоциированы с более тяжелым течением инфекции.

Обсуждение

Особенности клинико-лабораторных проявлений ИМ при инфицировании разными типами и молекулярно-генетическими вариантами ВЭБ остаются мало изученным вопросом, особенно у детей. Впервые в РФ нами проведено исследование, посвященное оценке клинической значимости генетического разнообразия ВЭБ при ИМ.

Оптимизированный нами ранее методический подход к дифференциальной детекции ВЭБ-1 и ВЭБ-2 на основе метода ПЦР [14, 16] позволил оценить типовую структуру вируса при ВЭБ-ИМ у детей, проживающих в Нижегородской области. При этом во всех клинических случаях в лейкоцитах крови и в слюне был выявлен только ВЭБ-1. Тип ВЭБ-2 не был обнаружен ни в одном исследованном образце. Отметим, что в наших предыдущих исследованиях в нижегородской популяции встречались единичные случаи обнаружения ВЭБ-2 в лейкоцитах крови условно здоровых детей [14].

Полученные нами результаты соответствуют данным немногочисленных зарубежных публикаций, свидетельствующих о том, что ИМ чаще ассоциирован с типом ВЭБ-1 [25, 26, 41, 42]. Однако характеристика клинико-лабораторных особенностей ИМ при инфицировании разными типами вируса у детей отсутствует. Ранее сообщалось, что у лиц 14 лет и старше при инфицировании ВЭБ-1 активность аланинаминотрансферазы, аспаратаминотрансферазы, гамма-глутамилтранспептидазы была значительно выше по сравнению с теми, у кого был выявлен ВЭБ-2 или коинфекция обоими типами вируса [42]. Основная часть исследований фенотипических характеристик ВЭБ-1 и ВЭБ-2 до сих пор была посвящена изучению их трансформирующей активности и роли в канцерогенезе [36, 44].

Классификация ВЭБ, основанная только на типах вируса, не позволяет полностью учитывать все его естественное разнообразие (современный обзор представлен в [15]). Полученные нами результаты оценки молекулярно-генетического разнообразия С-концевой области LMP-1 ВЭБ в крови и слюне детей с ВЭБ-ИМ, проживающих на территории Нижегородской области, значительно расширяют существующие представления о генетической гетерогенности вируса в целом.

Выявление четырех из семи охарактеризованных R.H. Edwards и соавт. вариантов LMP-1 (*B95-8*, *China 1*, *Med*- и *NC*) соответствовало описанному распределению в Европейской части России, с доминированием низкодивергентного варианта *B95-8* (данные по взрослым вирусносителям) [2, 17, 19]. По данным зарубежной литературы, структура популяции и преобладающий вариант LMP-1 ВЭБ при ИМ у детей в разных географических регионах мира значительно варьируют, при этом определенного варианта LMP-1, ассоциированного только с ИМ, не выявлено [26, 35, 40, 41]. Как показали собственные исследования, возбудителем ИМ являлся, как правило, один из вариантов вируса. Коинфицирование разными вариантами LMP-1 при ВЭБ-ИМ у детей в проведенном нами исследовании было редким событием. Аналогичные результаты отражены в работах научно-исследовательских групп из Китая и Аргентины [25, 41]. Вместе взятые, они контрастируют с данными других авторов, указывающих на возможность множественного инфицирования разными штаммами ВЭБ, результаты которых были получены не с помощью методов секвенирования, а на основе применения гетеродуплексного анализа [35, 40].

Проведенный нами детальный анализ аминокислотных последовательностей позволил выявить широкий спектр мутаций С-концевой

области LMP-1 в нижегородских изолятах ВЭБ (в соответствии с табл. 2). Наиболее распространенные из них ранее были достаточно хорошо охарактеризованы в работах как зарубежных, так и российских исследователей. В первую очередь это относится к сигнатурным аминокислотным заменам, которые специфичны для разных вариантов LMP-1 [34]. Делеция 30 п.н., кодирующая 10 а.к. в координатах 346–355 а.к., известная своим высоким трансформирующим потенциалом *in vitro* и *in vivo*, была выявлена исключительно в штаммах *China 1* (100%), что соответствует его принадлежности к так называемым CAO-подобным штаммам. Наличие двойных аминокислотных замен G212S/S366T и уникальной E328Q в последовательностях LMP-1 B95-8 ранее было описано как набор мутаций, характерных для российских изолятов ВЭБ (данные по взрослым здоровым вирусонесителям и онкологическим больным) [2, 17, 19].

В нашем исследовании продемонстрирована существенная вариабельность области тандемных повторов LMP-1 (а.к. 253–306) по числу (от 3,5 до 7,0) повторяющихся мотивов из 11 а.к. (идеальный мотив PQDPDNTDDNG) и аминокислотным заменам в них, а также по наличию и местоположению между ними мотива из 5 а.к. (PHDPL, а.к. 275–279). Только изоляты *Med*– имели типичное для них чередование идеальных и модифицированных (присутствует замена аспарагиновой кислоты на глицин в третьем положении аминокислоты в элементе — D277G, D282G, D293G, D304G) мотивов из 11 а.к. Отличительной особенностью нижегородских изолятов ВЭБ явилось то, что мотив из 5 а.к. (а.к. 275–279) отсутствовал во всех без исключения последовательностях *China 1*, *Med*– и *NC*. Отметим, что в работе зарубежных авторов данный мотив встречался в разных вариантах LMP-1 ВЭБ, в том числе в изолятах, установленных от детей с ИМ [41]. Значительная часть других выявленных в нашем исследовании мутаций встречались спорадически и остаются фенотипически не охарактеризованными.

Ранее только в одном исследовании была проведена оценка связи клинических особенностей ИМ у детей с разными молекулярно-генетическими характеристиками LMP-1 ВЭБ. Было показано, что повышение аланинаминотрансферазы и аспаратаминотрансферазы происходило при инфицировании ВЭБ, у которого в тандемных последовательностях LMP-1 насчитывалось 3 или 4 повтора [26]. Однако в нашем исследовании эти данные не подтвердились. Кроме того, МФА показал, что на степень выраженности цитолитического синдрома оказывает влияние преимущественно возраст детей. Именно эта возрастная особенность наи-

более часто отмечалась в многочисленных клинических наблюдениях за больными ИМ [1, 11, 22, 23]. А в одной из работ российских авторов было установлено, что достижение ребенком возраста 5,5 лет на фоне ВЭБ-инфекции приводит к повышению в 1,5 раза риска развития гепатита с синдромом цитолиза [11].

На основе проведенного МФА клинико-лабораторных показателей нами впервые были определены синдромы и отдельные признаки (симптомы) ВЭБ-ИМ у детей, выраженность которых обусловлена геновариантом вируса. В числе значимых были определены синдром интоксикации, а на уровне отдельных признаков — увеличение лимфоузлов, беспокойство, отечность лица, снижение аппетита, нарушение сна, вялость, увеличение селезенки, изменение концентрации гемоглобина, глюкозы и количества моноцитов. Кроме того, оценка влияния определенных вариантов и субвариантов LMP-1 вируса на течение ИМ позволила получить новые данные о клинической значимости генетического разнообразия ВЭБ. Установлено, что у пациентов, инфицированных вариантом LMP-1 B95-8, ВЭБ-ИМ протекает легче и с наименее выраженным синдромом интоксикации. В то время как инфицирование вариантом *Med*– и субвариантами, несущими аминокислотные замены L338S и S229T, было ассоциировано с более тяжелыми случаями заболевания, доля которых суммарно составила 24,6% (каждый четвертый из госпитализированных детей). Мутация L338S (присутствует в 100% штаммов *China 1* и *Med*–) к тому же была связана с более выраженными проявлениями интоксикации. Случаи инфицирования субвариантом ВЭБ, несущим мутацию S229T (встречалась в штаммах *Med*– и *NC*), отличались наибольшей вирусной нагрузкой в лейкоцитах крови. На наш взгляд, важным аспектом является изучение функциональных свойств именно этих мутаций, в том числе с учетом данных недавно проведенных масштабных исследований, продемонстрировавших повышенный риск развития злокачественных новообразований у лиц, перенесших ВЭБ-ИМ в анамнезе, особенно в тяжелой форме (был установлен более чем 10-кратный риск) [29, 45].

Заключение

Впервые в РФ проведена оценка клинической значимости генетического разнообразия ВЭБ при ИМ у детей.

Показано, что не только варианты LMP-1 ВЭБ как таковые, но и более детальные характеристики вируса (например, аминокислотные замены и другие) могут влиять на течение ВЭБ-ИМ.

Установлена взаимосвязь определенных вариантов и субвариантов LMP-1 ВЭБ, циркулирующих на территории Нижегородской области, с клинико-лабораторными проявлениями ИМ у детей. В анализируемой группе детей ВЭБ-ИМ протекал легче и с меньшей выраженностью синдрома интоксикации при инфицировании вирусом, имеющим молекулярно-генетический профиль ВЭБ-1/B95-8, в частности ВЭБ-1/B95-8/E214D. Случаи более тяжелого течения инфекции были ассоциированы с ВЭБ-1/Med-, ВЭБ-1/Med-/L338S, ВЭБ-1/Med-/S229T, ВЭБ-1/China 1/L338S и ВЭБ-1/NC/S229T (суммарно 24,6% госпитализированных пациентов).

По результатам проведенного исследования предлагается следующий алгоритм дифференциальной диагностики клинической значимости разных вариантов ВЭБ. На первом этапе методом МФА по двум первым осям определяют наличие различий между наборами нормализованных клинических и лабораторных признаков ИМ в зависимости от варианта ВЭБ. Далее

выделяют группы симптомов и симптомы, обладающие максимальной значимостью для выявленных различий. На заключительном этапе, применяя методы традиционной статистики, исследуют различия значений наборов симптомов при инфицировании определенными вариантами ВЭБ.

Полученные результаты имеют важную практическую направленность, позволяя выявлять группы риска в зависимости от особенностей течения заболевания при инфицировании различными вариантами ВЭБ, а также с точки зрения оптимизации и индивидуализации ведения и лечения пациентов. Оценка генетического разнообразия ВЭБ лежит в основе перспективной разработки средств специфической профилактики и терапии ВЭБ-инфекции. 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. Антонова М.В., Кашуба Э.А., Дроздова Т.Г., Любимцева О.А., Ханипова Л.В., Огошкова Н.В., Чехова Ю.С. Сравнительная характеристика клинического течения и лабораторных данных первичной Эпштейна–Барр вирусной инфекции и ее реактивации у детей различных возрастных групп // Вестник совета молодых ученых и специалистов Челябинской области. 2016. Т. 2, № 3 (14). С. 19–24. [Antonova M.V., Kashuba E.A., Drozdova T.G., Lyubimtseva O.A., Khanipova L.V., Ogoshkova N.V., Chekhova Yu.S. Comparative characteristics of the clinical course and laboratory parameters of the primary and reactivation of Epstein–Barr virus infection in children of different ages groups. *Vestnik soveta molodykh uchonykh i spetsialistov Chelyabinskoy oblasti = Bulletin of the Council of Young Scientists and Specialists of the Chelyabinsk Region, 2016, vol. 2, no. 3, pp. 19–24. (In Russ.)*]
2. Гончарова Е.В., Сенюта Н.Б., Смирнова К.В., Щербак Л.Н., Гурцевич В.Э. Вирус Эпштейна–Барр (ВЭБ) в России: инфицированность населения и анализ вариантов гена LMP1 у больных ВЭБ-ассоциированными патологиями и у здоровых лиц // Вопросы вирусологии. 2015. Т. 60, № 2. С. 11–17. [Goncharova E.V., Senyuta N.B., Smirnov K.V., Shcherbak L.N., Gurtsevich V.E. Epstein–Barr virus (EBV) in Russia, the infection of the population and the analysis of gene LMP1 variants at the patients with EBV-associated disease and at healthy patients. *Voprosy virusologii = Problems of Virology, 2015, vol. 60, no. 2, pp. 11–17. (In Russ.)*]
3. Гурцевич В.Э., Лубенская А.К., Сенюта Н.Б., Душенькина Т.Е., Смирнова К.В. Вирус Эпштейна–Барр (Herpesviridae: Gammaherpesvirinae: Lymphocryptovirus: Human gammaherpesvirus 4) у калмыков и славян, проживающих на территории России: типы вируса, варианты онкогена LMP1 и злокачественные опухоли // Вопросы вирусологии. 2022. Т. 67, № 3. С. 246–257. [Gurtsevich V.E., Lubenskaya A.K., Senyuta N.B., Dushenkina T.E., Smirnova K.V. Epstein–Barr virus (Herpesviridae: Gammaherpesvirinae: Lymphocryptovirus: Human gammaherpesvirus 4) in Kalmyks and Slavs living in Russia: virus types, LMP1 oncogene variants, and malignancies. *Voprosy virusologii = Problems of Virology, 2022, vol. 67, no. 3, pp. 246–257. (In Russ.)* doi: 10.36233/0507-4088-120
4. Демина О.И., Чеботарева Т.А., Мазанкова Л.Н., Тетова В.Б., Учаева О.Н. Клинические проявления инфекционного мононуклеоза при первичной или реактивированной герпесвирусной инфекции // Российский вестник перинатологии и педиатрии. 2020. Т. 65, № 1. С. 37–44. [Demina O.I., Chebotareva T.A., Mazankova L.N., Tetova V.B., Uchaeva O.N. Clinical manifestations of infectious mononucleosis in primary or reactivated herpes virus infection. *Rossiiskii vestnik perinatologii i pediatrii = Russian Bulletin of Perinatology and Pediatrics, 2020, vol. 65, no. 1, pp. 37–44. (In Russ.)* doi: 10.21508/1027-4065-2020-65-1-37-44
5. Демина О.И., Тихомиров Д.С., Чеботарева Т.А., Мазанкова Л.Н., Туполева Т.А. Клиническая значимость вирусологических методов верификации этиологии инфекционного мононуклеоза // Детские инфекции. 2020. Т. 19, № 2. С. 29–37. [Demina O.I., Tikhomirov D.S., Chebotareva T.A., Mazankova L.N., Tupoleva T.A. Clinical relevance of virological verification methods for the etiology of infectious mononucleosis. *Detskie infektsii = Children Infections, 2020, vol. 19, no. 2, pp. 29–37. (In Russ.)* doi: 10.22627/2072-8107-2020-19-2-29-37
6. Демина О.И., Чеботарева Т.А., Мазанкова Л.Н., Тетова В.Б., Учаева О.Н. Инфекционный мононуклеоз у детей: клинико-лабораторная характеристика в зависимости от этиологии и фазы инфекционного процесса // Инфекционные болезни. 2020. Т. 18, № 3. С. 62–72. [Demina O.I., Chebotareva T.A., Mazankova L.N., Tetova V.B., Uchaeva O.N. Infectious mononucleosis in children: clinical and laboratory characteristics depending on the disease etiology and phase of infection. *Infektsionnye bolezni = Infectious Diseases, 2020, vol. 18, no. 3, pp. 62–72. (In Russ.)* doi: 10.20953/1729-9225-2020-3-62-72

7. Дидук С.В., Смирнова К.В., Павлиш О.А., Гурцевич В.Э. Роль функционально значимых мутаций гена LMP1 вируса Эпштейна–Барр в активации клеточных сигнальных путей // Биохимия. 2008. Т. 73, № 10. С. 1414–1421. [Diduk S.V., Smirnova K.V., Pavlish O.A., Gurtsevitch V.E. Functionally significant mutations in Epstein–Barr virus LMP1 gene and their role in activation of cell signaling pathways. *Biokhimiya = Biochemistry*, vol. 72, no. 10, pp. 1414–1421. (In Russ.)]
8. 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)
9. Михнева С.А., Гришина Ю.Ю., Кухтевич Е.В., Мартынов Ю.В. Инфекционный мононуклеоз: характеристика проявлений эпидемического процесса // Инфекционные болезни: новости, мнение, обучение. 2017. № 5. С. 61–64. [Michneva S.A., Grishina Yu.Yu., Kukhtevich E.V., Martynov Yu.V. Infectious mononucleosis, epidemic process. *Infektsionnyye bolezni: novosti, mneniye, obucheniye = Infectious Diseases: News, Opinions, Training*, 2017, no. 5, pp. 61–64. (In Russ.)] doi: 10.24411/2305-3496-2017-00086
10. О состоянии санитарно-эпидемиологического благополучия населения в Российской Федерации в 2020 году: Государственный доклад. М.: Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, 2021. 256 с. [On the state of sanitary and epidemiological well-being of the population in the Russian Federation in 2020: State report. *Moscow: Federal Service for Surveillance on Consumer Rights Protection and Human Wellbeing*, 2021. 256 p. (In Russ.)]
11. Пермякова А.В., Сажин А.В., Мелехина Е.В., Горелов А.В. Возможности биологического и математического моделирования инфекции, вызванной вирусом Эпштейна–Барр // Педиатрия. 2020. Т. 99, № 6. С. 226–231. [Permyakova A.V., Sazhin A.V., Melekhina E.V., Gorelov A.V. Possibilities of biological and mathematical modeling of the infection caused by Epstein–Barr virus. *Pediatrics = Pediatrics*, 2020, vol. 99, no. 6, pp. 226–231. (In Russ.)] doi: 10.24110/0031-403X-2020-99-6-226-231
12. Покровский В.Н., Пак С.Г., Брико Н.И., Данилкин Б.К. Инфекционные болезни и эпидемиология. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2007. 816 с. [Pokrovsky V.N., Pak S.G., Briko N.I., Danilkin B.K. *Infektsionnyye bolezni i epidemiologiya* [Infectious diseases and epidemiology]. *Moscow: GEOTAR-Media*, 2007. 816 p.]
13. Попова О.А., Хохлова З.А. Критерии оценки степени тяжести инфекционного мононуклеоза у детей // Детские инфекции. 2019. Т. 18, № 1. С. 56–59. [Popova O.A., Khokhlova Z.A. Criteria for assessing the severity of infectious mononucleosis in children. *Detskie infektsii = Children Infections*, 2019, vol. 18, no. 1, pp. 56–59. (In Russ.)] doi: 10.22627/2072-8107-2019-18-1-56-59
14. 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 иммунитет = Russian Journal of Infection and Immunity*, 2021, vol. 11, no. 6, pp. 1057–1066. (In Russ.)] doi: 10.15789/2220-7619-MBF-1661
15. 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
16. Попкова М.И., Уткин О.В., Брызгалова Д.А., Сенатская А.О., Соболева Е.А., Сахарнов Н.А., Филатова Е.Н., Кулова Е.А. Методические подходы к дифференциальной детекции ВЭБ-1/ВЭБ-2 и ВГЧ-6А/ВГЧ-6В в слюне // Инфекция и иммунитет. 2022. Т. 12, № 3. С. 461–474. [Popkova M.I., Utkin O.V., Bryzgalova D.A., Senatskaia A.O., Soboleva E.A., Sakharnov N.A., Filatova E.N., Kulova E.A. Methodological approaches to differential detection of EBV1/EBV2 and HHV6A/HHV6B in saliva. *Infektsiya i иммунитет = Russian Journal of Infection and Immunity*, 2022, vol. 12, no. 3, pp. 461–474. (In Russ.)] doi: 10.15789/2220-7619-MAT-1807
17. Сенюта Н.Б., Смирнова К.В., Дидук С.В., Гончарова Е.В., Щербак Л.Н., Гурцевич В.Э. Структурно-функциональная характеристика онкогена LMP1 у больных с опухолями, ассоциированными и не ассоциированными с вирусом Эпштейна–Барр // Молекулярная генетика, микробиология и вирусология. 2016. Т. 34, № 2. С. 71–75. [Senyuta N.B., Smirnova K.V., Diduk S.V., Goncharova E.V., Shcherbak L.N., Gurtsevitch V.E. Structural and functional characteristics of the LMP1 oncogene in patients with tumors associated and not associated with the Epstein–Barr virus. *Molekulyarnaya genetika, mikrobiologiya i virusologiya = Molecular Genetics, Microbiology and Virology*, 2016, vol. 31, no. 2, pp. 87–93. (In Russ.)] doi: 10.18821/0208-0613-2016-34-2-71-75
18. Смирнова К.В., Дидук С.В., Сенюта Н.Б., Гурцевич В.Э. Молекулярно-биологические свойства гена lmp1 вируса Эпштейна–Барр: структура, функции и полиморфизм // Вопросы вирусологии. 2015. Т. 60, № 3. С. 5–13. [Smirnova K.V., Diduk S.V., Senyuta N.B., Gurtsevitch V.E. Molecular biological properties of the Epstein–Barr virus LMP1 gene: structure, function and polymorphism. *Voprosy virusologii = Problems of Virology*, 2015, vol. 60, no. 3, pp. 5–13. (In Russ.)]
19. 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., Gurtsevitch V.E. Polymorphism of Epstein–Barr virus LMP1 oncogene in nanaians, representatives of indigenous minority of the Russian Far East. *Epidemiologiya i infektsionnyye 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
20. 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., Gurtsevitch 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

21. Соломай Т.В., Семененко Т.А., Тутельян А.В., Боброва М.В. Эпидемиологические особенности инфекции, вызванной вирусом Эпштейна–Барр // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунологии. 2021. Т. 98, № 6. С. 685–696. [Solomay T.V., Semenenko T.A., Tutelyan A.V., Bobrova M.V. Epidemiological characteristics of Epstein–Barr virus infection. *Zhurnal mikrobiologii, epidemiologii i immunologii = Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology*, 2021, vol. 98, no. 6, pp. 685–696. (In Russ.)] doi: 10.36233/0372-9311-139
22. Тимченко В.Н., Баннова С.Л., Павлова Н.В., Павлова Е.Б., Каплина Т.А., Федорова А.В., Булина О.В., Балашов А.Л., Хакизimana Ж.-К. ВЭБ-моноклеоз на госпитальном этапе: клиническая характеристика и этиотропная терапия у детей различного возраста // Педиатр. 2018. Т. 9, № 6. С. 77–82. [Timchenko V.N., Bannova S.L., Pavlova N.V., Pavlova E.B., Kaplina T.A., Fedorova A.V., Bulina O.V., Balashov A.L., Hakizimana J.-C. EBV-mononucleosis in children at the hospital stage in modern conditions. *Pediatr = Pediatrician*, 2018, vol. 9, no. 6, pp. 77–82. (In Russ.)]
23. Хакизimana Ж.К., Тимченко В.Н., Шахмаева М.А., Каплина Т.А., Субботина М.Д., Баннова С.Л., Федорова А.В., Суховещкая В.Ф., Павлова Е.Б., Павлов Н.В. ВЭБ-моноклеоз у детей в современных условиях // Детские инфекции. 2020. Т. 19, № 2. С. 23–28. [Hakizimana J.K., Timchenko V.N., Shakhmaeva M.A., Kaplina T.A., Subbotina M.D., Bannova S.L., Fedorova A.V., Sukhovetskaya V.F., Pavlova E.B., Pavlova N.V. EBV mononucleosis in children in modern conditions. *Detskie infektsii = Children's Infections*, 2020, vol. 19, no. 2, pp. 23–28. (In Russ.)] doi: 10.22627/2072-8107-2020-19-2-23-28
24. Яковлева Л.С., Сеньюта Н.Б., Гончарова Е.В., Щербак Л.Н., Смирнова К.В., Павлиш О.А., Гурцевич В.Э. Варианты онкогена LMP1 вируса Эпштейна–Барр в клеточных линиях различного происхождения // Молекулярная биология. 2015. Т. 49, № 5. С. 800–810. [Yakovleva L.S., Senyuta N.B., Goncharova E.V., Scherback L.N., Smirnova R.V., Pavlish O.A., Gurtsevitch V.E. Epstein–Barr Virus LMP1 oncogene variants in cell lines of different origin. *Molekulyarnaya biologiya = Molecular Biology*, 2015, vol. 49, no. 5, pp. 800–810. (In Russ.)] doi: 10.7868/S0026898415050213
25. Ai J.H., Xie Z.D., Liu C.Y., Gao L.W., Yan J. [Characteristic of nuclear antigen 1 gene and latent membrane protein 1 gene of Epstein–Barr virus in primary EBV infection in children in Beijing area in 2005–2010]. *Zhonghua Shi Yan He Lin Chuang Bing Du Xue Za Zhi*, 2012, vol. 26, no. 5, pp. 352–355. (In Chin.)
26. Banko A.V., Lazarevic I.B., 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
27. Becue-Bertaut M., Pages J. Multiple factor analysis and clustering of a mixture of quantitative, categorical and frequency data. *Computational Statistic and Data Analysis*, 2008, vol. 52, pp. 3255–3268. doi: 10.1016/j.csda.2007.09.023
28. Begić V., Korać P., Gašparov S., Rozman M., Simicic P., Zidovec-Lepej S. Molecular characterisation of Epstein–Barr virus in classical Hodgkin lymphoma. *Int. J. Mol. Sci.*, 2022, vol. 23, no. 24: 15635. doi: 10.3390/ijms232415635
29. Cai K., Zhou B., Huang H., Tao R., Sun J., Yan C., Lee P.M.Y., Svendsen K., Fu B., Li J., Huang L. Risk of malignancy following exposure to Epstein–Barr Virus associated infectious mononucleosis: a nationwide population-based cohort study. *Front. Oncol.*, 2022, vol. 12: 991069. doi: 10.3389/fonc.2022.991069
30. 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
31. 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
32. Correia S., Palser A., Elgueta Karstegl C., Middeldorp J.M., Ramayanti O., Cohen J.I., Hildesheim A., Fellner M.D., Wiels J., White R.E., Kellam P., Farrell P.J. Natural variation of Epstein–Barr virus genes, proteins, and primary microRNA. *J. Virol.*, 2017, vol. 91, no. 15: e00375-17. doi: 10.1128/JVI.00375-17
33. Dambaugh T., Hennessy K., Chamnankit L., Kieff E. U2 region of Epstein–Barr virus DNA may encode Epstein–Barr nuclear antigen 2. *Proc. Natl Acad. Sci. USA*, 1984, vol. 81, pp. 7632–7636. doi: 10.1073/pnas.81.23.7632
34. Edwards R.H., Seillier-Moiseiwitsch 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
35. Fafi-Kremer S., Morand P., Germe R., Ballout M., Brion J.P., Genoulaz O., Nicod S., Stahl J.P., Ruigrok R.W., Seigneurin J.M. A prospective follow-up of Epstein–Barr virus LMP1 genotypes in saliva and blood during infectious mononucleosis. *J. Infect. Dis.*, 2005, vol. 192, no. 12, pp. 2108–2111. doi: 10.1086/498215
36. Farrell P.J., White R.E. Do Epstein–Barr virus mutations and natural genome sequence variations contribute to disease? *Biomolecules*, 2022, vol. 12, no. 1: 17. doi: 10.3390/biom12010017
37. Gantuz M., Lorenzetti M.A., Chabay P.A., Preciado M.V. A novel recombinant variant of latent membrane protein 1 from Epstein–Barr virus in Argentina denotes phylogeographical association. *PLoS One*, 2017, vol. 12, no. 3: e0174221. doi: 10.1371/journal.pone.0174221
38. Gatherer D., Depledge D.P., Hartley C.A., Szpara M.L., Vaz P.K., Benkő M., Brandt C.R., Bryant N.A., Dastjerdi A., Doszpoly A., Gompels U.A., Inoue N., Jarosinski K.W., Kaul R., Lacoste V., Norberg P., Origg F.C., Orton R.J., Pellett P.E., Schmid D.S., Spatz S.J., Stewart J.P., Trimpert J., Waltzek T.B., Davison A.J. ICTV Virus Taxonomy Profile: Herpesviridae. *J. Gen. Virol.*, 2021, vol. 102, no. 10: 001673. doi: 10.1099/jgv.0.001673
39. 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, pt 1, pp. 2399–2409. doi: 10.1099/0022-1317-72-10-2399
40. Kwok H., Chan K.W., Chan K.H., Chiang A.K. Distribution, persistence and interchange of Epstein–Barr virus strains among PBMC, plasma and saliva of primary infection subjects. *PLoS One*, 2015, vol. 10, no. 3: e0120710. doi: 10.1371/journal.pone.0120710
41. Lorenzetti M.A., Gantuz M., Altcheh J., De Matteo E., Chabay P.A., Preciado M.V. Distinctive Epstein–Barr virus variants associated with benign and malignant pediatric pathologies: LMP1 sequence characterization and linkage with other viral gene polymorphisms. *J. Clin. Microbiol.*, 2012, vol. 50, no. 3, pp. 609–618. doi: 10.1128/JCM.05778-11

42. Monteiro T.A.F, Costa I.B., Costa I.B., Corr a T.L.D.S., Coelho B.M.R., Silva A.E.S. Ramos F.L.P., Filho A.J.M., Monteiro J.L.F., Siqueira J.A.M., Gabbay Y.B., Sousa R.C.M. Genotypes of Epstein–Barr virus (EBV1/EBV2) in individuals with infectious mononucleosis in the metropolitan area of Belém, Brazil, between 2005 and 2016. *Braz. J. Infect. Dis.*, 2020, vol. 24, no. 4, pp. 322–329. doi: 10.1016/j.bjid.2020.06.004
43. Palser A.L., Grayson N.E., White R.E., Corton C., Correia S., Ba Abdullah M.M., Watson S.J., Cotten M., Arrand J.R., Murray P.G., Allday M.J., Rickinson A.B., Young L.S., Farrell P.J., Kellam P. Genome diversity of Epstein–Barr virus from multiple tumor types and normal infection. *J. Virol.*, 2015, vol. 89, no. 10, pp. 5222–5237. doi: 10.1128/JVI.03614-14
44. Rickinson A.B., Young L.S., Rowe M. Influence of the Epstein–Barr virus nuclear antigen EBNA 2 on the growth phenotype of virus-transformed B cells. *J. Virol.*, 1987, vol. 61, no. 5, pp. 1310–1317. doi: 10.1128/JVI.61.5.1310-1317.1987
45. Roderburg C., Krieg S., Krieg A., Luedde T., Kostev K., Loosen S.H. The Association between infectious mononucleosis and cancer: a cohort study of 24,190 outpatients in Germany. *Cancers (Basel)*, 2022, vol. 14, no. 23: 5837. doi: 10.3390/cancers14235837
46. Sarshari B., Mohebbi S.R., Ravanshad M., Shahrokh S., Asadzadeh Aghdaei H. Sequence variations of Epstein–Barr virus LMP1 gene in gastric cancer and chronic gastritis isolates from Iranian patients. *Gastroenterol. Hepatol. Bed. Bench.*, 2022, vol. 15, no. 3, pp. 225–231. doi: 10.22037/ghfbb.v15i3.2578
47. Smatti M.K., Yassine H.M., AbuOdeh R., AlMarawani A., Taleb S.A., Althani A.A., Nasrallah G.K. Prevalence and molecular profiling of Epstein–Barr virus (EBV) among healthy blood donors from different nationalities in Qatar. *PLoS One*, 2017, vol. 12, no. 12: e0189033. doi: 10.1371/journal.pone.0189033
48. Smith N.A., Coleman C.B., Gewurz B.E., Rochford R. CD21 (Complement Receptor 2) is the receptor for Epstein–Barr virus entry into T cells. *J. Virol.*, 2020, vol. 94, no. 11: e00428-20. doi: 10.1128/JVI.00428-20

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, 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, 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, Нижний Новгород, Россия;
Брызгалова Д.А., младший научный сотрудник лаборатории молекулярной биологии и биотехнологии ФБУН Нижегородский НИИ эпидемиологии и микробиологии им. академика И.Н. Блохиной Роспотребнадзора, Нижний Новгород, Россия;
Сахарнов Н.А., к.б.н., научный сотрудник лаборатории молекулярной биологии и биотехнологии ФБУН Нижегородский НИИ эпидемиологии и микробиологии им. академика И.Н. Блохиной Роспотребнадзора, Нижний Новгород, Россия;
Соболева Е.А., врач-инфекционист ГБУЗ НО Нижегородский областной центр по профилактике и борьбе со СПИД и инфекционными заболеваниями, Нижний Новгород, Россия;
Назарова Л.В., к.м.н., врач клинической лабораторной диагностики, зав. клинико-диагностической лабораторией ГБУЗ НО Инфекционная клиническая больница № 23 г. Нижнего Новгорода, 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;
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;
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;
Bryzgalova D.A., Junior Researcher, Laboratory of Molecular Biology and Biotechnology, Academician I.N. Blokhina Nizhny Novgorod Scientific Research Institute of Epidemiology and Microbiology, Nizhny Novgorod, Russian Federation;
Sakharov N.A., PhD (Biology), Researcher, Laboratory of Molecular Biology and Biotechnology, Academician I.N. Blokhina Nizhny Novgorod Scientific Research Institute of Epidemiology and Microbiology, Nizhny Novgorod, Russian Federation;
Soboleva E.A., Infectologist, Nizhny Novgorod Regional Center for the Prevention and Control of AIDS and Infectious Diseases, Nizhny Novgorod, Russian Federation;
Nazarova L.V., PhD (Medicine), Doctor of Clinical Laboratory Diagnostics, Head of the Clinical Diagnostic Laboratory, Infectious Clinical Hospital No. 23, Nizhny Novgorod, Russian Federation.

Поступила в редакцию 16.01.2023
 Отправлена на доработку 26.03.2023
 Принята к печати 27.03.2023

Received 16.01.2023
 Revision received 26.03.2023
 Accepted 27.03.2023