

## ОБЗОРЫ

Научный обзор

<https://doi.org/10.36233/0372-9311-228>



# Генетическое разнообразие вируса Эпштейна–Барр: современный взгляд на проблему

Попкова М.И.✉, Уткин О.В.

Нижегородский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии имени академика И.Н. Блохиной, Нижний Новгород, Россия

### Аннотация

В целом характеристика генетического разнообразия вируса Эпштейна–Барр (ВЭБ) лежит в основе изучения патогенеза, целевой разработки методов лабораторной диагностики, вакцин, средств специфической терапии ассоциированных с ним заболеваний, совершенствования системы эпидемиологического надзора за ВЭБ-инфекцией, а также дальнейшей детализации таксономии и классификации вируса. Целью настоящего обзора является обобщение и анализ данных литературы, посвящённых изучению генетического разнообразия ВЭБ, для перспективного развития методологии молекулярно-биологических исследований в клинической практике и эпидемиологическом надзоре за ВЭБ-ассоциированными заболеваниями. Работа выполнена на основе анализа публикаций, размещённых в базах данных PubMed, Web of Science, Scopus, eLibrary. Отдельно сфокусировано внимание на изучении данного вопроса в России. Показано, что на протяжении нескольких десятилетий использовались подходы, основанные на анализе нуклеотидной и аминокислотной вариабельности отдельных генов ВЭБ или их участков. Однако единой, унифицированной системы, учитывающей все генетическое разнообразие ВЭБ, сильные и слабые стороны как более ранних, так и современных классификаций, не существует. Большинство публикаций посвящены изучению онкогена *LMP-1*. С развитием технологий полногеномного секвенирования возобновился поиск геновариантов и подтипов ВЭБ. На фоне динамичного развития данного направления выводы исследователей пока основываются на относительно небольшом количестве геномов, секвенированных с переменным качеством, проанализированных с применением разных биоинформационных стратегий, с неравнозначной выборкой с точки зрения географического происхождения; некоторые нозологические формы ВЭБ-ассоциированных заболеваний, географические области и этнические группы остаются неохарактеризованными. Развитие и оптимизация методических подходов на основе полногеномного секвенирования и секвенирования определённого набора генов будут способствовать расширению существующих представлений о генетическом разнообразии ВЭБ во всём мире, его связи с заболеваниями и, возможно, клиническими особенностями их течения, совершенствованию эпидемиологического надзора за ВЭБ-инфекцией.

**Ключевые слова:** вирус Эпштейна–Барр, генетическое разнообразие, секвенирование, ВЭБ-1, ВЭБ-2, *LMP-1*, рак, инфекционный мононуклеоз, обзор

**Источник финансирования.** Авторы заявляют об отсутствии внешнего финансирования при проведении исследования.

**Конфликт интересов.** Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

**Для цитирования:** Попкова М.И., Уткин О.В. Генетическое разнообразие вируса Эпштейна–Барр: современный взгляд на проблему. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии*. 2022;99(1):93–108. DOI: <https://doi.org/10.36233/0372-9311-228>

Review article

<https://doi.org/10.36233/0372-9311-228>

# Genetic diversity of the Epstein–Barr virus: a modern view of the problem

Mariia I. Popkova<sup>✉</sup>, Oleg V. Utkin

Academician I.N. Blokhina Nizhny Novgorod Scientific Research Institute of Epidemiology and Microbiology, Nizhny Novgorod, Russia

## Abstract

In general, the characteristic of the genetic diversity of the Epstein-Barr virus (EBV) underlies the study of pathogenesis, targeted development of laboratory diagnostic methods, vaccines, specific therapy for associated diseases, improving the system of epidemiological surveillance of EBV infection, as well as further detailing the taxonomy and virus classification. The purpose of this review is to summarize and analyze the literature data on the genetic diversity of EBV for the prospective development of the methodology of molecular research in clinical practice and epidemiological surveillance of EBV-associated diseases. The work was carried out based on an analysis of publications in the PubMed, Web of Science, Scopus, eLibrary databases. Special attention was focused on the studies in Russia. It has been shown that approaches based on the analysis of nucleotide and amino acid variability of individual EBV genes or their regions have been used for several decades. However, there is no single, unified system that takes into account the entire genetic diversity of EBV, and the strengths and weaknesses of both earlier and modern classifications. Most publications are devoted to the study of the *LMP-1* oncogene. With the development of whole genome sequencing technologies, the search for genovariants and subtypes of EBV has resumed. It is demonstrated that despite the dynamic development of this area, the conclusions of researchers are still based on a relatively small number of genomes sequenced with variable quality, analyzed using different bioinformatic strategies, with an unequal sample in terms of geographical origin. Moreover, some nosological forms of EBV-associated diseases, geographical areas and ethnic groups remain uncharacterized. The development and optimization of methodological approaches based on whole genome sequencing and sequencing of a specific set of genes will contribute to the expansion of existing ideas about the genetic diversity of EBV throughout the world, its relationship with diseases and, possibly, the clinical features of their course, and the improvement of epidemiological surveillance of EBV infection.

**Keywords:** Epstein–Barr virus, genetic diversity, sequencing, EBV-1, EBV-2, LMP-1, cancer, infectious mononucleosis, review

**Funding source.** This study was not supported by any external sources of funding.

**Conflict of interest.** The authors declare no apparent or potential conflicts of interest related to the publication of this article.

**For citation:** Popkova M.I., Utkin O.V. Genetic diversity of the Epstein–Barr virus: a modern view of the problem. *Journal of microbiology, epidemiology and immunobiology = Zhurnal mikrobiologii, èpidemiologii i immunobiologii*. 2022;99(1):93–108.

DOI: <https://doi.org/10.36233/0372-9311-228>

## Введение

В 1964 г. М. Epstein и Y. Barr визуализировали вирусные частицы в ходе электронной микроскопии клеток культуры лимфомы Беркитта (ЛБ), что явилось научным основанием к открытию первого онковируса человека, названного в честь учёных вирусом Эпштейна–Барр (ВЭБ) [1]. В 1968 г. была доказана этиологическая роль ВЭБ при инфекционном мононуклеозе (ИМ) [2]. В настоящее время установлена повсеместная распространённость этого вируса, серопозитивными являются более 90% взрослого населения во всём мире. Существенно расширился спектр ассоциированных с ним заболеваний, включая злокачественные новообразования лимфоидного и эпителиального происхождения, обсуждается связь ВЭБ с рассеянным склерозом и

системной красной волчанкой. Ежегодно регистрируемое число новых случаев 4 видов рака, связанных с ВЭБ, возросло до 265 тыс. [3]. Обращает внимание выраженная неравномерность распространения отдельных нозологических форм в разных географических регионах мира: наибольшие показатели заболеваемости эндемичной ЛБ регистрируются среди жителей экваториальной Африки, раком носоглотки (РНГ) в Южном Китае и Юго-Восточной Азии, лимфомой Ходжкина в Африке и Южной Америке, раком желудка (РЖ) в Северной и Южной Америке, Т/НК-клеточными лимфомами в Восточной Азии, включая Японию и Корею, а ИМ в западных странах [4, 5]. Все вышеперечисленное способствовало росту интереса к изучению возможных ассоциаций генетических вариаций ВЭБ с конкрет-

ными заболеваниями с акцентом на злокачественные новообразования [6].

Первая геномная последовательность ВЭБ была опубликована в 1984 г., что явилось отправной точкой для последующего развития отдельного направления исследований этого вируса, касающихся идентификации его штаммов [6]. На протяжении нескольких десятилетий изучения данного вопроса сформировался подход, заключающийся в анализе нуклеотидных и аминокислотных последовательностей отдельных генов/белков-мишеней ВЭБ, предложены многочисленные варианты классификации. Следует отметить, что до 2013 г. геномные последовательности ВЭБ, доступные в GenBank, характеризовали менее чем 10 штаммов [5]. Развитие технологий секвенирования привело к тому, что после 2014 г. число доступных к изучению полных геномов резко возросло, достигнув к настоящему времени более 1000 [7]. Недавние исследования с высокой степенью доказательности продемонстрировали существование определённых штаммов или подтипов ВЭБ высокого риска, связанных с развитием РНГ, в эндемичном регионе на юге Китая [8]. В современных работах накопленный опыт изучения целевых вирусных генов не утратил своей значимости и продолжает применяться как самостоятельный подход, в том числе при сравнительном анализе геномов ВЭБ.

В России встречается широкий спектр ВЭБ-ассоциированных патологий, но они не носят эпидемический характер [9]. При этом из перечня заболеваний, связанных с ВЭБ, официальной статистической отчётности подлежит только ИМ, что существенно затрудняет объективную оценку их структуры, уровня заболеваемости и распространённости. За последнее десятилетие ИМ постоянно входит в рейтинг инфекционных болезней, представляющих наибольшую экономическую значимость в России (в 2020 г. экономический ущерб составил 2 299 817,4 тыс. руб.), отмечается тенденция к росту заболеваемости [10]. Между тем вопросу изучения генетической гетерогенности ВЭБ в отечественной литературе посвящено небольшое количество публикаций [9, 11–14]. В России данное направление исследований сконцентрировалось на изучении онкогена, кодирующего латентный мембранный белок 1 (*LMP-1*) ВЭБ<sup>1</sup>. Для характеристики генетического разнообразия ВЭБ используется преимущественно одна из нескольких классификаций, в основе которых лежит структурно-функциональный полиморфизм данного гена. Работы, посвящённые полногеномному секвенированию российских изолятов ВЭБ, в отечественных изданиях до сих пор не представлены.

В целом характеристика генетического разнообразия ВЭБ лежит в основе изучения патогенеза, целевой разработки методов лабораторной диагностики, вакцин, средств специфической терапии широкого спектра ассоциированных с ним заболеваний, совершенствования системы эпидемиологического надзора за ВЭБ-инфекцией, а также дальнейшей детализации таксономии и классификации вируса.

**Целью** настоящего обзора являются обобщение и анализ данных литературы, посвящённых изучению генетического разнообразия ВЭБ, для перспективного развития методологии молекулярно-биологических исследований в клинической практике и эпидемиологическом надзоре за ВЭБ-ассоциированными заболеваниями.

Работа выполнена на основе анализа публикаций (статьи в журналах), размещённых в электронных базах данных PubMed, Web of Science, Scopus, eLibrary. Глубина поиска составила 50 лет (1972–2021 гг.). Поиск публикаций проводился по следующим ключевым словам: «генетическое разнообразие ВЭБ», «вариабельность ВЭБ», «полиморфизм ВЭБ», «штаммы ВЭБ», «типирование ВЭБ», «секвенирование ВЭБ», «генотипы ВЭБ», «геноварианты ВЭБ», «ВЭБ1», «ВЭБ-1», «ВЭБ2», «ВЭБ-2», «LMP1 вируса Эпштейна–Барр», «LMP-1 вируса Эпштейна–Барр», «ДНК ВЭБ», «классификации ВЭБ», «ВЭБ-ассоциированный рак», «инфекционный мононуклеоз». Объем исследования включал 3980 работ, в том числе за последние 5 лет — 530. Российские публикации в их числе составили 29 и 15 соответственно.

## Основная часть

Согласно современной таксономии вирусов, ВЭБ относится к семейству *Herpesviridae*, подсемейству *Gammaherpesvirinae*, роду *Lymphocryptoviruses*, виду *Human gammaherpesvirus 4 (HHV4)*. Геном ВЭБ представлен линейной двухцепочечной ДНК размером около 172 т.п.н., имеет более 80 открытых рамок считывания, содержит четыре основных внутренних повтора (от IR1 до IR4) и вариабельное число концевых повторов (TR). Девять латентных генов, включая гены ядерного антигена (*EBNA-1*, *EBNA-2*, *EBNA-3A*, *EBNA-3B*, *EBNA-3C*, *EBNA-LP*) и латентного мембранного белка (*LMP-1*, *LMP-2A*, *LMP-2B*), расположены в уникальных областях генома (U). Другие открытые рамки считывания кодируют белки капсида, факторы транскрипции, а также литические белки (*BZLF1*, *BHLF1*, *BHRF1*, *BALF1*, *BNLF2a*, *BCRF1* и др.). В геноме вируса закодированы такие малые РНК, как *EBER1* и *EBER2*, а также микроРНК *BART* и *BHRF1*. В фазе латенции геном ВЭБ существует в виде кольцевых эписомов внутри ядра инфицированной клетки [7]. Изучается вопрос о вирусной интеграции полноразмерных геномов ВЭБ, а также ДНК-фрагментов в ВЭБ-положительных ЛБ, РНГ и РЖ [16].

<sup>1</sup> Сокращённое обозначение генов ВЭБ в обзоре приведено согласно данным GenBank. URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/?term=Human+gammaherpesvirus+4>

Несмотря на то, что общее сходство нуклеотидных последовательностей между геномами ВЭБ варьирует от 97,45 до 99,74% [17], для отдельных генов установлен выраженный полиморфизм. Так, гены латенции ВЭБ обладают большим разнообразием, чем другие элементы генома [18]. Генетическая вариабельность штаммов ВЭБ обусловлена особенностями жизненного цикла вируса в лимфоцитах. Когда ВЭБ-инфицированный лимфоцит проходит через зародышевый центр лимфоузла, считающийся высокомутативной средой, мутационный процесс вируса повышается. В процессе репликации ВЭБ возникают ошибки, что приводит к формированию большого генетического разнообразия вируса у инфицированных лиц [19]. По имеющимся сведениям, общий уровень мутаций генома ВЭБ составляет около 1,27% [17]. При этом L. Zanella и соавт. свидетельствуют о том, что рекомбинации происходят в 2,5 раза чаще, чем мутации, и играют решающую роль в диверсификации ВЭБ [20]. Кроме того, коэволюция геномов вируса и хозяина, воздействие средовых факторов формируют общегеномные паттерны генетического разнообразия ВЭБ [21].

Первая полная геномная последовательность ВЭБ (прототипный штамм B95-8, изолированный от пациента с ИМ из Северной Америки; GenBank: V01555) была получена R. Вагг и соавт. в 1984 г. [22]. Использование секвенирования по Сэнгеру позволило расширить знания о генетическом разнообразии ВЭБ. Однако в последующий 30-летний период были полностью секвенированы геномы очень ограниченного количества штаммов ВЭБ, полученных из разных источников и географических регионов: *GD1* из слюны пациента с РНГ; *GD2*, *M81*, *HKNPC1* из биоптатов РНГ; *S666-1* из клеточной линии РНГ; *K4123-Mi* и *K4413-Mi* из спонтанных лимфобластоидных клеточных линий, африканский *Mutu* из ЛБ, японский *Akata* из клеточной линии ЛБ, *AG876* из ЛБ в центральной Африке, а также ВЭБ дикого типа (*EBVwt*), который является современным референсным штаммом ВЭБ (RefSeq *HHV4*) (GenBank: NC\_007605) [5, 19].

Основное направление исследований генетического разнообразия ВЭБ в этот период сосредоточилось на секвенировании определённых генов вируса или их фрагментов (подход на основе изучения гена-кандидата). В результате были предложены несколько классификаций, большая часть из которых находит применение в некоторых современных работах. В этой части литературного обзора материалы будут изложены с учётом их хронологической последовательности, отражающей эволюцию представлений о генетическом разнообразии ВЭБ в мире.

### Основные типы ВЭБ

Исторически первой и общепринятой классификацией является деление ВЭБ на два основных

типа — тип 1 и тип 2 (или тип А и тип В соответственно). Первоначально T. Dambaugh и соавт. установили значимый уровень различий в длине открытой рамки считывания домена U2 и белка EBNA-2 между штаммами B95-8 (тип 1) и AG876 (тип 2) [23]. Известно, что в гене *EBNA-2* степень идентичности между двумя типами вируса по нуклеотидным и аминокислотным последовательностям составляет 70 и 54% соответственно [2]. Дальнейшие исследования показали, что различия между изолятами ВЭБ-1 (B95-8-подобные) и ВЭБ-2 (AG876-подобные) чётко прослеживаются не только для гена *EBNA-2*, но и для семейства белков EBNA-3, хотя и с меньшей степенью выраженности. При этом гены *EBNA-3A*, *EBNA-3B* и *EBNA-3C* имеют сходство нуклеотидных и аминокислотных последовательностей на 90 и 84%, 88 и 80%, 81 и 72% соответственно [24]. Более современные работы подтверждают чёткое разделение популяции ВЭБ на два основных типа [15, 18, 19, 25]. При этом ВЭБ-2 характеризуется меньшей степенью разнообразия по сравнению с ВЭБ-1. Внутри каждого типа наибольшая дивергенция отмечается для генов *EBNA-1* и *LMP-1* [25]. Для каждого типа вируса существуют два эталонных генома: ВЭБ-1 (GenBank: NC\_007605.1) и ВЭБ-2 (GenBank: NC\_009334.1) [26].

Оба типа ВЭБ встречаются повсеместно, при этом их распределение имеет географические особенности. ВЭБ-1 является основным типом, распространённым во всём мире, преобладает в популяции жителей Европы, Америки, Китая и Южной Азии. Темпы изучения ВЭБ-2 отстают, поскольку инфицированные этим типом вируса люди встречаются реже, в основном в регионе Африки к югу от Сахары и в Папуа — Новой Гвинее [25, 27]. Небольшой процент представителей европеоидной расы также инфицированы ВЭБ-2 [28]. В России только начинают появляться первые публикации по изучению распространённости основных типов ВЭБ [12, 29].

Различия отмечаются не только в географическом распространении типов вируса, но также и среди отдельных социальных групп. Например, в когорте гомосексуальных мужчин в западных странах по сравнению с общей популяцией наблюдается более высокая частота инфицирования ВЭБ-2, в частности, в группах ВИЧ-инфицированных индивидов. Считается, что пациенты с иммунодефицитными состояниями более восприимчивы к инфицированию обоими типами ВЭБ [30].

Основное фенотипическое различие между двумя типами вируса заключается в том, что ВЭБ-1 трансформирует В-лимфоциты человека более эффективно, чем ВЭБ-2 [31]. При этом M.-H. Tsai и соавт. в экспериментах *in vitro* установили, что разные штаммы одного типа (ВЭБ-1) обладают выраженными отличиями в трансформирующем потенциале

и клеточном тропизме, возможно, предопределяя развитие разных типов опухолей [32]. А недавние сообщения о том, что ВЭБ-2 инфицирует Т-клетки как в культуре, так и *in vivo* (например, у кенийских детей), определяют необходимость дальнейшего развития представлений о биологическом значении основных типов ВЭБ, в том числе с позиций оценки геномных вариаций вируса [28].

Многие исследовательские группы используют классификацию ВЭБ, основанную на выделении двух базовых генотипов — ВЭБ-1 и ВЭБ-2. Вместе с тем доказательств связи генотипов с развитием различных заболеваний недостаточно. ВЭБ-1 чаще вызывает ИМ, чем ВЭБ-2 [29, 33]. Особенности клинических проявлений ИМ, варианты его течения при инфицировании разными штаммами изучены мало. Хотя генотип ВЭБ-2 превалирует в том же регионе Африки, что и эндемичная ЛБ, результаты недавних исследований свидетельствуют о значительно большем распространении среди этих пациентов ВЭБ-1 (74,5%) [25].

Классификация ВЭБ, основанная только на типах вируса, не позволяет полностью учитывать все его разнообразие. Данный факт обусловлен охарактеризованными событиями межтиповой и внутритиповой рекомбинации ВЭБ, что затрудняет использование относительно простых классификаций, основанных на полиморфизмах одного гена [19, 25, 34, 35].

#### RFLP-варианты

Вторая классификация ВЭБ была разработана на основе анализа полиморфизмов длин рестриционных фрагментов (RFLP) эндонуклеазами рестрикции *Bam*HI и *Xho*I [4]. Отметим, что в современных работах сохраняется интерес к изучению только полиморфизмов фрагментов *Bam*HI-I [4] и сайта рестрикции *Xho*I [4, 36] как потенциальных биомаркеров РНГ и РЖ. Отсутствие сайта рестрикции *Xho*I (вариант *Xho*I) является наиболее распространённым полиморфизмом при РНГ в эндемичных регионах Азии (более 80% случаев) [4, 36]. В то же время А. Corvalán и соавт. (2019) обнаружили рекомбинантный вариант “i”/*Xho*I+, характерный для ВЭБ-ассоциированного РЖ на американском континенте [4].

Другие наиболее известные на сегодняшний день классификации основаны на детальном изучении нуклеотидных последовательностей ВЭБ в генах *LMP-1*, *EBNA-1*, *BZLF1*. Исследовательский интерес сосредоточен на них потому, что *LMP-1* характеризуется структурно-функциональной полиморфностью и важной ролью в онкогенезе, *EBNA-1* необходим для поддержания ВЭБ в латентной форме (ген экспрессируется во всех опухолях, ассоциированных с ВЭБ), а *BZLF1* играет роль в переходе от латентной к литической фазе ВЭБ-инфекции.

#### LMP-1-варианты

Большинство исследований генетической изменчивости ВЭБ сосредоточено на изучении структуры и роли вирусного онкогена *LMP-1*, который кодирует одноимённый белок и отличается от большинства других генов ВЭБ наибольшим полиморфизмом [27]. Интерес к изучению геновариантов *LMP-1* резко возрос после того, как была продемонстрирована взаимосвязь между ними и развитием ряда онкологических заболеваний. В настоящее время известно 7 классификаций геновариантов *LMP-1* ВЭБ [37]. В данном обзоре мы сосредоточимся на изложении лишь некоторых из них в хронологической последовательности.

L.F. Hu и соавт. (1991) описали характерные особенности гена *LMP-1* CAO [38]. CAO — изолят ВЭБ, выделенный из клеток назофарингеальной карциномы 54-летнего пациента мужского пола из района Шанхай в Китае. Описанная структура белка *LMP-1* CAO (404 а.к.) отличается от прототипного B95-8 (386 а.к.), что определяется вставкой 3 дополнительных тандемных повторов протяжённостью 11 аминокислот (33 п.н.), двумя делециями в 5 и 10 аминокислот в С-концевой области гена, а также множественными аминокислотными заменами и отсутствием сайта рестрикции *Xho*I в N-концевой области. В последующие годы изучением потенциально онкогенных CAO-подобных геновариантов *LMP-1* занимались разные исследовательские группы. При этом редко использовался весь авторский набор генетических признаков, характеризующих вариант CAO. Как правило, исследователи ограничивались обнаружением характерной делеции в 30 п.н. (10 а.к.). По оценкам некоторых исследователей, в Азии полиморфизм *Xho*I- имеет значительно более высокую степень ассоциации с РНГ по сравнению с делетированным вариантом *LMP-1* (отношение риска равно 14,17 и 3,53 соответственно) [36].

Научно-практический интерес представляло изучение выраженности полиморфизмов гена *LMP-1* не только в опухолевых изолятах ВЭБ, но и в изолятах ВЭБ дикого типа, полученных от здоровых вирусоносителей в разных географических регионах. В частности, К. Sandvej и соавт. (1997), исследуя европейские изоляты ВЭБ здоровых вирусоносителей, с помощью секвенирования гена *LMP-1* выделили 4 группы: А, В, С, D [39]. Группа А представлена изолятами, аналогичными референсному штамму B95-8, в группе С изоляты характеризовались наличием CAO-подобной делеции в 30 п.н. на С-конце, а в группе D отсутствовал сайт рестрикции *Xho*I на N-конце. Конфигурация повторяющейся области гена варьировала независимо от конкретной группы и содержала 3–7 тандемных повторов из 33 п.н. Данная классификация используется в исследовательских целях [6, 11, 25, 40].

Наиболее популярная классификация R.H. Edwards и соавт. (1999) основана на анализе полиморфизмов в С-концевой области гена *LMP-1* [41]. Были сгруппированы 7 штаммов, получивших географические наименования в соответствии с происхождением образцов: *B95-8*, *China1*, *China2*, *China3*, *Med* (Mediterranean), *Alaskan* и *NC* (Northern Carolina), которые различаются по 7 локусам в С-концевой области гена *LMP-1* и характеризуются чёткими аминокислотными сигнатурами относительно прототипного штамма ВЭБ в положениях 229, 306, 312, 322, 334, 338 и 344. При этом CAO-подобная делеция 10 а.к. присутствовала в штаммах *China1*, *China3* и *Med*, а *XhoI* — в штаммах *China1*, *China2*, *Alaskan* и *NC*. При сопоставлении полиморфизмов *LMP-1* с основными типами ВЭБ корреляция отсутствовала, хотя *China1* чаще принадлежал к ВЭБ-1, а *China2* и *Alaskan* — к ВЭБ-2 [41]. Отметим, что вариант *B95-8 LMP-1* имел самую высокую связь с ВЭБ-2, а *Med* или *NC* — самую низкую [19, 28].

Поскольку данная классификация разрабатывалась для штаммов ВЭБ, циркулирующих среди населения ограниченного числа территорий, возникает вопрос о корректности её применения для анализа *LMP-1* в других географических регионах. Показано, что некоторые штаммы более распространены в определённых популяциях. В азиатских выборках в 63% был выявлен штамм *China1*, в 12% — *China2*, в 3% — *China3* и в 17% — *B95-8*. Среди средиземноморских и африканских выборок в 90% были обнаружены штаммы *Med* и в 10% — *B95-8*. В пробах из США было выявлено 23% штаммов *China1*, 12% — *China2*, 31% — *Med*, 4% — *Alaskan*, 8% — *NC* и 23% — *B95-8* [41]. При этом чёткой корреляции с определённым заболеванием или географическим регионом не установлено [36].

В современный период в дополнение к описанной классификации R.H. Edwards и соавт. [41] представлены новые варианты онкогена *LMP-1*, например, *Southeast Asia 1* и *Southeast Asia 2* (*SEA1* и *SEA2*), выделенные в Тайланде [27], или *Argentina* из Аргентины [7]. Российскими учёными были обнаружены *LMP-1* «вне варианта» с неизвестным трансформирующим потенциалом [9, 13], в том числе уникальный среди изолятов этнических татар Поволжья, названного авторами *LMP-1-Tat<sup>K</sup>* [12, 13].

В России за последние 20 лет проводились исследования структурно-функционального полиморфизма онкогена *LMP-1* ВЭБ в контексте изучения его особенностей в неэндемичном по ВЭБ-ассоциированным онкологическим заболеваниям регионе мира. Отметим, что основная часть полученных к настоящему времени результатов российских исследователей была сгенерирована на основе применения методических подходов, включающих секвенирование по Сэнгеру главным образом С-концевой области гена *LMP-1* с последующей оценкой его

геновариантов по классификации R.H. Edwards и соавт. [41]. В целом можно выделить несколько основных направлений исследований: сравнительный молекулярно-генетический анализ *LMP-1* ВЭБ среди здорового населения и в группах пациентов с онкологией, распространённость геновариантов *LMP-1* в разных этнических группах и территориях страны, изучение трансформирующей активности *LMP-1*.

В результате анализа различных клинических образцов (опухолевая ткань, смывы из полости рта, лейкоциты крови) достаточно частым событием было несовпадение вариантов *LMP-1* [9]. При ВЭБ-ассоциированном РНГ, РЖ, лимфоме Ходжкина, неходжкинских лимфомах, а также ИМ среди представителей разных регионов России образцы *LMP-1* были отнесены к вариантам *B95-8*, *China1*, *Med+* и *Med-* (содержащим и не содержащим делецию 10 а.к. соответственно), а также *NC* [9, 14]. Все российские авторы сходятся во мнении, что специфический вариант *LMP-1* при ВЭБ-ассоциированной патологии отсутствует. Однако на отдельных географических территориях, например, среди представителей Северо-Кавказского федерального округа, делетированные *LMP-1* варианты *China1* и *Med+* встречались гораздо чаще, а уровень гуморального ответа к ВЭБ коррелировал с повышенной заболеваемостью в этой группе опухолями носоглотки, включая РНГ [14]. Поэтому в масштабах России остаётся открытым вопрос о возможности выявления территорий риска и групп риска разных ВЭБ-ассоциированных заболеваний. Учитывая, что российские работы основаны на анализе небольших выборок (10–28 человек в каждой группе сравнения), дальнейшие исследования необходимо планировать с учётом большего числа наблюдений и клинических образцов, полученных из различных географических и климатических регионов России.

Результаты исследований среди здорового населения свидетельствуют о том, что частота выявления геновариантов *LMP-1* в разных регионах и этнических группах на территории России существенно различается. Наиболее высокий процент выявления низкодивергентного и низкотуморогенного варианта *LMP-1 B95-8* зарегистрирован среди населения европейской части России (78,9%), в то время как среди жителей Дальнего Востока (аборигены и иммигранты Хабаровского края) доля *LMP-1 B95-8* была ниже (26,2 и 25,0% соответственно) [11]. В другой работе показаны этнические различия: процентное содержание варианта *B95-8/A* среди казанских татар значительно ниже, чем у московских славян (29,3% против 82,5%) [13]. Штаммы *Med+* и *Med-* встречались среди изучаемых групп населения примерно с одинаковой частотой, за исключением низкой превалентности среди населения европейской части России. Важной характеристикой является обнаружение CAO-подобного

штамма *China1* среди здоровых лиц в российской популяции [9, 13]. Штамм *NC* на низком уровне детектировался у населения европейской части России [11]. Варианты *LMP-1 China2*, *China3* и *Alaskan* как у лиц с онкологическими заболеваниями, так и среди здорового населения в России отсутствовали [9, 11, 14]. Выявленные в российской популяции варианты *LMP-1* «вне варианта», а также ранее не описанные точечные мутации в этом гене (*D210E*, *G352S*, *W39C*, *L93V*, *A96T*, *I122L*, *S329M*) до сих пор остаются фенотипически не охарактеризованными.

Другая группа исследователей под руководством D.M. Walling, также изучая естественную вариацию С-концевой области гена *LMP-1*, разработала иной подход к идентификации генотипов ВЭБ *in vivo*, предположив, что следует исключать повторяющуюся область размером 33 п.н. (а.к. в позиции 250–298) [42]. В этом исследовании генотипы ВЭБ были определены как «штаммы» по комбинации одновременно присутствующих в гене *LMP-1* последовательностей, расположенных ниже (downstream) и выше (upstream) повторяющейся тандемной области. Всего были определены 22 паттерна аминокислотных последовательностей: 12 вариантов между аминокислотами 299–379 (паттерны *B95-8*, *I*, *2a*, *2b*, *2c*, *3*, *4*, *5*, *6*, *7*, *8*, *9*) и 10 вариантов между аминокислотами 196–249 (паттерны *B95-8*, *A*, *B*, *C*, *D*, *E*, *F1*, *F2*, *G*, *H*). В последующих работах авторы расширили данную классификацию до 25 паттернов. Однако при эпидемиологическом анализе географических особенностей распределения или однозначной ассоциации между установленным паттерном последовательности и каким-либо заболеванием выявлено не было.

H. Lei и соавт. (2015) обнаружили 23 новых вариации нуклеотидной последовательности в промоторе и гене *LMP-1*, обуславливающих изменения в составе аминокислот данного белка у пациентов с ЛБ [43]. Последующий анализ этой области генома ВЭБ позволил установить 4 характерных паттерна нуклеотидной последовательности, условно обозначенных от *A* до *D*. Распределение ЛБ при этом составило 48, 8, 24 и 20% для паттернов *A*, *B*, *C* и *D* соответственно. РНГ ассоциировался с паттерном *B*, а эталонный ВЭБwt — с паттерном *D*.

В клиническом и эпидемиологическом аспектах представляет интерес вопрос коинфицирования разными геновариантами *LMP-1*. Установлено, что 2 и более таких вариантов могут детектироваться у одного индивида [9, 28, 41, 42, 44]. Например, три штамма — *China1*, *B95-8* и *Med* — были обнаружены у здорового волонтера [41]. Детальный анализ показал, что в разных субстратах одного и того же человека (кровь, слюна, образцы биопсии опухолей) могут быть идентифицированы разные геноварианты [9, 28, 44]. Со временем возможна смена геновариантов в одном и том же субстрате [45]. Также

известно, что при культивировании В-клеток крови *in vitro* от лиц, инфицированных несколькими штаммами вируса, только один из них, обладающий выраженным трансформирующим потенциалом, становится доминирующим наряду с элиминацией других [40]. В настоящее время остаётся неизвестным, как иммунная система ранее инфицированного пациента обеспечивает защиту от новых геновариантов ВЭБ. Эти знания могут серьёзно повлиять на перспективы разработки вакцины против ВЭБ, отсутствующей в настоящее время.

### *EBNA-1-варианты*

Наиболее известной и часто используемой является классификация *EBNA-1*-вариантов ВЭБ на основе полиморфизмов в С-концевой области гена (на аминокислотном уровне): два штамма-прототипа *P* либо с остатком аланина (*P-ala*), либо треонина (*P-thr*) в положении 487 и три варианта с остатком валина (*V-val*), лейцина (*V-leu*) или пролина (*V-pro*) [18, 46, 47]. При этом прослеживалась связь подтипа *P-thr* и *V-leu* с эндемичными и неэндемичными формами ЛБ по сравнению с нормой [28, 46], а *V-val* представляет собой доминирующий азиатский подтип *EBNA-1*, как при РНГ и РЖ, так и в общей популяции [18, 46, 47]. Комплексный подход к оценке N- и С-концевых полиморфизмов *EBNA-1* подтипов описан в серии работ S. Correia и соавт. (2017, 2018) [28, 35]. Новая классификация описывает две модификации в С-концевом участке гена, которые определяются 5 аминокислотами (либо *PSMVT* в эталонном штамме либо *QCIGP* в других штаммах). *QCIGP* характеризуется положением аминокислот *Q476*, *C492*, *I563*, *G574* и *P585* [28]. Аналогично в N-конце объединены *QEA* (*E16Q*, *G18E*, *T85A*). Функциональное значение подтипов остаётся неизученным [35].

### *BZLF1-варианты*

Среди литических генов вируса немедленно-ранний ген *BZLF1* характеризуется значительным полиморфизмом в области промотора (*Zp*) и кодирующего региона. Идентифицированы несколько вариантов *Zp*: *Zp-P* (прототип *B95-8*), *Zp-V3*, *Zp-V4*, а также *Zp-PV* [48]. *Zp-P* чаще выявлялся в Северной и Южной Америке, а также в Европе. В Китае варианты *Zp-P* и *Zp-V3* распределялись с одинаковой частотой, при этом *Zp-V3* чаще детектировался у онкологических больных по сравнению со здоровым населением. Отмечена ассоциация *Zp-V3* с неходжкинскими лимфомами у пациентов со СПИДом, а также с ЛБ [25]. Во всех случаях вариант *Zp-V3* был представлен исключительно штаммами ВЭБ-2 [25, 28, 49]. Сайт связывания для клеточного фактора транскрипции (*NFATc1*) в варианте *Zp-V3* (но не *Zp-P*) усиливает литическую реактивацию вируса [49, 50].

### *BARF1-варианты*

*BARF1* участвует в развитии ВЭБ-ассоциированных злокачественных новообразований. Выделяют два типа *BARF1*: *B95-8* и *V29A*, среди которых известны и подтипы. Один из двух подтипов *B95-8* (*B95-8<sup>p</sup>*) преобладал в Северном Китае, Европе, Америке и Австралии, а подтип *B95-8<sup>165545c</sup>* был обнаружен только в Азии, продемонстрировав высокую частоту встречаемости (81,2%) при РНГ в Южном Китае [51].

### *BART-варианты*

В области *BART* описан кластер, кодирующий 22 предшественника микроРНК, из которых в дальнейшем формируется пул из 40 зрелых молекул. Хорошо известно, что эти вирусные микроРНК модулируют воспалительный ответ, способствуют уходу ВЭБ из-под иммунного надзора, поддерживая латентную инфекцию, стимулируют канцерогенез. Следует отметить, что при разных формах эпителиального рака, ассоциированных с ВЭБ, суммарный уровень экспрессии микроРНК *BART* выше, чем в линиях лимфобластоидных клеток и при ЛБ [4, 52]. Выявленные однонуклеотидные полиморфизмы (SNP) в области *BART* приводят к гетерогенной экспрессии некоторых микроРНК. Хотя индивидуальные различия в экспрессии составляют всего 1,5–2,0 раза, их совокупный эффект может быть больше [28, 35, 52].

### *EBERs-варианты*

В ранних публикациях встречается информация о классификации ВЭБ на основе анализа генов малых РНК 1 и 2 (*EBER1* и *EBER2*) [53], которая не получила дальнейшего развития. Однако результаты работы К.Ф. Нуи и соавт. открывают новые перспективы их изучения. Авторы определили варианты ВЭБ с высоким риском развития РНГ [15]. Отметим, что *EBER1* и *EBER2* экспрессируются при всех ВЭБ-ассоциированных злокачественных новообразованиях.

Из анализа данных литературы следует, что было предпринято много попыток классифицировать ВЭБ. Однако эти классификации часто не соответствовали друг другу. Большинство из них основывались на характеристике отдельного гена для сортировки штаммов, но не принимали во внимание геномную изменчивость и многочисленные рекомбинантные области, присутствующие в геноме ВЭБ.

С 2014 г. началась эра полногеномного секвенирования в изучении генетического разнообразия ВЭБ. В последние годы значительно возросло число публикаций по секвенированию полного генома ВЭБ [7]. Развитие технологий обогащения ДНК позволило существенно расширить возможности анализа не только линий лимфобластоидных

клеток [19, 34, 54], но и первичных образцов биоматериала (биоптаты опухолевых тканей, кровь, смывы ротовой полости, ротоглотки), полученного от лиц с ВЭБ-ассоциированными заболеваниями и здоровых вирусоносителей [8, 15, 18, 19, 35]. Полученные разными исследователями новые последовательности генома ВЭБ существенно расширили представления о глобальной генетической изменчивости вируса. Так, в контексте всего генома ВЭБ при множественном выравнивании, например, только 18 последовательностей генома ВЭБ из образцов биопсии РНГ могут содержать в общей сложности 20 570 вариаций, включая 20 328 SNP, 88 вставок и 154 делеции, по сравнению с эталонным геномом вируса [55].

Развитие методических подходов на основе полногеномного секвенирования позволило определить главные паттерны генетического разнообразия ВЭБ. Первым паттерном является классификация на два основных типа — ВЭБ-1 и ВЭБ-2, которая определяется исключительно вариативностью генов *EBNA-2* и *EBNA-3* [7, 8, 18, 19, 28, 34, 35, 56]. Второй паттерн — географический. При этом глобальная популяция ВЭБ (за исключением одной работы [21]) разделяется на 2 клады — азиатские и неазиатские [7, 8, 18, 19, 28, 35].

Дальнейший анализ продемонстрировал сложную структуру популяции ВЭБ в зависимости от методического подхода, применяемого авторами. В опубликованных работах использовался разный набор последовательностей генома ВЭБ, представленных в GenBank. При этом большинство исследователей исключали из анализа последовательности, соответствующие ВЭБ-2, в связи с их небольшой представленностью. Кроме того, одни авторы отмечали высокую степень рекомбинации и крайние различия в плотности SNP между связанными с латентностью и структурой вируса генами, что затрудняло интерпретацию филогенетических деревьев больших областей генома и препятствовало точной идентификации происхождения штаммов [19, 20, 34], а другие находили ограниченное искажающее влияние рекомбинации на результаты исследований [7, 18].

В результате были представлены разные модели географической изменчивости ВЭБ. Например, М. Chiara и соавт. описали 10 географических популяций, из них 8 так называемых «чистых» популяций, т.е. с низкой (<10%) вероятностью смешивания [54]. Обращает внимание новая классификация L. Zanella и соавт., названная ВЭБ-филопопуляцией (EBV-p) [20]. Авторы применили новый подход, исключавший из анализа рекомбинантные области, что позволило охарактеризовать 12 популяций вируса и установить не только географические взаимосвязи, но и ассоциации с некоторыми заболеваниями. F. Wegner и соавт. охарактеризовали



авт. [41] в свете современных представлений о геномной изменчивости ВЭБ, что требует переоценки подходов к её использованию во вновь планируемых исследованиях [19, 37].

Таким образом, за последнее десятилетие достижения в области секвенирования расширили существующие представления о глобальных закономерностях генетического разнообразия ВЭБ [26]. В целом подход на основе полногеномного секвенирования к настоящему времени позволил установить взаимосвязь циркулирующих штаммов ВЭБ с определённым географическим положением, однако оставил открытым вопрос о связи генетического разнообразия вируса с рядом ВЭБ-ассоциированных патологий.

К настоящему времени накоплено недостаточное количество данных, позволяющих оценить, как генетические вариации ВЭБ в масштабе всего генома могут влиять на инфекцию или патогенез ВЭБ-ассоциированных заболеваний. Хотя основное внимание исследователей по-прежнему направлено на поиск специфических вариантов и подтипов ВЭБ с высокой канцерогенностью, в литературе встречаются отдельные исследовательские работы по изучению естественной изменчивости генома ВЭБ при ИМ [7, 45], хронической активной ВЭБ-инфекции [35], рассеянном склерозе [54], постепенно увеличивается число новых последовательностей генома ВЭБ здоровых лиц [18].

За анализируемый период наибольшие достижения отмечены в области изучения специфических вариантов и подтипов ВЭБ высокого онкогенного риска, связанных с возникновением и развитием эндемичного РНГ на юге Китая. По итогам исследований последних лет сообщается о наборе новых генетических маркеров ВЭБ, ассоциированных с РНГ, включая вариант *EBERs HKNPC-EBERvar*, а также полиморфизмы генов *RPMS1 C155391A*, *A73 A157154C*, *BALF2 162476\_C* или *163364\_T*, *miR-BART7-3p* и *miR-BART13-3p*. Тем самым внимание исследователей концентрируется на необходимости переоценки роли вариаций в области *EBER*, *BART*, некоторых литических и структурных белков ВЭБ в канцерогенезе [57]. Наконец, одна из последних работ группы китайских исследователей, W.Q. Хуе и соавт. [8], основана на всестороннем генетическом анализе 628 геномов ВЭБ (231 случай рака, 397 контрольных) и 792 последовательностей единичных генов/белков-мишеней из GenBank. Важно отметить, что это исследование выполнялось на основе принципа случай–контроль. Филогенетический анализ и анализ главных компонент аминокислотных последовательностей, сгенерированных из 22 генов ВЭБ, отобранных авторами целевым образом, позволил в дополнение к общей географической сегрегации Азия — Запад/Африка установить «уникальный для Китая» кластер (96,57% изолятов

из Китая), связанный с РНГ, по сравнению со здоровым населением (89,6% против 44,5%). Из этого кластера были идентифицированы четыре РНГ-ассоциированные аминокислотные замены, расположенные в 3 белках (*BALF2 V317M*, *BNRF1 G696R*, *BNRF1 V1222I*, *RPMS1 D51E*). Комбинация этих 4 вариантов даёт показатель наиболее высокого риска ( $OR = 32,00$ ; 95% ДИ 9,18–111,49), что позволяет оценить подтип ВЭБ, содержащий эти мутации, как канцерогенный в китайской популяции. Положительный отбор в эволюции белков-кандидатов дополнительно подтверждает значение этих подтипов высокого риска. Необходимы дальнейшие исследования, направленные на фенотипическое изучение подтипов и вариантов ВЭБ, что позволит в дальнейшем сформировать группы высокого онкогенного риска, среди представителей которых будет проводиться мониторинг с целью раннего выявления РНГ. Последующая разработка штамм-ориентированных вакцин позволит реализовать глобальную стратегию первичной профилактики развития РНГ [8].

При этом следует констатировать объективные трудности в изучении вопроса, посвящённого развитию исследований в области генетического разнообразия ВЭБ в настоящее время. На фоне динамичного развития данного направления исследований в публикациях можно отметить некоторый информационный хаос. Это обусловлено тем, что выводы исследователей пока основываются на относительно небольшом количестве геномов, секвенированных с переменным качеством, проанализированных с применением разных биоинформационных стратегий, с неравнозначной выборкой с точки зрения географического происхождения. При этом некоторые нозологические формы ВЭБ-ассоциированных заболеваний, географические области и этнические группы остаются не охарактеризованными. Сведения о проведении полногеномных исследований ВЭБ в России отсутствуют.

В частности, только 80% (628/781) геномных последовательностей из GenBank были аннотированы в достаточной для анализа степени и включали информацию о заболеваниях/состоянии здоровья, географическом происхождении, типе образца. Кроме того, распределение данных о геномах ВЭБ по их источнику и географическому происхождению отличается выраженной неравномерностью: почти 40% из них представлены последовательностями из Китая, несколько меньше — из Восточной Азии (в основном из Японии и Южной Кореи), а на долю Европы, Америки и Африки приходится менее 10% на фоне практически полного отсутствия охарактеризованных изолятов, выделенных от здоровых людей [8].

Большой размер генома ВЭБ по сравнению с другими вирусами делает крупномасштабное секвенирование его геномов дорогостоящим и тру-

доёмким. Технологии NGS возродили интерес к изучению генома ВЭБ и его связи с заболеваниями. В настоящее время в специализированных базах данных депонируется всё большее количество геномов ВЭБ [26]. Вместе с тем характеристика геномов ВЭБ, полученных из крови здоровых людей, остаётся сложной задачей в связи с низкой концентрацией вируса по сравнению с ДНК человека (от 1 до 10 копий ВЭБ/нг ДНК крови), а секвенирование геномов ВЭБ, полученных из слюны, приводит к удовлетворительному результату примерно в 20% образцов, что требует оптимизации протокола исследования. Кроме того, подготовка геномных библиотек в отношении ВЭБ гораздо менее эффективна в связи с наличием большого числа GC-регионов. Анализ геномных вариаций ВЭБ также затруднён вследствие методических ограничений, обусловленных наличием повторяющихся областей [25, 35]. Дальнейшее развитие технологии секвенирования наряду с оптимизацией существующих алгоритмов пробоподготовки позволит проводить изучение вариаций в повторяющихся регионах генома ВЭБ во взаимосвязи с развитием различных заболеваний на качественно новом уровне [15].

С ростом числа доступных геномов ВЭБ всё более важным аспектом становится разработка определённых критериев установления биологической значимости геномных вариаций вируса и их дальнейшего применения в клинической практике. В настоящее время не существует экспериментальной системы для исследования фенотипических изменений, вызванных генетическими вариациями ВЭБ, что представляет собой серьёзную проблему для будущих исследований [5].

Ранее были изложены критерии ВЭБ-ассоциированного онкогенеза [2]. Во-первых, ВЭБ должен присутствовать практически в каждой опухолевой клетке. Во-вторых, вирусная ДНК должна быть клональной (или олигоклональной), что указывало бы на происхождение опухоли из единственной инфицированной вирусом клетки. В-третьих, в случае злокачественных новообразований эпителиальных клеток вирусная ДНК должна присутствовать в диспластических поражениях, что указывает на ВЭБ-инфекцию именно во время онкогенеза. В-четвёртых, должен быть экспрессирован по крайней мере один латентный ген, связанный с ВЭБ, как свидетельство активной роли вируса в поддержании опухолевого процесса.

В общем контексте изучения ВЭБ-ассоциированных заболеваний дизайн исследований следует планировать с учётом анализа соответствующих контрольных последовательностей ВЭБ, так называемого ВЭБ дикого типа, циркулирующего среди иммунокомпетентных лиц без клинических признаков данного заболевания, проживающих в одном и том же географическом регионе и составляющих

определённую этническую группу. Обычной практикой является включение контроля, соответствующего возрасту и полу. При этом следует оценивать биосубстраты, полученные у одного и того же индивида или из одного и того же компартмента у разных лиц [26]. В настоящее время новые полногеномные исследования в формате случай–контроль остаются немногочисленными [8, 25]. Анализ геномных вариаций ВЭБ без сравнения с популяционным контролем может привести к риску определения географических вариаций как вариаций, связанных с заболеванием [15].

## Заключение

Проведённый анализ данных литературы позволяет сделать следующие выводы.

1. Единой унифицированной системы, учитывающей всё генетическое разнообразие ВЭБ на основе применения метода гена-кандидата, сильные и слабые стороны как более ранних, так и современных классификаций, не существует. Большинство публикаций посвящены изучению онкогена *LMP-1*.

2. Развитие методических подходов на основе полногеномного секвенирования позволило определить главные паттерны генетического разнообразия ВЭБ. Первый паттерн — классификация на два основных типа — ВЭБ-1 и ВЭБ-2. Второй паттерн — географический, при этом популяция ВЭБ-1 разделяется на две клады — азиатские и неазиатские. Полногеномные последовательности ВЭБ-2 относительно малочисленны. Применение отличающихся авторских подходов генерирует разные географические модели распространённости субпопуляций вируса. Масштабных исследований клинической стратификации генетической изменчивости ВЭБ в контексте полного генома явно недостаточно. Значительная доля выявляемых вариантов и подтипов ВЭБ остаётся с неизученными фенотипическими характеристиками.

3. Для перспективного развития методологии молекулярно-биологических исследований в клинической практике и эпидемиологическом надзоре за ВЭБ-ассоциированными заболеваниями необходимо:

- оптимизировать существующие подходы к обогащению ДНК в клинических образцах с низкой вирусной нагрузкой;
- развивать технологии секвенирования повторяющихся областей генома ВЭБ и исследование проб, содержащих несколько штаммов;
- расширить географическое представительство последовательностей вирусных геномов, сбалансировав размер выборок по отдельным нозологическими формам (не только онкологические заболевания, но и разные формы ВЭБ-инфекции), а также здоровых вирусоносителей;

- каждую новую последовательность генома сопровождать аннотацией с достаточным объёмом информации об источнике;
- планировать дизайн исследований в формате случай–контроль;
- изучать фенотипические свойства новых кандидатов с потенциально высоким риском развития ВЭБ-ассоциированных заболеваний.

Развитие и оптимизация методических подходов на основе полногеномного секвенирования и секвенирования определённого набора генов будут способствовать расширению существующих представлений о генетическом разнообразии ВЭБ в мире, его связи с заболеваниями и, возможно, клиническими особенностями их течения, совершенствованию эпидемиологического надзора за ВЭБ-инфекцией.

#### СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

- Epstein M.A., Achong B.G., Barr Y.M. Virus particles in cultured lymphoblasts from Burkitt's lymphoma. *Lancet*. 1964; 1(7335): 702–3. [https://doi.org/10.1016/s0140-6736\(64\)91524-7](https://doi.org/10.1016/s0140-6736(64)91524-7)
- Knipe D.M., Howley P.M. *Fields virology*. 6<sup>th</sup> ed. Philadelphia: Wolters Kluwer Health/Lippincott Williams & Wilkins; 2013.
- Khan G., Fitzmaurice C., Naghavi M., Ahmed L.A. Global and regional incidence, mortality and disability-adjusted life-years for Epstein–Barr virus-attributable malignancies, 1990–2017. *BMJ Open*. 2020; 10(8): e037505. <https://doi.org/10.1136/bmjopen-2020-037505>
- Corvalán A.H., Ruedlinger J., de Mayo T., Polakovicova I., Gonzalez-Hormazabal P., Aguayo F. The phylogeographic diversity of EBV and admixed ancestry in the Americas — another model of disrupted human-pathogen co-evolution. *Cancers (Basel)*. 2019; 11(2): 217. <https://doi.org/10.3390/cancers11020217>
- Kanda T., Yajima M., Ikuta K. Epstein–Barr virus strain variation and cancer. *Cancer Sci*. 2019; 110(4): 1132–9. <https://doi.org/10.1111/cas.13954>
- Neves M., Marinho-Dias J., Ribeiro J., Sousa H. Epstein–Barr virus strains and variations: Geographic or disease-specific variants? *J. Med. Virol*. 2017; 89(3): 373–87. <https://doi.org/10.1002/jmv.24633>
- Blazquez A.C., Berenstein A.J., Torres C., Izquierdo A., Lezama C., Moscatelli G., et al. Comprehensive evolutionary analysis of complete Epstein–Barr virus genomes from Argentina and other geographies. *Viruses*. 2021; 13(6): 1172. <https://doi.org/10.3390/v13061172>
- Xue W.Q., Wang T.M., Huang J.W., Zhang J.B., He Y.Q., Wu Z.Y., et al. A comprehensive analysis of genetic diversity of EBV reveals potential high-risk subtypes associated with nasopharyngeal carcinoma in China. *Virus Evol*. 2021; 7(1): veab010. <https://doi.org/10.1093/ve/veab010>
- 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 *LMP-1* у больных ВЭБ-ассоциированными патологиями и здоровых лиц. *Вопросы вирусологии*. 2015; 60(2): 11–7.
- Государственный доклад «О состоянии санитарно-эпидемиологического благополучия населения в Российской Федерации в 2020 году». М.; 2021.
- Смирнова К.В., Дидук С.В., Гурцевич В.Э. Полиморфизм онкогена *LMP-1* вируса Эпштейна–Барр у представителей коренного малочисленного народа Дальнего Востока России. *Эпидемиология и инфекционные болезни*. 2017; 22(5): 239–47. <https://doi.org/10.18821/1560-9529-2017-22-5-239-247>
- 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; 65(2): 77–86. <https://doi.org/10.36233/0507-4088-2020-65-2-77-86>
- Гурцевич В.Э., Смирнова К.В., Ботезату И.В., Душенькина Т.Е., Лубенская А.К., Дубар Э. и соавт. Полиморфизм онкогена *LMP-1* вируса Эпштейна–Барр в двух этнических группах России, татар и славян, и его влияние на развитие некоторых злокачественных опухолей. *Инфекция и иммунитет*. 2020; 10(2): 347–58. <https://doi.org/10.15789/2220-7619-EBV-1162>
- Сенюта Н.Б., Игнатова А.В., Ломаю М.В., Гончарова Е.В., Щербак Л.Н., Душенькина Т.Е. и соавт. Вирус Эпштейна–Барр у больных раком носоглотки и здоровых лиц в двух географически различных регионах России. *Инфекция и иммунитет*. 2017; 7(1): 41–50. <https://doi.org/10.15789/2220-7619-2017-1-41-50>
- Hui K.F., Chan T.F., Yang W., Shen J.J., Lam K.P., Kwok H., et al. High-risk Epstein–Barr virus variants characterized by distinct polymorphisms in the EBER locus are strongly associated with nasopharyngeal carcinoma. *Int. J. Cancer*. 2019; 144(12): 3031–42. <https://doi.org/10.1002/ijc.32049>
- Xu M., Zhang W.L., Zhu Q., Zhang S., Yao Y.Y., Xiang T., et al. Genome-wide profiling of Epstein–Barr virus integration by targeted sequencing in Epstein–Barr virus associated malignancies. *Theranostics*. 2019; 9(4): 1115–24. <https://doi.org/10.7150/thno.29622>
- Zhou L., Chen J.N., Qiu X.M., Pan Y.H., Zhang Z.G., Shao C.K. Comparative analysis of 22 Epstein–Barr virus genomes from diseased and healthy individuals. *J. Gen. Virol*. 2017; 98(1): 96–107. <https://doi.org/10.1099/jgv.0.000699>
- Telford M., Hughes D.A., Juan D., Stoneking M., Navarro A., Santpere G. Expanding the geographic characterisation of Epstein–Barr virus variation through gene-based approaches. *Microorganisms*. 2020; 8(11): 1686. <https://doi.org/10.3390/microorganisms8111686>
- Palser A.L., Grayson N.E., White R.E., Corton C., Correia S., Ba Abdullah M.M., et al. Genome diversity of Epstein–Barr virus from multiple tumor types and normal infection. *J. Virol*. 2015; 89(10): 5222–37. <https://doi.org/10.1128/JVI.03614-14>
- Zanella L., Riquelme I., Buchegger K., Abanto M., Ili C., Brebi P. A reliable Epstein–Barr virus classification based on phylogenomic and population analyses. *Sci. Rep*. 2019; 9(1): 9829. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-45986-3>
- Wegner F., Lassalle F., Depledge D.P., Balloux F., Breuer J. Co-evolution of sites under immune selection shapes Epstein–Barr virus population structure. *Mol. Biol. Evol*. 2019; 36(11): 2512–21. <https://doi.org/10.1093/molbev/msz152>
- Baer R., Bankier A.T., Biggin M.D., Deininger P.L., Farrell P.J., Gibson T.G. DNA sequence and expression of the B95-8 Epstein–Barr virus genome. *Nature (London)*. 1984; 310(5974): 207–11. <https://doi.org/10.1038/310207a0>
- 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; 81(23): 7632–6. <https://doi.org/10.1073/pnas.81.23.7632>
- Sample J., Young L., Martin B., Chatman T., Kieff E., Rickinson A., et al. Epstein–Barr virus types 1 and 2 differ in their EBNA-3A, EBNA3B, and EBNA-3C genes. *J. Virol*. 1990; 64(9): 4084–92. <https://doi.org/10.1128/JVI.64.9.4084-4092.1990>
- Kaymaz Y., Oduor C.I., Aydemir O., Luftig M.A., Otieno J.A., Ong'echa J.M., et al. Epstein–Barr virus genomes reveal po-

- pulation structure and type 1 association with endemic Burkitt lymphoma. *J. Virol.* 2020; 94(17): e02007-19. <https://doi.org/10.1128/JVI.02007-19>
26. Kwok H., Chiang A.K. From conventional to next generation sequencing of Epstein–Barr virus genomes. *Viruses.* 2016; 8(3): 60. <https://doi.org/10.3390/v8030060>
27. Smatti M.K., Al-Sadeq D.W., Ali N.H., Pintus G., Abou-Saleh H., Nasrallah G.K. Epstein–Barr virus epidemiology, serology, and genetic variability of *LMP-1* oncogene among healthy population: an update. *Front. Oncol.* 2018; 8: 211. <https://doi.org/10.3389/fonc.2018.00211>
28. Correia S., Palser A., Elgueta Karstegl C., Middeldorp J.M., Ramayanti O., Cohen J.I., et al. Natural variation of Epstein–Barr virus genes, proteins, and primary MicroRNA. *J. Virol.* 2017; 91(15): e00375-17. <https://doi.org/10.1128/JVI.00375-17>
29. Попкова М.И., Уткин О.В., Соболева Е.А., Сахарнов Н.А., Брызгалова Д.А., Сенатская А.О. и соавт. Методические основы дифференциальной детекции ВЭБ1/ВЭБ2 и ВГЧ6А/ВГЧ6В. *Инфекция и иммунитет.* 2021; 11(6): 1057–66. <https://doi.org/10.15789/2220-7619-MBF-1661>
30. Traore L., Nikiema O., Ouattara A.K., Compaore T.R., Soubeiga S.T., Diarra B., et al. 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; 9(1): e2017049. <https://doi.org/10.4084/mjhid.2017.049>
31. 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; 61(5): 1310–7. <https://doi.org/10.1128/JVI.61.5.1310-1317.1987>
32. Tsai M.H., Lin X., Shumilov A., Bernhardt K., Feederle R., Poirey R., et al. The biological properties of different Epstein–Barr virus strains explain their association with various types of cancers. *Oncotarget.* 2017; 8(6): 10238–54. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.14380>
33. Monteiro T.A.F., Costa I.B., Costa I.B., Corrêa T.L.D.S., Coelho B.M.R., Silva A.E.S., et al. 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; 24(4): 322–9. <https://doi.org/10.1016/j.bjid.2020.06.004>
34. Santpere G., Darre F., Blanco S., Alcamí A., Villoslada P., Mar Albà M., et al. Genome-wide analysis of wild-type Epstein–Barr virus genomes derived from healthy individuals of the 1,000 genomes project. *Genome Biol. Evol.* 2014; 6(4): 846–60. <https://doi.org/10.1093/gbe/evu054>
35. Correia S., Bridges R., Wegner F., Venturini C., Palser A., Middeldorp J.M., et al. Sequence variation of Epstein–Barr virus: viral types, geography, codon usage, and diseases. *J. Virol.* 2018; 92(22): e01132-18. <https://doi.org/10.1128/JVI.01132-18>
36. Banko A., Miljanovic D., Lazarevic I., Cirkovic A. A systematic review of Epstein–Barr virus latent membrane protein 1 (LMP-1) gene variants in nasopharyngeal carcinoma. *Pathogens.* 2021; 10(8): 1057. <https://doi.org/10.3390/pathogens10081057>
37. Liao H.M., Liu H., Lei H., Li B., Chin P.J., Tsai S., et al. Frequency of EBV LMP-1 promoter and coding variations in Burkitt lymphoma samples in Africa and South America and peripheral blood in Uganda. *Cancers (Basel).* 2018; 10(6): 177. <https://doi.org/10.3390/cancers10060177>
38. Hu L.F., Zabarovsky E.R., Chen F., Cao S.L., Ernberg I., Klein G., et al. Isolation and sequencing of the Epstein–Barr virus *BNLF-1* gene (LMP-1) from a Chinese nasopharyngeal carcinoma. *J. Gen. Virol.* 1991; 72(Pt. 10): 2399–409. <https://doi.org/10.1099/0022-1317-72-10-2399>
39. Sandvej K., Gratama J.W., Munch M., Zhou X.G., Bolhuis R.L., Andresen B.S., et al. Sequence analysis of the Epstein–Barr virus (EBV) latent membrane protein-1 gene and promoter region: identification of four variants among wild-type EBV isolates. *Blood.* 1997; 90(1): 323–30. <https://doi.org/10.1182/blood.V90.1.323>
40. Яковлева Л.С., Сенюта Н.Б., Гончарова Е.В., Щербак Л.Н., Смирнова К.В., Павлиш О.А. и соавт. Варианты онкогена *LMP-1* вируса Эпштейна–Барр в клеточных линиях различного происхождения. *Молекулярная биология.* 2015; 49(5): 800–10. <https://doi.org/10.7868/S0026898415050213>
41. Edwards R.H., Seillier-Moisewitsch F., Raab-Traub N. Signature amino acid changes in latent membrane protein 1 distinguish Epstein–Barr virus strains. *Virology.* 1999; 261(1): 79–95. <https://doi.org/10.1006/viro.1999.9855>
42. Walling D.M., Shebib N., Weaver S.C., Nichols C.M., Flaitz C.M., Webster-Cyriaque J. The molecular epidemiology and evolution of Epstein–Barr virus: Sequence variation and genetic recombination in the latent membrane protein-1 gene. *J. Infect. Dis.* 1999; 179(4): 763–74. <https://doi.org/10.1086/314672>
43. Lei H., Li T., Li B., Tsai S., Biggar R.J., Nkrumah F., et al. Epstein–Barr virus from Burkitt lymphoma biopsies from Africa and South America share novel LMP-1 promoter and gene variations. *Sci. Rep.* 2015; 5: 16706. <https://doi.org/10.1038/srep16706>
44. Tierney R.J., Edwards R.H., Sitki-Green D., Croom-Carter D., Roy S., Yao Q.Y., et al. Multiple Epstein–Barr virus strains in patients with infectious mononucleosis: comparison of *ex vivo* samples with *in vitro* isolates by use of heteroduplex tracking assays. *J. Infect. Dis.* 2006; 193(3): 287–97. <https://doi.org/10.1086/498913>
45. Weiss E.R., Lamers S.L., Henderson J.L., Melnikov A., Somasundaran M., Garber M., et al. Early Epstein–Barr virus genomic diversity and convergence toward the B95.8 genome in primary infection. *J. Virol.* 2018; 92(2): e01466-17. <https://doi.org/10.1128/JVI.01466-17>
46. Bhatia K., Raj A., Guitierrez M.I., Judde J.G., Spangler G., Venkatesh H., et al. Variation in the sequence of Epstein–Barr virus nuclear antigen 1 in normal peripheral blood lymphocytes and in Burkitt's lymphomas. *Oncogene.* 1996; 13(1): 177–81.
47. Thuan L.D., Kha N.D., Minh N.T., Thuy L. Novel patterns of the Epstein–Barr nuclear antigen (EBNA-1) V-Val subtype in EBV-associated nasopharyngeal carcinoma from Vietnam. *Balkan. J. Med. Genet.* 2019; 22(1): 61–8. <https://doi.org/10.2478/bjmg-2019-0011>
48. Martini M., Capello D., Serraino D., Navarra A., Pierconti F., Cenci T., et al. Characterization of variants in the promoter of EBV gene BZLF1 in normal donors, HIV-positive patients and in AIDS-related lymphomas. *J. Infect.* 2007; 54(3): 298–306. <https://doi.org/10.1016/j.jinf.2006.04.015>
49. Bristol J.A., Djavadian R., Albright E.R., Coleman C.B., Ohashi M., Hayes M., et al. A cancer-associated Epstein–Barr virus BZLF1 promoter variant enhances lytic infection. *PLoS Pathog.* 2018; 14(7): e1007179. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1007179>
50. Gumperz J., Sherer N.M., Farrell P.J., Johannsen E.C., Kenney S.C. B cells infected with type 2 Epstein–Barr virus (EBV) have increased NFATc1/NFATc2 activity and enhanced lytic gene expression in comparison to Type 1 EBV infection. *PLoS Pathog.* 2020; 16(2): e1008365. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1008365>
51. Liu J., Ji X., Shen Z., Wang Ph.D. Y., Luo Ph.D. B. Sequence variations of Epstein–Barr virus-encoded BARF1 gene in nasopharyngeal carcinomas and healthy donors from southern and northern China. *J. Med. Virol.* 2018; 90(10): 1629–35. <https://doi.org/10.1002/jmv.25233>
52. Kim H., Burassakarn A., Kang Y., Iizasa H., Yoshiyama H. A single nucleotide polymorphism in the BART promoter region of Epstein–Barr virus isolated from nasopharyngeal cancer

cells. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2019; 520(2): 373–8. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2019.10.028>

53. Wang Y., Zhang X., Chao Y., Jia Y., Xing X., Luo B. New variations of Epstein–Barr virus-encoded small RNA genes in nasopharyngeal carcinomas, gastric carcinomas, and healthy donors in northern China. *J. Med. Virol.* 2010; 82(5): 829–36. <https://doi.org/10.1002/jmv.21714>
  54. Chiara M., Manzari C., Lionetti C., Mechelli R., Anastasiadou E., Chiara Buscarinu M., et al. Geographic population structure in Epstein–Barr virus revealed by comparative genomics. *Genome Biol. Evol.* 2016; 8(11): 3284–91. <https://doi.org/10.1093/gbe/evw226>
  55. Tu C., Zeng Z., Qi P., Li X., Yu Z., Guo C., et al. Genome-Wide analysis of 18 Epstein–Barr viruses isolated from primary nasopharyngeal carcinoma biopsy specimens. *J. Virol.* 2017; 91(17): e00301-17. <https://doi.org/10.1128/JVI.00301-17>
  56. Bridges R., Correia S., Wegner F., Venturini C., Palser A., White R.E., et al. Essential role of inverted repeat in Epstein–Barr virus IR-1 in B cell transformation; geographical variation of the viral genome. *Philos. Trans. R. Soc. Lond. B Biol. Sci.* 2019; 374(1773): 20180299. <https://doi.org/10.1098/rstb.2018.0299>
  57. Siak P.Y., Khoo A.S., Leong C.O., Hoh B.P., Cheah S.C. Current status and future perspectives about molecular biomarkers of nasopharyngeal carcinoma. *Cancers (Basel)*. 2021; 13(14): 3490. <https://doi.org/10.3390/cancers13143490>
- REFERENCES
1. Epstein M.A., Achong B.G., Barr Y.M. Virus particles in cultured lymphoblasts from Burkitt's lymphoma. *Lancet.* 1964; 1(7335): 702–3. [https://doi.org/10.1016/s0140-6736\(64\)91524-7](https://doi.org/10.1016/s0140-6736(64)91524-7)
  2. Knipe D.M., Howley P.M. *Fields virology*. 6<sup>th</sup> ed. Philadelphia: Wolters Kluwer Health/Lippincott Williams & Wilkins; 2013.
  3. Khan G., Fitzmaurice C., Naghavi M., Ahmed L.A. Global and regional incidence, mortality and disability-adjusted life-years for Epstein–Barr virus-attributable malignancies, 1990–2017. *BMJ Open.* 2020; 10(8): e037505. <https://doi.org/10.1136/bmjopen-2020-037505>
  4. Corvalán A.H., Ruedlinger J., de Mayo T., Polakovicova I., Gonzalez-Hormazabal P., Aguayo F. The phylogeographic diversity of EBV and admixed ancestry in the Americas – another model of disrupted human-pathogen co-evolution. *Cancers (Basel)*. 2019; 11(2): 217. <https://doi.org/10.3390/cancers11020217>
  5. Kanda T., Yajima M., Ikuta K. Epstein–Barr virus strain variation and cancer. *Cancer Sci.* 2019; 110(4): 1132–9. <https://doi.org/10.1111/cas.13954>
  6. Neves M., Marinho-Dias J., Ribeiro J., Sousa H. Epstein–Barr virus strains and variations: Geographic or disease-specific variants? *J. Med. Virol.* 2017; 89(3): 373–87. <https://doi.org/10.1002/jmv.24633>
  7. Blazquez A.C., Berenstein A.J., Torres C., Izquierdo A., Lezama C., Moscatelli G., et al. Comprehensive evolutionary analysis of complete Epstein–Barr virus genomes from Argentina and other geographies. *Viruses*. 2021; 13(6): 1172. <https://doi.org/10.3390/v13061172>
  8. Xue W.Q., Wang T.M., Huang J.W., Zhang J.B., He Y.Q., Wu Z.Y., et al. A comprehensive analysis of genetic diversity of EBV reveals potential high-risk subtypes associated with nasopharyngeal carcinoma in China. *Virus Evol.* 2021; 7(1): ve-ab010. <https://doi.org/10.1093/ve/veab010>
  9. Goncharova E.V., Senyuta N.B., Smirnova K.V., Shcherbak L.N., Gurtsevich V.E. Epstein–Barr virus (EBV) in Russia: infection of the population and analysis of the LMP-1 gene variants in patients with EBV-associated pathologies and healthy individuals. *Voprosy virusologii.* 2015; 60(2): 11–7. (in Russian)
  10. State report «On the state of sanitary and epidemiological well-being of the population in the Russian Federation in 2020». Moscow; 2021. (in Russian)
  11. Smirnova K.V., Diduk S.V., Gurtsevich V.E. Polymorphism of Epstein–Barr virus LMP-1 oncogene in Nanaians, representatives of indigenous minority of the Russian Far East. *Epidemiologiya i infeksionnye bolezni.* 2017; 22(5): 239–47. <https://doi.org/10.18821/1560-9529-2017-22-5-239-247> (in Russian)
  12. Smirnova K.V., Senyuta N.B., Lubenskaya A.K., Dushen'kina T.E., Gurtsevich V.E. Ancient variants of the Epstein–Barr virus (Herpesviridae, Lymphocryptovirus, HHV-4): hypotheses and facts. *Voprosy virusologii.* 2020; 65(2): 77–86. <https://doi.org/10.36233/0507-4088-2020-65-2-77-86> (in Russian)
  13. Gurtsevich V.E., Smirnova K.V., Botezatu I.V., Dushen'kina T.E., Lubenskaya A.K., Dubar E., et al. Epstein–Barr virus LMP-1 oncogene polymorphism in Tatar and Slavic populations in Russian Federation impacting on some malignant tumours. *Infektsiya i immunitet.* 2020; 10(2): 347–58. <https://doi.org/10.15789/2220-7619-EBV-1162> (in Russian)
  14. Senyuta N.B., Ignatova A.V., Lomaya M.V., Goncharova E.V., Shcherbak L.N., Dushen'kina T.E., et al. Epstein–Barr virus in the population of two geographically different regions of Russia. *Infektsiya i immunitet.* 2017; 7(1): 41–50. <https://doi.org/10.15789/2220-7619-2017-1-41-50> (in Russian)
  15. Hui K.F., Chan T.F., Yang W., Shen J.J., Lam K.P., Kwok H., et al. High-risk Epstein–Barr virus variants characterized by distinct polymorphisms in the EBER locus are strongly associated with nasopharyngeal carcinoma. *Int. J. Cancer.* 2019; 144(12): 3031–42. <https://doi.org/10.1002/ijc.32049>
  16. Xu M., Zhang W.L., Zhu Q., Zhang S., Yao Y.Y., Xiang T., et al. Genome-wide profiling of Epstein–Barr virus integration by targeted sequencing in Epstein–Barr virus associated malignancies. *Theranostics.* 2019; 9(4): 1115–24. <https://doi.org/10.7150/thno.29622>
  17. Zhou L., Chen J.N., Qiu X.M., Pan Y.H., Zhang Z.G., Shao C.K. Comparative analysis of 22 Epstein–Barr virus genomes from diseased and healthy individuals. *J. Gen. Virol.* 2017; 98(1): 96–107. <https://doi.org/10.1099/jgv.0.000699>
  18. Telford M., Hughes D.A., Juan D., Stoneking M., Navarro A., Santpere G. Expanding the geographic characterisation of Epstein–Barr virus variation through gene-based approaches. *Microorganisms.* 2020; 8(11): 1686. <https://doi.org/10.3390/microorganisms8111686>
  19. Palser A.L., Grayson N.E., White R.E., Corton C., Correia S., Ba Abdullah M.M., et al. Genome diversity of Epstein–Barr virus from multiple tumor types and normal infection. *J. Virol.* 2015; 89(10): 5222–37. <https://doi.org/10.1128/JVI.03614-14>
  20. Zanella L., Riquelme I., Buchegger K., Abanto M., Ili C., Brebi P. A reliable Epstein–Barr virus classification based on phylogenomic and population analyses. *Sci. Rep.* 2019; 9(1): 9829. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-45986-3>
  21. Wegner F., Lassalle F., Depledge D.P., Balloux F., Breuer J. Co-evolution of sites under immune selection shapes Epstein–Barr virus population structure. *Mol. Biol. Evol.* 2019; 36(11): 2512–21. <https://doi.org/10.1093/molbev/msz152>
  22. Baer R., Bankier A.T., Biggin M.D., Deininger P.L., Farrell P.J., Gibson T.G. DNA sequence and expression of the B95-8 Epstein–Barr virus genome. *Nature (London)*. 1984; 310(5974): 207–11. <https://doi.org/10.1038/310207a0>
  23. 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; 81(23): 7632–6. <https://doi.org/10.1073/pnas.81.23.7632>
  24. Sample J., Young L., Martin B., Chatman T., Kieff E., Rickinson A., et al. Epstein–Barr virus types 1 and 2 differ in their EBNA-3A, EBNA3B, and EBNA-3C genes. *J. Virol.* 1990; 64(9): 4084–92. <https://doi.org/10.1128/JVI.64.9.4084-4092.1990>
  25. Kaymaz Y., Oduor C.I., Aydemir O., Luftig M.A., Otieno J.A., Ong'echa J.M., et al. Epstein–Barr virus genomes reveal popu-

- lation structure and type 1 association with endemic Burkitt lymphoma. *J. Virol.* 2020; 94(17): e02007-19. <https://doi.org/10.1128/JVI.02007-19>
26. Kwok H., Chiang A.K. From conventional to next generation sequencing of Epstein-Barr virus genomes. *Viruses.* 2016; 8(3): 60. <https://doi.org/10.3390/v8030060>
27. Smatti M.K., Al-Sadeq D.W., Ali N.H., Pintus G., Abou-Saleh H., Nasrallah G.K. Epstein-Barr virus epidemiology, serology, and genetic variability of LMP-1 oncogene among healthy population: an update. *Front. Oncol.* 2018; 8: 211. <https://doi.org/10.3389/fonc.2018.00211>
28. Correia S., Palser A., Elgueta Karstegl C., Middeldorp J.M., Ramayanti O., Cohen J.I., et al. Natural variation of Epstein-Barr virus genes, proteins, and primary MicroRNA. *J. Virol.* 2017; 91(15): e00375-17. <https://doi.org/10.1128/JVI.00375-17>
29. Popkova M.I., Utkin O.V., Soboleva E.A., Sakharnov N.A., Bryzgalova D.A., Senatskaya A.O., et al. Methodological basics for differential detection of EBV1/EBV2 and HHV6A/HHV6B. *Infektsiya i immunitet.* 2021; 11(6): 1057-66. <https://doi.org/10.15789/2220-7619-MBF-1661> (in Russian)
30. Traore L., Nikiema O., Ouattara A.K., Compaore T.R., Soubeyga S.T., Diarra B., et al. 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; 9(1): e2017049. <https://doi.org/10.4084/mjihid.2017.049>
31. 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; 61(5): 1310-7. <https://doi.org/10.1128/JVI.61.5.1310-1317.1987>
32. Tsai M.H., Lin X., Shumilov A., Bernhardt K., Feederle R., Poirey R., et al. The biological properties of different Epstein-Barr virus strains explain their association with various types of cancers. *Oncotarget.* 2017; 8(6): 10238-54. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.14380>
33. Monteiro T.A.F., Costa I.B., Costa I.B., Corrêa T.L.D.S., Coelho B.M.R., Silva A.E.S., et al. 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; 24(4): 322-9. <https://doi.org/10.1016/j.bjid.2020.06.004>
34. Santpere G., Darre F., Blanco S., Alcamí A., Villoslada P., Mar Albà M., et al. Genome-wide analysis of wild-type Epstein-Barr virus genomes derived from healthy individuals of the 1,000 genomes project. *Genome Biol. Evol.* 2014; 6(4): 846-60. <https://doi.org/10.1093/gbe/evu054>
35. Correia S., Bridges R., Wegner F., Venturini C., Palser A., Middeldorp J.M., et al. Sequence variation of Epstein-Barr virus: viral types, geography, codon usage, and diseases. *J. Virol.* 2018; 92(22): e01132-18. <https://doi.org/10.1128/JVI.01132-18>
36. Banko A., Miljanovic D., Lazarevic I., Cirkovic A. A systematic review of Epstein-Barr virus latent membrane protein 1 (LMP-1) gene variants in nasopharyngeal carcinoma. *Pathogens.* 2021; 10(8): 1057. <https://doi.org/10.3390/pathogens10081057>
37. Liao H.M., Liu H., Lei H., Li B., Chin P.J., Tsai S., et al. Frequency of EBV LMP-1 promoter and coding variations in Burkitt lymphoma samples in Africa and South America and peripheral blood in Uganda. *Cancers (Basel).* 2018; 10(6): 177. <https://doi.org/10.3390/cancers10060177>
38. Hu L.F., Zabarovsky E.R., Chen F., Cao S.L., Ernberg I., Klein G., et al. Isolation and sequencing of the Epstein-Barr virus BNLF-1 gene (LMP-1) from a Chinese nasopharyngeal carcinoma. *J. Gen. Virol.* 1991; 72(Pt. 10): 2399-409. <https://doi.org/10.1099/0022-1317-72-10-2399>
39. Sandvej K., Gratama J.W., Munch M., Zhou X.G., Bolhuis R.L., Andresen B.S., et al. Sequence analysis of the Epstein-Barr virus (EBV) latent membrane protein-1 gene and promoter region: identification of four variants among wild-type EBV isolates. *Blood.* 1997; 90(1): 323-30. <https://doi.org/10.1182/blood.V90.1.323>
40. Yakovleva L.S., Senyuta N.B., Goncharova E.V., Shcherbak L.N., Smirnova K.V., Pavlish O.A., et al. Epstein-Barr virus LMP-1 oncogene variants in cell lines of different origin. *Molekulyarnaya biologiya.* 2015; 49(5): 800-10. <https://doi.org/10.7868/S0026898415050213> (in Russian)
41. Edwards R.H., Seillier-Moisewitsch F., Raab-Traub N. Signature amino acid changes in latent membrane protein 1 distinguish Epstein-Barr virus strains. *Virology.* 1999; 261(1): 79-95. <https://doi.org/10.1006/viro.1999.9855>
42. Walling D.M., Shebib N., Weaver S.C., Nichols C.M., Flaitz C.M., Webster-Cyriaque J. The molecular epidemiology and evolution of Epstein-Barr virus: Sequence variation and genetic recombination in the latent membrane protein-1 gene. *J. Infect. Dis.* 1999; 179(4): 763-74. <https://doi.org/10.1086/314672>
43. Lei H., Li T., Li B., Tsai S., Biggar R.J., Nkrumah F., et al. Epstein-Barr virus from Burkitt lymphoma biopsies from Africa and South America share novel LMP-1 promoter and gene variations. *Sci. Rep.* 2015; 5: 16706. <https://doi.org/10.1038/srep16706>
44. Tierney R.J., Edwards R.H., Sitki-Green D., Croom-Carter D., Roy S., Yao Q.Y., et al. Multiple Epstein-Barr virus strains in patients with infectious mononucleosis: comparison of ex vivo samples with in vitro isolates by use of heteroduplex tracking assays. *J. Infect. Dis.* 2006; 193(3): 287-97. <https://doi.org/10.1086/498913>
45. Weiss E.R., Lamers S.L., Henderson J.L., Melnikov A., Somasundaram M., Garber M., et al. Early Epstein-Barr virus genomic diversity and convergence toward the B95.8 genome in primary infection. *J. Virol.* 2018; 92(2): e01466-17. <https://doi.org/10.1128/JVI.01466-17>
46. Bhatia K., Raj A., Guitierrez M.I., Judde J.G., Spangler G., Venkatesh H., et al. Variation in the sequence of Epstein-Barr virus nuclear antigen 1 in normal peripheral blood lymphocytes and in Burkitt's lymphomas. *Oncogene.* 1996; 13(1): 177-81.
47. Thuan L.D., Kha N.D., Minh N.T., Thuy L. Novel patterns of the Epstein-Barr nuclear antigen (EBNA-1) V-Val subtype in EBV-associated nasopharyngeal carcinoma from Vietnam. *Balkan. J. Med. Genet.* 2019; 22(1): 61-8. <https://doi.org/10.2478/bjmg-2019-0011>
48. Martini M., Capello D., Serraino D., Navarra A., Pierconti F., Cenci T., et al. Characterization of variants in the promoter of EBV gene BZLF1 in normal donors, HIV-positive patients and in AIDS-related lymphomas. *J. Infect.* 2007; 54(3): 298-306. <https://doi.org/10.1016/j.jinf.2006.04.015>
49. Bristol J.A., Djavadian R., Albrichter E.R., Coleman C.B., Ohashi M., Hayes M., et al. A cancer-associated Epstein-Barr virus BZLF1 promoter variant enhances lytic infection. *PLoS Pathog.* 2018; 14(7): e1007179. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1007179>
50. Gumperz J., Sherer N.M., Farrell P.J., Johannsen E.C., Kenney S.C. B cells infected with type 2 Epstein-Barr virus (EBV) have increased NFATc1/NFATc2 activity and enhanced lytic gene expression in comparison to Type 1 EBV infection. *PLoS Pathog.* 2020; 16(2): e1008365. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1008365>
51. Liu J., Ji X., Shen Z., Wang Ph.D. Y., Luo Ph.D. B. Sequence variations of Epstein-Barr virus-encoded BARTF1 gene in nasopharyngeal carcinomas and healthy donors from southern and northern China. *J. Med. Virol.* 2018; 90(10): 1629-35. <https://doi.org/10.1002/jmv.25233>
52. Kim H., Burassakarn A., Kang Y., Iizasa H., Yoshiyama H. A single nucleotide polymorphism in the BART promoter region of Epstein-Barr virus isolated from nasopharyngeal cancer cells. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2019; 520(2): 373-8. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2019.10.028>
53. Wang Y., Zhang X., Chao Y., Jia Y., Xing X., Luo B. New variations of Epstein-Barr virus-encoded small RNA genes in nasopharyngeal carcinomas, gastric carcinomas, and healthy donors

- in northern China. *J. Med. Virol.* 2010; 82(5): 829–36. <https://doi.org/10.1002/jmv.21714>
54. Chiara M., Manzari C., Lionetti C., Mechelli R., Anastasiadou E., Chiara Buscarinu M., et al. Geographic population structure in Epstein–Barr virus revealed by comparative genomics. *Genome Biol. Evol.* 2016; 8(11): 3284–91. <https://doi.org/10.1093/gbe/evw226>
55. Tu C., Zeng Z., Qi P., Li X., Yu Z., Guo C., et al. Genome-Wide analysis of 18 Epstein–Barr viruses isolated from primary nasopharyngeal carcinoma biopsy specimens. *J. Virol.* 2017; 91(17): e00301-17. <https://doi.org/10.1128/JVI.00301-17>
56. Bridges R., Correia S., Wegner F., Venturini C., Palser A., White R.E., et al. Essential role of inverted repeat in Epstein–Barr virus IR-1 in B cell transformation; geographical variation of the viral genome. *Philos. Trans. R. Soc. Lond. B Biol. Sci.* 2019; 374(1773): 20180299. <https://doi.org/10.1098/rstb.2018.0299>
57. Siak P.Y., Khoo A.S., Leong C.O., Hoh B.P., Cheah S.C. Current status and future perspectives about molecular biomarkers of nasopharyngeal carcinoma. *Cancers (Basel)*. 2021; 13(14): 3490. <https://doi.org/10.3390/cancers13143490>

### Информация об авторах

**Попкова Мария Игоревна**<sup>✉</sup> — к.м.н., в.н.с. лаб. молекулярной биологии и биотехнологии ННИИЭМ им. акад. И.Н. Блохиной, Нижний Новгород, Россия, [popmarig@mail.ru](mailto:popmarig@mail.ru), <https://orcid.org/0000-0001-5864-5862>

**Уткин Олег Владимирович** — к.б.н., зав. лаб. молекулярной биологии и биотехнологии ННИИЭМ им. акад. И.Н. Блохиной, Нижний Новгород, Россия, <https://orcid.org/0000-0002-7571-525X>

**Участие авторов:** Попкова М.И. — написание статьи. Уткин О.В. — коррекция и одобрение статьи. Все авторы внесли существенный вклад в проведение поисково-аналитической работы и подготовку статьи, прочли и одобрили финальную версию до публикации.

Статья поступила в редакцию 30.12.2021;  
принята к публикации 14.02.2022;  
опубликована 28.02.2022

### Information about the authors

**Mariia I. Popkova**<sup>✉</sup> — Cand. Sci. (Med.), leading researcher, Laboratory of molecular biology and biotechnology, Academician I.N. Blokhina Nizhny Novgorod Scientific Research Institute of Epidemiology and Microbiology, Nizhny Novgorod, Russia, [popmarig@mail.ru](mailto:popmarig@mail.ru), <https://orcid.org/0000-0001-5864-5862>

**Oleg V. Utkin** — Cand. Sci. (Biol.), Head, Laboratory of molecular biology and biotechnology, Academician I.N. Blokhina Nizhny Novgorod Scientific Research Institute of Epidemiology and Microbiology, Nizhny Novgorod, Russia, [utkino2004@mail.ru](mailto:utkino2004@mail.ru), <https://orcid.org/0000-0002-7571-525X>

**Author contribution:** Popkova M.I. — writing an article. Utkin O.V. — correction and approval of the article. All authors made a substantial contribution to the conception of the work, acquisition, analysis, interpretation of data for the work, drafting and revising the work, final approval of the version to be published.

The article was submitted 30.12.2021;  
accepted for publication 14.02.2022;  
published 28.02.2022