



# Филодинамическая характеристика гена *LMP-1* вируса Эпштейна–Барр, изолированного на территории Нижегородской области

Брызгалова Д.А.<sup>1</sup>, Сахарнов Н.А.<sup>1✉</sup>, Попкова М.И.<sup>1</sup>, Соболева Е.А.<sup>2</sup>, Кулова Е.А.<sup>3</sup>, Уткин О.В.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Нижегородский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. академика И.Н. Блохиной, Нижний Новгород, Россия;

<sup>2</sup>Нижегородский областной центр по профилактике и борьбе со СПИД и инфекционными заболеваниями, Нижний Новгород, Россия;

<sup>3</sup>ООО «Тонус Кроха и семейная стоматология», Нижний Новгород, Россия

## Аннотация

**Введение.** Вирус Эпштейна–Барр (ВЭБ) относится к числу самых распространённых герпесвирусов и обладает выраженным генетическим полиморфизмом. Изучение филодинамических характеристик вируса является важным аспектом исследования эволюционных изменений гена *LMP-1* и их последствий.

**Цель** — филодинамический анализ нижегородских изолятов ВЭБ на основе С-концевого фрагмента гена *LMP-1*.

**Материалы и методы.** В исследование были включены 158 изолятов ВЭБ, полученных из лейкоцитов крови и слюны детей 1–17 лет с диагнозом «инфекционный мононуклеоз, вызванный ВЭБ» ( $n = 68$ ) и условно здоровых детей сопоставимого пола и возраста ( $n = 29$ ). Геноварианты *LMP-1* были получены с помощью метода секвенирования по Сэнгеру. Сравнительный анализ аминокислотных последовательностей проводили в программе «MEGA X», филодинамический анализ полученных нуклеотидных последовательностей и изолятов, депонированных в GenBank, — в пакете программ «BEAST v. 1.10.4», рекомбинационный анализ — в программе «Simplot».

**Результаты.** Получены и депонированы в базу данных GenBank 158 нуклеотидных последовательностей С-концевого фрагмента гена *LMP-1* нижегородских изолятов ВЭБ. Установлено время циркуляции ближайшего общего предка для модифицированных геновариантов В95-8 с мутациями *G212S + E328Q + S366T* и NC с заменой *D250N*, датированное 1994 и 1923 гг. Скорость эволюции данных геновариантов была наиболее высокой и составила  $1,298 \times 10^{-4}$  и  $7,868 \times 10^{-4}$  нуклеотидных замен/сайт/год. Выявлены рекомбинации в нижегородских последовательностях Med-, В95-8, China 1 с мутациями *G212S*, *G212S*, *E214Q* соответственно.

**Заключение.** Впервые дана филодинамическая характеристика нижегородских изолятов и геновариантов *LMP-1* ВЭБ, изолированных в разных регионах мира. Полученные данные расширяют существующие представления о циркуляции геновариантов *LMP-1* ВЭБ на территории европейской части России.

**Ключевые слова:** вирус Эпштейна–Барр, секвенирование, *LMP-1*, инфекционный мононуклеоз, филодинамика, геноварианты

**Этическое утверждение.** У законных представителей несовершеннолетних пациентов получено добровольное информированное согласие в соответствии с положениями Хельсинкской декларации (2013). Протокол исследования одобрен локальным этическим комитетом Нижегородского НИИ эпидемиологии и микробиологии им. академика И.Н. Блохиной (протокол № 3 от 11.11.2021).

**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:** Брызгалова Д.А., Сахарнов Н.А., Попкова М.И., Соболева Е.А., Кулова Е.А., Уткин О.В. Филодинамическая характеристика гена *LMP-1* вируса Эпштейна–Барр, изолированного на территории Нижегородской области. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии*. 2023;100(5):369–379.

DOI: <https://doi.org/10.36233/0372-9311-379>

EDN: <https://www.elibrary.ru/tqghak>

Original Study Article

<https://doi.org/10.36233/0372-9311-379>

# Phylogenetic characteristics of the *LMP-1* gene of the Epstein–Barr virus isolated in the Nizhny Novgorod region

Daria A. Bryzgalova<sup>1</sup>, Nikolay A. Sakharnov<sup>1✉</sup>, Maria I. Popkova<sup>1</sup>, Evgeniya A. Soboleva<sup>2</sup>, Ekaterina A. Kulova<sup>3</sup>, Oleg V. Utkin<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Academician I.N. Blokhina Nizhny Novgorod Research Institute of Epidemiology and Microbiology, Nizhny Novgorod, Russia;

<sup>2</sup>Nizhny Novgorod Regional Center for the Prevention and Control of AIDS and Infectious Diseases, Nizhny Novgorod, Russia;

<sup>3</sup>Tonus Krokha i Semeynaya Stomatologiya LLC, Nizhny Novgorod, Russia

## Abstract

**Introduction.** Epstein–Barr virus (EBV) is one of the most common herpesviruses and has a pronounced genetic polymorphism. The study of the phylogenetic characteristics of the virus is an important aspect of the study of evolutionary changes in the *LMP-1* gene and their consequences.

The **aim** of the work was a phylogenetic analysis of EBV isolates from Nizhny Novgorod region based on the C-terminal fragment of the *LMP-1* gene.

**Materials and methods.** The study included 158 EBV isolates obtained from blood leukocytes and saliva of children aged 1–17 years with a diagnosis of infectious mononucleosis caused by EBV ( $n = 68$ ) and apparently healthy children of comparable sex and age ( $n = 29$ ). *LMP-1* genovariants were obtained using the Sanger sequencing method. Comparative analysis of amino acid sequences was performed using the MEGA X program. Phylogenetic analysis of the obtained nucleotide sequences and isolates deposited in GenBank was carried out using the BEAST v. 1.10.4 software package. Recombination analysis was performed using the Simplot program.

**Results.** 158 nucleotide sequences of the C-terminal fragment of the *LMP-1* gene from Nizhny Novgorod region EBV isolates were obtained and deposited in the GenBank database. The circulation time of the nearest common ancestor for the modified B95-8 genovariants with *G212S + E328Q + S366T* and NC mutations with the *D250N* substitution has been established dating back to 1994 and 1923. The rate of evolution of these genovariants was the highest and amounted to  $1.298 \times 10^{-4}$  and  $7.868 \times 10^{-4}$  nucleotide substitutions/site/year. Recombinations were detected in the Nizhny Novgorod region sequences Med-, B95-8, China 1 with mutations *G212S*, *G212S*, *E214Q*, respectively.

**Conclusion.** For the first time, a phylogenetic characterization of Nizhny Novgorod region isolates and *LMP-1* EBV genovariants isolated in various regions of the world is given. The data obtained expand the existing understanding of the circulation of EBV *LMP-1* genovariants in the territory of the European part of Russia.

**Keywords:** Epstein–Barr virus, sequencing, *LMP-1*, infectious mononucleosis, phylogenetics, genovariants

**Ethics approval.** Voluntary informed consent was obtained from all persons representing underage patients in accordance with the provisions of the Declaration of Helsinki (2013). The protocol of the study was approved by the local Ethics Committee of the Nizhny Novgorod Research Institute of Epidemiology and Microbiology. Academician I.N. Blokhina" Rospotrebnadzor. (Protocol No. 3, November 11, 2021).

**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:** Bryzgalova D.A., Sakharnov N.A., Popkova M.I., Soboleva E.A., Kulova E.A., Utkin O.V. Phylogenetic characteristics of the *LMP-1* gene of the Epstein–Barr virus isolated in the Nizhny Novgorod region. *Journal of microbiology, epidemiology and immunobiology*. 2023;100(5):369–379.

DOI: <https://doi.org/10.36233/0372-9311-379>

EDN: <https://www.elibrary.ru/tqghak>

## Введение

Вирус Эпштейна–Барр (ВЭБ) является представителем семейства *Herpesviridae*, подсемейства *Gammaherpesvirinae*, рода *Lymphocryptoviruses*, вида *Human gammaherpesvirus 4*. ВЭБ характеризуется генетическим разнообразием, которое обусловлено длительной эволюцией, включающей

ряд аспектов. Показано, что рекомбинация играет определяющую роль в формировании разнообразия ВЭБ и структуры его генома [1]. Зафиксированы признаки диверсифицирующего отбора на уровне генов латентной фазы, функция которых заключается в переходе активной инфекции ВЭБ к длительной персистенции [2].

Одним из них является ген латентного мембранного белка 1 (*LMP-1*), характеризующийся наиболее высокой степенью генетической изменчивости по сравнению с другими вирусными генами. Большинство работ по изучению эволюции гена *LMP-1* выполнено зарубежными исследователями. До настоящего времени в России исследования, посвящённые эволюционным изменениям *LMP-1*, основывались на филогенетическом анализе С-концевого фрагмента гена, изолированного в популяции древних народов (славян и татар), а также референсных последовательностей геновариантов в рамках классификации R. Edwards и соавт. [3, 4]. Данная классификация является наиболее распространённой и включает 7 геновариантов *LMP-1*: *Alaskan*, *China 1*, *China 2*, *China 3*, *B95-8*, *Mediterranean (Med)* и *North Carolina (NC)* [3]. Одним из важных аспектов классификации R. Edwards и соавт. является анализ вариаций наиболее полиморфного и охарактеризованного в структурно-функциональном плане С-концевого фрагмента гена *LMP-1* [3]. Рядом исследователей были выявлены новые варианты гена *LMP-1* (вне классификации R. Edwards и соавт.), такие как *Southeast Asia 1* и *2 (SEA 1* и *SEA 2)*, изолированные в Таиланде [5], *Srb1* и *Srb2* — в Сербии [6], а российскими учёными среди взрослого населения обнаружен уникальный древний вариант *LMP1-TatK* [4]. У инфицированных лиц во время репликации ВЭБ в его геноме возникают мутации, которые приводят к генетическому разнообразию вируса [7]. Данные спонтанные замены, накопленные у взрослых инфицированных лиц, не всегда закрепляются в популяции, но могут влиять на конечный результат при оценке эволюционных изменений геновариантов *LMP-1*. Поэтому для исследования распространённости и эволюции С-концевого фрагмента гена *LMP-1* мы использовали последовательности, полученные у детей. Несмотря на значительное количество работ по изучению генетического разнообразия *LMP-1*, эволюционные изменения гена и их последствия изучены недостаточно.

В современный период широкое применение получил филодинамический анализ — метод оценки эволюции патогенов с учётом временных параметров. Основными филодинамическими параметрами являются скорость эволюции и время циркуляции ближайшего общего предка. Данный метод позволяет оценить динамику и направление эволюционных изменений различных патогенов.

**Цель исследования** — филодинамический анализ нижегородских изолятов ВЭБ на основе С-концевого фрагмента гена *LMP-1*.

### Материалы и методы

Исследовали 158 изолятов ВЭБ, полученных из лейкоцитов крови и слюны 68 детей 1–17 лет,

госпитализированных в Детскую инфекционную больницу № 8 г. Нижнего Новгорода с диагнозом «инфекционный мононуклеоз, вызванный ВЭБ», и 29 условно здоровых детей сопоставимого пола и возраста, проходивших диспансеризацию в ООО «Тонус Кроха и семейная стоматология» (Нижний Новгород). У законных представителей несовершеннолетних пациентов получено добровольное информированное согласие в соответствии с положениями Хельсинкской декларации (2013). Протокол исследования одобрен локальным этическим комитетом Нижегородского НИИ эпидемиологии и микробиологии им. академика И.Н. Блохиной (протокол № 3 от 11.11.2021).

Фракцию лейкоцитов получали с помощью реагента «Гемолитик» (ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора). Пробоподготовку слюны проводили по оптимизированному нами способу, изложенному ранее [9]. Экстракцию тотальной нуклеиновой кислоты из лейкоцитов крови и слюны производили при помощи комплекта реагентов «РИБО-преп» (ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора) с модификациями [9, 10]. Наличие вирусной ДНК ВЭБ подтверждали методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) в реальном времени с применением набора реагентов «АмплиСенс EBV/CMV/HHV6-скрин-FL» (ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора) на амплификаторе «Rotor-Gene Q 5plex HRM» («Qiagen»).

С-концевой фрагмент гена *LMP-1* амплифицировали с помощью разработанного нами лабораторного протокола, базирующегося на использовании метода ПЦР с праймерами, описанными в статье [11]. Одностадийный вариант ПЦР проводили, используя праймеры: A1 5'-AGT CAT AGT AGC TTA GCT GAA-3' и A2 5'-CCA TGG ACA ACG ACA CAG T-3. Размер фрагмента С-концевой области гена *LMP-1* — 602 п.н.

Секвенирование очищенных амплифицированных фрагментов ДНК проводили с помощью набора реагентов «Big Dye Terminator v.3.1 Cycle Sequencing Kit» («Applied Biosystems») на генетическом анализаторе «AB-3500 Genetic Analyzer» («Applied Biosystems») с использованием оригинального программного обеспечения «3500 Data Collection Software v. 1.0» («Applied Biosystems»).

Нуклеотидные последовательности анализировали с помощью открытого программного обеспечения «MEGA X» («Mega Software»)¹.

### Формирование выборки

Для изучения разнообразия С-концевого фрагмента гена *LMP-1* ВЭБ были проанализированы доступные в базе данных GenBank нуклеотидные последовательности размером более 80% открытой

¹ URL: <https://www.megasoftware.net>

рамки считывания. В выборку вошли 763 нуклеотидные последовательности гена *LMP-1* и генома ВЭБ, изолированные после 1970 г. на территории Австралии, Аляски, Аргентины, Бразилии, Великобритании, Ганы, Гонконга, Индонезии, Кении, Китая, Кореи, Нигерии, Пакистана, Польши, Сербии, США, Тайваня, Таиланда, Хорватии, Швейцарии, Японии. Последовательности гена *LMP-1*, полученные другими отечественными исследователями на территории России, в указанной базе данных не представлены.

#### Филодинамический анализ

Выравнивание нуклеотидных последовательностей наряду с формированием аминокислотного кода *LMP-1* проводили с помощью программного обеспечения «MEGA X» [12]. Для построения филогенетического дерева использовали метод максимального правдоподобия, пакет программ «BEAST v. 1.10.4» [8]. Для анализа полученных нуклеотидных последовательностей была подобрана модель Hasegawa–Kishino–Yano. На основе модели SkyGrid рассчитывали динамику демографических показателей [13]. Достоверными считали уровни апостериорной вероятности  $> 0,85$ . На базе строгих молекулярных часов измеряли скорость эволюции. Длина цепи Маркова Монте-Карло составила 200 млн шагов. Графическую визуализацию дерева осуществляли в программе «FigTree 1.4.3». Дендрограммы анализировали с помощью программы «Tracer v. 1.7.1» [14].

По данным российских авторов, одним из типов генетической изменчивости, которые способствуют эволюции гена *LMP-1*, являются точечные мутации [4]. В связи с этим нами проведён сравнительный анализ точечных аминокислотных замен в последовательностях исследуемой выборки с целью определения специфических мутаций, характерных для определённых регионов, а также отслеживания их распространения со временем.

#### Рекомбинационный анализ

Предполагаемые рекомбинантные последовательности анализировали с помощью программного обеспечения «Simplot» [15] по методу попарного внутригруппового невзвешенного среднего (unweighted pair group method with arithmetic mean, UPGMA) с длиной окна 200 п.н., шаг 20 п.н. и 100 повторениями bootstrap-анализа. Для анализа нуклеотидных последовательностей использовали модель TN93 (Tamura–Nei, 93).

### Результаты

На первом этапе работы нами получены и депонированы в базу данных GenBank 158 нуклеотидных последовательностей С-концевого фрагмента гена *LMP-1* нижегородских изолятов ВЭБ (реги-

ональные номера OP105219–OP105376 присвоены 09.08.2022).

#### Филогенетический анализ

Для оценки кластеризации нижегородских изолятов ВЭБ, а также характера их взаимоотношений с последовательностями, изолированными в 1970–2022 гг. в различных регионах мира, было сконструировано филогенетическое дерево (рис. 1).

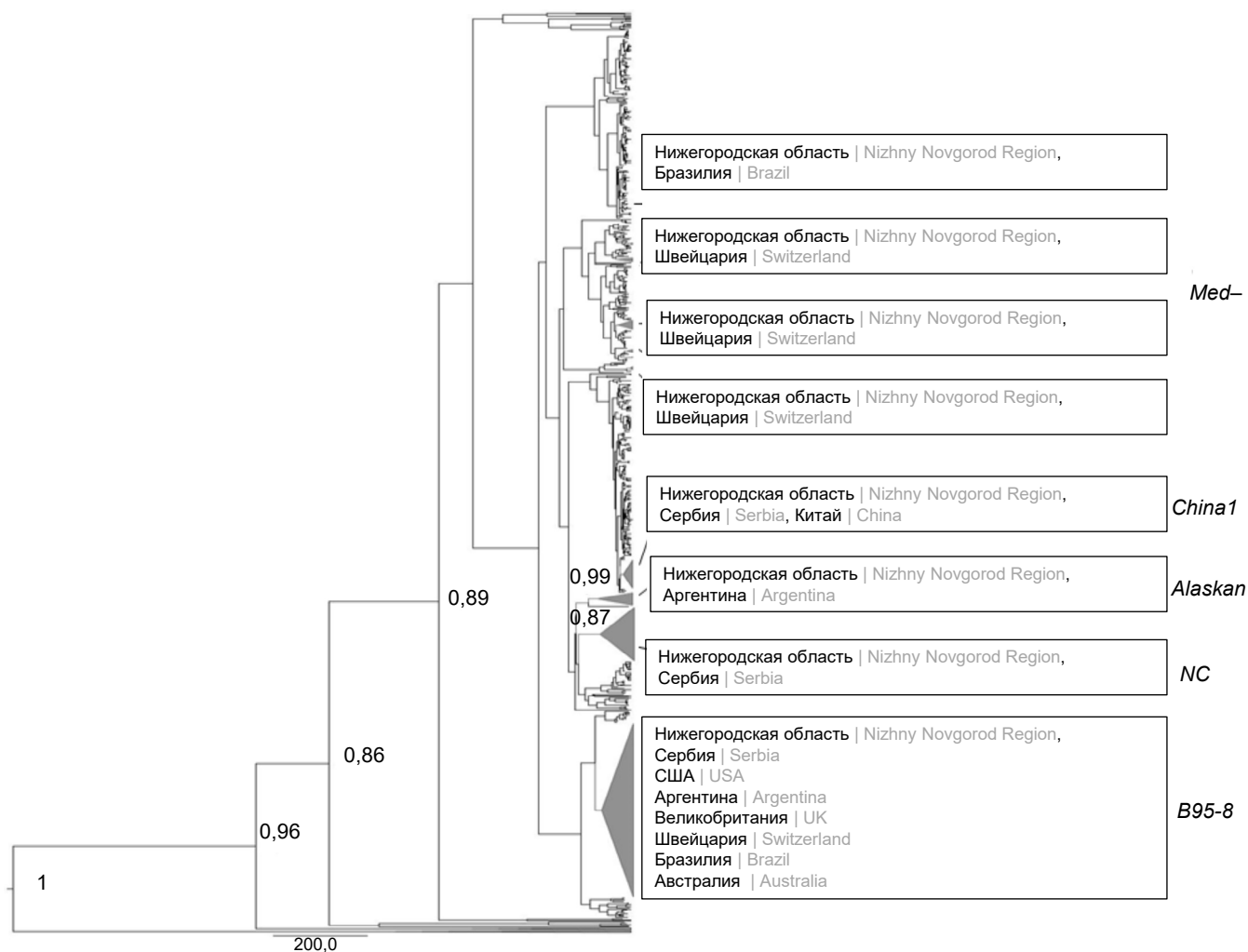
Только один идентифицированный нами нижегородский изолят (OP105219) образовывал единый кластер и показал высокую вероятность филогеографической связи (значение апостериорной вероятности, равной 0,99) с референсной последовательностью *Alaskan* и последовательностями, полученными в Аргентине. Общую группу также образовывали изоляты *China 1*, полученные из Нижегородской области, Сербии и Китая. Однако значительного генетического сходства между ними не выявлено в связи с низкими значениями апостериорной вероятности. Похожая апостериорная вероятность отмечалась и в кластере с нижегородскими изолятами B95-8. Эта группа включала наибольшее количество последовательностей, выделенных в различных регионах мира (Сербии, Аргентине, Великобритании, Швейцарии, Бразилии, Австралии и США). Генетическое родство с апостериорной вероятностью 0,87 с последовательностями из Сербии показали нижегородские изоляты ВЭБ и геновариант *NC*, сформировав на дереве единую монофилетическую группу. Нижегородские последовательности *Med* не образовывали отдельного единого кластера, а распределились между генетически близкими изолятами из Бразилии и Швейцарии.

#### Скорость эволюции

Скорость эволюции С-концевого фрагмента гена *LMP-1* ВЭБ в кластерах, содержащих нижегородские изоляты *China 1* и *Alaskan*, варьировала незначительно и составила  $5,042 \times 10^{-5}$  и  $1,518 \times 10^{-5}$  нуклеотидных замен/сайт/год. В кластерах с последовательностями из Нижегородской области *NC* и *B95-8* скорость эволюции была несколько выше —  $1,298 \times 10^{-4}$  и  $7,868 \times 10^{-4}$  нуклеотидных замен/сайт/год. Для всей исследуемой выборки С-концевого фрагмента гена *LMP-1* ВЭБ скорость эволюции составила  $2,32 \times 10^{-4}$  нуклеотидных замен/сайт/год.

#### Время циркуляции ближайшего общего предка

Клада, содержащая нижегородские изоляты B95-8 и последовательности из Сербии, Аргентины, Великобритании, Швейцарии, Бразилии, Австралии и США, включала общую комбинацию мутаций *G212S + E328Q + S366T*. Нами было определено время циркуляции ближайшего общего предка для данного геноварианта B95-8 с заменами *G212S + E328Q + S366T*, которое датируется 1994 г. Клада,



**Рис. 1.** Байесово филогенетическое дерево MCC, сконструированное на основе нуклеотидных последовательностей С-концевого фрагмента гена *LMP-1* нижегородских изолятов ВЭБ и последовательностей, полученных в различных регионах мира и доступных в GenBank.

MCC — филогенетическое дерево с максимальной надёжностью клад. Показаны байесовские апостериорные вероятности более 0,85 в основных узлах. Треугольниками обозначены клады с нижегородскими изолятами ВЭБ и соседними последовательностями, доступными в GenBank.

**Fig. 1.** Bayesian MCC phylogenetic tree constructed on the basis of the nucleotide sequences of the C-terminal fragment of the *LMP-1* gene of Nizhny Novgorod region EBV isolates and sequences obtained in various regions of the world and available in GenBank.

MCC is a phylogenetic tree with maximum clade reliability. Shown are Bayesian posterior probabilities greater than 0.85 at the major nodes. Triangles indicate clades with EBV isolates from Nizhny Novgorod region and neighboring sequences available in GenBank.

содержащая нижегородские изоляты *NC* и последовательности из Сербии, включает общую замену *D250N* и предположительно имеет общего предка, время циркуляции ближайшего общего предка — 1923 г.

#### Сравнительный анализ аминокислот

На следующем этапе работы нами проведён сравнительный анализ данных точечных аминокислотных замен в последовательностях, доступных в GenBank и выделенных в различных географических регионах мира. Также производился поиск других общих аминокислотных мутаций в последовательностях геновариантов *Med*, *China 1*, *Alaskan*.

Анализ включал изоляты ВЭБ, ранее охарактеризованные по классификации R. Edwards и соавт. в других исследованиях [6, 16–22]. Масштабные исследования, посвящённые данному вопросу, проводились только на территориях Аргентины, Бразилии, Сербии, Китая, Швейцарии, Америки.

Сравнительный анализ точечных аминокислотных замен в последовательностях исследуемой выборки продемонстрировал высокую распространённость мутаций, не характерных для определённых геновариантов (таблица).

Самая малочисленная группа, состоящая из 11 последовательностей, принадлежала геноварианту *LMP-1 Alaskan*, который редко встречается во

Сравнение частоты распространения геновариантов *LMP-1* ВЭБ в мире  
Comparison of the prevalence of EBV *LMP-1* genovariants in the world

Регион Region	B95-8		<i>Med</i> (G212S)	<i>NC</i> (D250N)	<i>China 1</i> (E214Q)
	G212S + E328Q + S366T	G212S + E328Q			
Нижегородская область Nizhny Novgorod Region	99 % (95/96)	–	78% (7/9)	96% (27/28)	50% (12/24)
Сербия   Serbia	–	100% (23/23)	77% (14/18)	100% (10/10)	–
США   USA	80% (8/10)	–	–	–	–
Бразилия   Brazil	50 % (3/6)	–	70% (19/27)	–	–
Аргентина   Argentina	87% (7/8)	–	94% (34/36)	–	79% (23/29)
Иран   Iran	–	100% (4/4)	59% (13/22)	–	–
Швейцария   Switzerland	75% (3/4)	–	–	–	–

всём мире. Проанализированные изоляты не выявили общих аминокислотных замен, помимо мутаций, охарактеризованных R. Edwards и соавт. [3].

Для геноварианта *NC* была характерна мутация *D250N*, которая встречалась только в изолятах из Нижегородской области и Сербии в 94,4–100% случаев соответственно. Как видно из таблицы, наиболее широко распространёнными в различных регионах мира были мутации *G212S* + *E328Q* + *S366T* в изолятах *B95-8* (50–99%) и *G212S* в *Med* (59–94%).

Ещё одной мутацией, обнаруженной в нашем исследовании, является *E214Q*, которая была характерна для геноварианта *China 1* и встречалась в нижегородских изолятах и в последовательностях из Аргентины с частотой 46 и 79% соответственно (таблица). Мы предполагаем, что мутация *E214Q* появилась в нижегородских изолятах *China 1* в результате их рекомбинации с последовательностью штамма *Raji*. По аналогии мутация *G212S* появилась в изолятах *Med* и *B95-8* в результате их рекомбинации с последовательностью *CAO*, т.к. данная замена характерна для данного штамма. Похожая ситуация прослеживается и для мутации *S366T* в *B95-8*. В связи с этим нами был проведён рекомбинационный анализ данных мутаций при помощи бутскан-анализа.

#### Рекомбинационный анализ

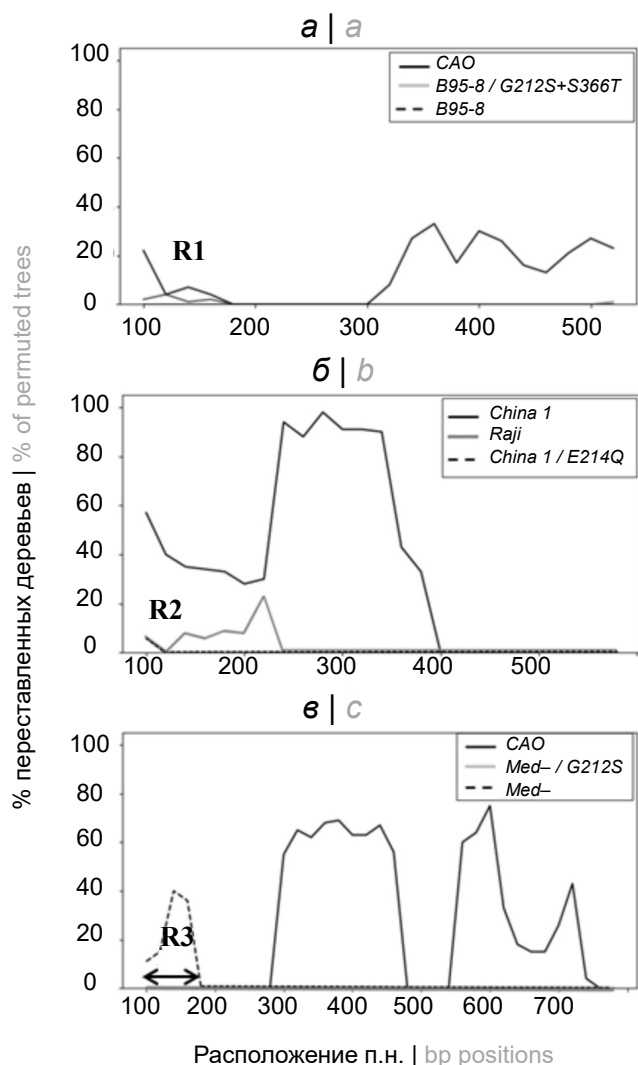
Для определения возможных событий рекомбинации все нижегородские последовательности *B95-8* с заменами *G212S* + *S366T* тестировали в сравнении с референсными последовательностями *CAO* и *B95-8*. Референсная последовательность *Alaskan* использовалась в качестве внешней группы. Точка рекомбинации (R1) была обнаружена во всех последовательностях в домене *CTAR1* (192–232 а.к.), ответственного за активацию транскрипционного фактора NF-κB (рис. 2, а) [23]. Этот результат указывает на то, что мутация *G212S* в изолятах *B95-8* действительно могла появиться в процессе рекомбинации между последовательностями *B95-8* и *CAO*.

Мы также проанализировали все нижегородские последовательности, расположенные в одном кластере вместе с *China 1* и содержащие мутацию *E214Q*, которая характерна для штамма *Raji*. При тестировании против референсных последовательностей *Raji*, *China 1* и *CAO*, вариант *China 1* с мутацией *E214Q* показал точку рекомбинации (R2) в области домена *CTAR1* (192–232 а.к.) во всех последовательностях (рис. 2, б). Таким образом, можно говорить о том, что мутация *E214Q* в нижегородских изолятах *China 1* появилась в результате рекомбинации последовательностей *China 1* и *Raji*.

В дальнейшем нами проведён рекомбинационный анализ всех нижегородских последовательностей, которые образовали кладу вместе с *Med*– и содержали мутацию *G212S*, характерную для штамма *CAO*. В качестве внешней группы была включена последовательность *B95-8*. На рис. 2, в видна общая область (R3) пересечения всех нижегородских последовательностей *Med*– с мутацией *G212S* и *CAO* в домене *CTAR1* (192–232 а.к.). В связи с этим мутация *G212S* в нижегородских последовательностях *Med*– могла появиться вследствие рекомбинации *Med*– и *CAO*.

#### Обсуждение

В настоящей работе впервые дана филогенетическая характеристика нижегородских изолятов ВЭБ, полученных от детей с диагнозом «инфекционный мононуклеоз, вызванный ВЭБ» и здоровых доноров, и геновариантов *LMP-1* ВЭБ, изолированных в различных регионах мира. Для оценки эволюционных взаимоотношений между последовательностями С-концевого фрагмента гена *LMP-1* ВЭБ в исследуемой выборке мы реконструировали филогенетическое дерево с применением байесовской статистики. Филогенетический анализ на основе нуклеотидных последовательностей С-концевого фрагмента гена *LMP-1* показал, что нижегородские изоляты, относящиеся к геноварианту *NC*, генетически близки с последовательностями из Сербии. Это можно объяснить активными миграционными



**Рис. 2.** Рекомбинационный анализ нижегородских последовательностей.

**а** — бутскан-анализ нижегородских последовательностей *B95-8* с мутациями *G212S + S366T* относительно референсных последовательностей *CAO*, *B95-8* и *Alaskan* (внешняя группа); **б** — бутскан-анализ нижегородских последовательностей с мутацией *E214Q* относительно последовательностей *Raji*, *China 1* и *CAO* (внешняя группа); **в** — бутскан-анализ нижегородских последовательностей *Med-* с мутацией *G212S* относительно последовательностей *Med-*, *CAO* и *B95-8* (внешняя группа). Параметры анализа: окно 200 п.н., шаг 20 п.н. и 100 повторений по методу UPGMA.

**Fig. 2.** Recombinant analysis of Nizhny Novgorod region sequences.

**a** — bootscan analysis of Nizhny Novgorod region sequences in *B95-8* with *G212S + S366T* mutations relative to sequences *CAO*, *B95-8* and *Alaskan* (outer group); **b** — bootscan analysis of Nizhny Novgorod region sequences with *E214Q* mutation relative to the sequences *Raji*, *China 1* and *CAO* (outer group); **c** — bootscan analysis of Nizhny Novgorod region *Med-* sequences with *G212S* mutation relative to *Med-*, *CAO* and *B95-8* sequences (outer group). Analysis parameters: window 200 bp, step 20 bp and 100 repetitions according to the UPGMA method.

процессами, происходящими вследствие исторически сложившихся межгосударственных взаимоотношений данных стран. Сравнительный анализ аминокислотных замен нижегородских изолятов и

последовательностей из Сербии, отнесённых к геноварианту *NC*, продемонстрировал наличие общей мутации *D250N* для данных регионов. Время происхождения ближайшего общего предка для геноварианта *NC* с наличием мутации *D250N* изолятов из Сербии и Нижегородской области датируется 1923 г., что соотносится с периодом русской эмиграции во время гражданской войны в Королевство Югославию, в которую входили Сербия, Хорватия и Словения. Больше всего русских переселенцев было размещено в Сербии, где насчитывалось около 200 колоний [24]. В настоящий момент функциональная значимость замены *D250N* для геноварианта *NC* не определена.

Особый интерес для нас представляла клада, содержащая нижегородские последовательности *B95-8* и изоляты, полученные из Сербии, Аргентины, Великобритании, Швейцарии, Бразилии, Австралии и США. Несмотря на то что апостериорная вероятность для данной клады была невысокой, почти все последовательности включали комбинацию из 3 аминокислотных замен *G212S + S366T + E328Q* и были изолированы после 1999 г. Исключение составляли изоляты из Сербии, в которых сравнение комбинации мутаций *G212S + S366T + E328Q* было невозможным из-за методических ограничений, т.к. данные последовательности, размещённые в GenBank, не содержали исследуемый отрезок с заменой *S366T*. Стоит обратить внимание на то, что время происхождения общего ближайшего предка для клады *B95-8* с мутациями *G212S + S366T + E328Q* датируется 1994 г. Проведённый нами сравнительный анализ точечных аминокислотных мутаций *G212S + S366T + E328Q* геноварианта *B95-8* показал их высокую распространённость в последовательностях, полученных в различных регионах мира после 1999 г. Отметим, что высокая распространённость модифицированного варианта *B95-8* с заменами *G212S + S366T + E328Q* не связана с определёнными территориями, а встречается с высокой частотой в последовательностях, изолированных в различных регионах мира. Модифицированный вариант *B95-8* с мутациями *G212S + S366T + E328Q* преобладал в Бразилии, Аргентине, Иране. Похожая картина наблюдалась в последовательностях из Ирана, в которых мутации *G212S + E328Q* в изолятах *B95-8* были широко распространены, а замена *S366T* не учитывалась. Данные последовательности не были депонированы в GenBank, и расчёт был произведён на основе материалов статьи В. Sarshari и соавт. [22]. Распространённость геноварианта *B95-8* на данных территориях была невысокой по сравнению с другими геновариантами *LMP-1*. Другая картина представлена в Евразии, где *B95-8* является часто встречающимся геновариантом в большинстве стран. При анализе имеющихся последовательностей в GenBank выявлено,

что совокупность мутаций *G212S + E328Q* была характерна для всех изолятов из Сербии, относящихся к *B95-8*. Примечательно, что мутация *E328Q*, по данным российских авторов, не типична для европейских образцов, а широко распространена среди населения Дальнего Востока России [25]. В нижегородских изолятах мутации *G212S + S366T + E328Q* встречались в абсолютном большинстве последовательностей *B95-8*. Мы полагаем, что после 1999 г. в мире произошла смена циркуляции прототипного геноварианта *B95-8* на модифицированный вариант с мутациями *G212S + E328Q + S366T*. Наши предположения подтверждаются и отсутствием информации о данных мутациях в геноварианте *B95-8* в одном из масштабных исследований 1999 г. [3]. Нами также было показано, что замена *G212S* в модифицированном геноварианте *B95-8* является результатом рекомбинации с последовательностью *CAO*.

Широкое распространение последовательностей *B95-8* с мутациями *G212S + S366T + E328Q* может быть связано с тенденцией к росту числа заболеваний, ассоциированных с ВЭБ. По данным российских авторов, рост заболеваемости инфекционным мононуклеозом наблюдается как в целом по России, так и в Нижегородской области [26]. Растёт число случаев, требующих госпитализации [27].

Данная тенденция может быть связана с влиянием замен *G212S + S366T + E328Q* на функциональную активность белка LMP-1. Замены *G212S* и *S366T* ассоциированы с геновариантом *LMP-1 CAO*. Известно, что геновариант *CAO* обладает большей трансформационной активностью, чем геновариант *B95-8* [25]. Существуют исследования, сосредоточенные на изучении влияния мутаций *G212S + S366T* на функциональную активность геноварианта *B95-8* в клеточных линиях. Так, в работе отечественных авторов было показано, что геновариант *B95-8* с заменами *G212S + S366T* усиливает активацию транскрипционного фактора NF-κB, который играет важную роль в регуляции ключевых функций клетки, таких как рост и выживаемость, старение и опухолевая трансформация [23]. В другой работе показано, что штамм *B95-8* при наличии мутации *G212S + S366T* демонстрировал сниженную или утраченную способность активировать микроРНК (miR-155 и miR-193b), которые играют важную роль в различных физиологических и патологических процессах [28]. Влияние комбинации мутаций *G212S + E328Q + S366T* на функциональную активность белка LMP-1 *B95-8* ещё предстоит изучить.

Интересно, что оба геноварианта *B95-8* с мутациями *G212S + E328Q + S366T* и *NC* с заменой *D250N* имели скорость эволюции выше, чем у остальных геновариантов. Данный факт может объяснять высокую распространённость геновариантов *B95-8* с мутациями *G212S + E328Q + S366T* и *NC* с заменой *D250N* в определённых регионах ми-

ра. Нами были получены данные, характеризующие скорость эволюции для всей исследуемой выборки С-концевого фрагмента гена *LMP-1* ВЭБ. Скорость эволюции  $2,32 \times 10^{-4}$  нуклеотидных замен/сайт/год была несколько выше по сравнению со значениями, полученными для гена *LMP-1* другими исследователями из Аргентины и Бразилии ( $8,591 \times 10^{-5}$  и  $3,8 \times 10^{-5}$  замен/сайт/год соответственно). Это может быть связано с тем, что итоговые результаты скорости эволюции определяются размером выборки и её составом.

Отметим, что по результатам нашего исследования геноварианты *B95-8*, а также *Med-/Med+*, несущие аминокислотную замену *G212S*, и *China 1* с мутацией *E214Q* отличались наличием рекомбинации с другими штаммами и геновариантами вируса и характеризовались тенденцией к широкому распространению в популяции, что может в дальнейшем оказывать влияние на эволюцию гена *LMP-1*. В связи с этим остановимся на характеристике указанных мутаций.

Геноварианты *Med-* и *Med+* с заменой *G212S* чаще обнаруживали в последовательностях, полученных из разных регионов мира, изолированных после 1999 г. С высокой частотой данная мутация встречалась в изолятах *Med*, выделенных на территории Аргентины, Бразилии, Сербии, Ирана, а также в исследованных нами изолятах. Полученные нами результаты рекомбинационного анализа указывают на то, что мутация *G212S* также могла возникнуть в геноварианте *Med-* в результате рекомбинации с последовательностью штамма *CAO*. На филогенетическом дереве нижегородские изоляты *Med-* не образовывали единой клады. Это связано с тем, что данный геновариант относится к высокодивергентным.

Ранее в российских исследованиях распространённость мутаций *G212S*, *S366T*, *E328Q* не соотносили с определёнными геновариантами классификации R. Edwards и соавт. [25, 29].

Менее распространённой была мутация *E214Q*, характерная для геноварианта *China 1*. Ранее замена *E214Q* была охарактеризована в отношении аргентинского геноварианта *China 1\** и встречалась независимо от групп исследования в 79% (23/29) изолятов [20]. Мутацию *E214Q* M. Gantuz и соавт. описывали как результат рекомбинации между аргентинским геновариантом *China 1\** и штаммом *Raji*, содержащим эту замену в референсной последовательности, и утверждали, что высокая распространённость *China 1\** может быть обусловлена генетическими и/или иммунологическими факторами [20]. Мутация *E214Q* встречалась также в нижегородских изолятах *China 1* в 50% (12/24) изолятов. В исследованиях других российских авторов, проведённых ранее, данные о распространённости мутации *E214Q* в изолятах *China 1* отсутствуют.



Проведённый нами рекомбинационный анализ показал, что мутация *E214Q* в нижегородских изолятах *China 1* появилась в результате рекомбинации со штаммом *Raji*. Мутация *E214Q* расположена в DSGxxS — каноническом мотиве (HOS-сайт). Этот сайт входит в состав Е3-лигазы, которая участвует в процессинге молекулы IкВ, являющейся супрессором NF-κB [25]. Функциональная значимость замены *E214Q* для геноварианта *China 1* требует дальнейшего изучения.

Таким образом, анализ аминокислотных последовательностей *LMP-1* геновариантов *B95-8*, *NC*, *Med* и *China 1*, полученных в различных регионах мира, выявил ряд специфических мутаций, которые при определённых условиях (снижении иммунитета, воздействии неблагоприятных факторов окружающей среды) могут оказывать влияние на развитие и характер течения ВЭБ-ассоциированных заболеваний, в том числе инфекционного мононуклеоза.

Наше исследование, а также работа М. Gantuz и соавт. [20] позволяют взглянуть с другой стороны на утверждение о том, что С-концевая область гена изменялась без какой-либо истории рекомбинации по сравнению с N-концом и трансмембранной областью *LMP-1*, о чём упоминалось ранее в работе J.M. Wittgows и соавт. [30]. Появление большого разнообразия новых мутаций, специфичных для определённых геновариантов, может быть следствием рекомбинации, что подчёркивает важность этого механизма для возникновения новых вариантов вируса.

### Заключение

Впервые в России нами проведён филогенетический анализ последовательностей С-концевой области гена *LMP-1* ВЭБ, изолированных у детей с инфекционным мононуклеозом и здоровых вирусоносителей.

Показано, что скорость эволюции нижегородских изолятов *B95-8* с набором мутаций *G212S* + *E328Q* + *S366T* и изолятов *NC* с мутацией *D250N* была выше по сравнению с описанными ранее в других регионах мира, также для них было определено время циркуляции общего предка (1994 и 1923 гг. соответственно).

Среди нижегородских изолятов выявлено преобладание последовательностей, содержащих штамм-неспецифичные аминокислотные замены *G212S* (в геновариантах *B95-8* и *Med*) и *E214Q* (в геноварианте *China 1*). При этом они характеризовались наличием рекомбинаций с другими штаммами, что может в перспективе способствовать формированию новых ветвей эволюции гена *LMP-1*.

Выявленные нами молекулярно-генетические характеристики изолятов *LMP-1* отражают особенности эволюции ВЭБ в Нижегородской области

(относится к европейской части России) и формирования его генетического разнообразия. При этом отмечается направленность эволюции гена *LMP-1* в сторону увеличения частоты мутаций, ассоциированных с повышенной трансформирующей активностью вируса.

Полученные результаты являются основой для перспективных исследований фенотипических свойств выявленных мутаций *LMP-1*, оценки их клинической значимости и взаимосвязи с особенностями эпидемического процесса ВЭБ-инфекции.

### СПИСОК ИСТОЧНИКОВ | REFERENCES

1. Agwati E.O., Oduor C.I., Ayieko C., et al. Profiling genome-wide recombination in Epstein–Barr virus reveals type-specific patterns and associations with endemic-Burkitt lymphoma. *Viral J.* 2022;19(1):208. DOI: <https://doi.org/10.1186/s12985-022-01942-8>
2. McGeoch D.J., Davison A.J., Dolan A., et al. Molecular evolution of the Herpesvirales. In: Domingo E., Parrish C.R., Holland E., ed. *Origin and Evolution of Viruses*. Academic Press;2008:447–75. DOI: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-374153-0.00020-5>
3. 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. DOI: <https://doi.org/10.1006/viro.1999.9855>
4. Смирнова К.В., Сенюта Н.Б., Лубенская А.К. и др. Древние варианты вируса Эпштейна–Барр (Herpesviridae, Lymphocryptovirus, HHV-4): гипотезы и факты. *Вопросы вирусологии*. 2020;65(2):77–86. Smirnova K.V., Senyuta N.B., Lubenskaya A.K., et al. Ancient variants of the Epstein–Barr virus (Herpesviridae, Lymphocryptovirus, HHV-4): hypotheses and facts. *Problems of Virology*. 2020;65(2):77–86. DOI: <https://doi.org/10.36233/0507-4088-2020-65-2-77-86> EDN: <https://elibrary.ru/ojdshq>
5. Smatti M.K., Al-Sadeq D.W., Ali N.H., et al. Epstein–Barr virus epidemiology, serology, and genetic variability of *LMP-1* oncogene among healthy population: an update. *Front. Oncol.* 2018;8:211. DOI: <https://doi.org/10.3389/fonc.2018.00211>
6. Banko A.V., Lazarevic I.B., et al. Characterization of the variability of Epstein–Barr virus genes in nasopharyngeal biopsies: potential predictors for carcinoma progression. *PLoS One*. 2016;11(4):e0153498. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0153498>
7. Palser A.L., Grayson N.E., White R.E., et al. Genome diversity of Epstein–Barr virus from multiple tumor types and normal infection. *J. Virol.* 2015;89(10):5222–37. DOI: <https://doi.org/10.1128/JVI.03614-14>
8. Suchard M.A., Lemey P., Baele G., et al. Bayesian phylogenetic and phylodynamic data integration using BEAST 1.10. *Virus Evol.* 2018;4(1):vey016. DOI: <https://doi.org/10.1093/ve/vey016>
9. Попкова М.И., Уткин О.В., Брызгалова Д.А. и др. Методические подходы к дифференциальной детекции ВЭБ-1/ВЭБ-2 и ВГЧ-6А/ВГЧ-6В в слюне. *Инфекция и иммунитет*. 2022;12(3):461–74. Popkova M.I., Utkin O.V., Bryzgalova D.A., et al. Methodological approaches to differential detection of EBV1/EBV2 and HHV6A/HHV6B in saliva. *Russian Journal of Infection and Immunity*. 2022;12(3):461–74. DOI: <https://doi.org/10.15789/2220-7619-MAT-1807> EDN: <https://elibrary.ru/hcmagz>
10. Попкова М.И., Уткин О.В., Соболева Е.А. и др. Методические основы дифференциальной детекции ВЭБ1/ВЭБ2 и ВГЧ6А/ВГЧ6В. *Инфекция и иммунитет*.

- 2021;11(6):1057–66. Popkova M.I., Utkin O.V., Soboleva E.A., et al. Methodological basics for differential detection of EBV1/EBV2 and HHV6A/HHV6B. *Russian Journal of Infection and Immunity*. 2021;11(6):1057–66.  
DOI: <https://doi.org/10.15789/2220-7619-MBF-1661>  
EDN: <https://elibrary.ru/lcwjrx>
11. Smatti M.K., Yassine H.M., AbuOdeh R., et al. Prevalence and molecular profiling of Epstein–Barr virus (EBV) among healthy blood donors from different nationalities in Qatar. *PLoS One*. 2017;12(12):e0189033.  
DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0189033>
  12. Kumar S., Stecher G., Li M., et al. MEGA X: molecular evolutionary genetics analysis across computing platforms. *Mol. Biol. Evol.* 2018;35(6):1547–9.  
DOI: <https://doi.org/10.1093/molbev/msy096>
  13. Hill V., Baele G. Bayesian estimation of past population dynamics in BEAST 1.10 using the Skygrid coalescent model. *Mol. Biol. Evol.* 2019;36(11):2620–8.  
DOI: <https://doi.org/10.1093/molbev/msz172>
  14. Rambaut A., Drummond A.J., Xie D., et al. Posterior summarization in Bayesian phylogenetics using Tracer 1.7. *Syst. Biol.* 2018;67(5):901–4.  
DOI: <https://doi.org/10.1093/sysbio/syy03>
  15. Lole K.S., Bollinger R.C., Paranjape R.S., et al. Full-length human immunodeficiency virus type 1 genomes from subtype C-infected seroconverters in India, with evidence of intersubtype recombination. *J. Virol.* 1999;73(1):152–60.  
DOI: <https://doi.org/10.1128/JVI.73.1.152-160.1999>
  16. Banko A., Lazarevic I., Cupic M., et al. Carboxy-terminal sequence variation of *LMP1* gene in Epstein–Barr-virus-associated mononucleosis and tumors from Serbian patients. *J. Med. Virol.* 2012;84(4):632–42.  
DOI: <https://doi.org/10.1002/jmv.23217>
  17. Zuercher E., Buttica C., Wyniger J., et al. Genetic diversity of EBV-encoded *LMP1* in the Swiss HIV cohort study and implication for NF- $\kappa$ B activation. *PLoS One*. 2012;7(2):e32168.  
DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0032168>
  18. Lorenzetti M.A., Gantuz M., Altcheh J., et al. 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;50(3):609–18.  
DOI: <https://doi.org/10.1128/JCM.05778-11>
  19. Renzette N., Somasundaran M., Brewster F., et al. Epstein–Barr virus latent membrane protein 1 genetic variability in peripheral blood B cells and oropharyngeal fluids. *J. Virol.* 2014;88(7):3744–55.  
DOI: <https://doi.org/10.1128/JVI.03378-13>
  20. 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;12(3):e0174221.  
DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0174221>
  21. Alves P., Larrate M., Garcia-Costa A., et al. Spatial dispersal of Epstein–Barr virus in South America reveals an African American variant in Brazilian lymphomas. *Viruses*. 2022;14(8):1762.  
DOI: <https://doi.org/10.3390/v14081762>
  22. Sarshari B., Mohebbi S.R., Ravanshad M., et al. Sequence variations of Epstein–Barr virus *LMP1* gene in gastric cancer and chronic gastritis isolates from Iranian patients. *Gastroenterol. Hepatol. Bed Bench.* 2022;15(3):225–31.  
DOI: <https://doi.org/10.22037/ghfbb.v15i3.2578>
  23. 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;73(10):1414–21. Diduk S.V., Smirnova K.V., Pavlish O.A., Gurtsevitch V.E. Functionally significant mutations in the Epstein–Barr virus *LMP1* gene and their role in activation of cell signaling pathways. *Biochemistry*. 2008;73(10):1414–21. DOI: <https://doi.org/10.1134/S0006297908100106>  
EDN: <https://elibrary.ru/juuyyn>
  24. Косик В.И. *Русская эмиграция в Сербии XX–XXI вв.* М.; 2022. Kosik V.I. *Russian Emigration in Serbia of the XX–XXI Centuries*. Moscow; 2022.
  25. 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;22(5):239–47. 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. *Epidemiology and Infectious Diseases*. 2017;22(5):239–47.  
DOI: <https://doi.org/10.18821/1560-9529-2017-22-5-239-247>  
EDN: <https://elibrary.ru/ykxqmo>
  26. Попкова М.И., Уткин О.В. Особенности эпидемического процесса инфекционного мононуклеоза в нижегородской области в современный период. *Здоровье населения и среда обитания – ЗНУСО*. 2021;(4):79–86. Popkova M.I., Utkin O.V. Features of the current epidemic process of infectious mononucleosis in the Nizhny Novgorod region. *Public Health and Life Environment – PH&LE*. 2021;(4):79–86.  
DOI: <https://doi.org/10.35627/2219-5238/2021-337-4-79-86>  
EDN: <https://elibrary.ru/hjuztc>
  27. Devkota K., He M., Liu M.Y., et al. Increasing Epstein–Barr virus infection in Chinese children: A single institutional based retrospective study. *F1000Res*. 2018;7:1211.  
DOI: <https://doi.org/10.12688/f1000research.15544.2>
  28. Hatton O., Smith M.M., Alexander M., et al. Epstein–Barr virus latent membrane protein 1 regulates host B cell MicroRNA-155 and its target FOXO3a via PI3K p110 $\alpha$  activation. *Front. Microbiol.* 2019;10:2692.  
DOI: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.02692>
  29. Гончарова Е.В., Сенюта Н.Б., Смирнова К.В. и др. Вирус Эпштейна–Барр (ВЭБ) в России: инфицированность населения и анализ вариантов гена *LMP1* у больных ВЭБ-ассоциированными патологиями и здоровых лиц. *Вопросы вирусологии*. 2015;60(2):11–7. Goncharova E.V., Senyuta N.B., Smirnova K.V., et al. Epstein–Barr virus (EBV) in Russia: infection of the population and analysis of the *LMP1* gene variants in patients with EBV-associated pathologies and healthy individuals. *Problems of Virology*. 2015;60(2):11–7.  
EDN: <https://elibrary.ru/trmsfn>
  30. Burrows J.M., Bromham L., Woolfit M., et al. Selection pressure-driven evolution of the Epstein–Barr virus-encoded oncogene *LMP1* in virus isolates from Southeast Asia. *J. Virol.* 2004;78(13):7131–7.  
DOI: <https://doi.org/10.1128/JVI.78.13.7131-7137.2004>

### Информация об авторах

**Брызгалова Дарья Алексеевна** — м.н.с. лаб. молекулярной биологии и биотехнологии Нижегородского НИИ эпидемиологии и микробиологии им. акад. И.Н. Блохиной, Нижний Новгород, Россия, <https://orcid.org/0000-0002-6663-8440>

**Сахарнов Николай Александрович**<sup>✉</sup> — к.б.н., с.н.с. лаб. молекулярной биологии и биотехнологии Нижегородского НИИ эпидемиологии и микробиологии им. акад. И.Н. Блохиной, Нижний Новгород, Россия, [saharnov@nniem.ru](mailto:saharnov@nniem.ru), <https://orcid.org/0000-0003-3965-2033>

**Попкова Мария Игоревна** — к.м.н., в.н.с. лаб. молекулярной биологии и биотехнологии Нижегородского НИИ эпидемиологии и микробиологии им. акад. И.Н. Блохиной, Нижний Новгород, Россия, <https://orcid.org/0000-0001-5864-5862>

**Соболева Евгения Андреевна** — врач-инфекционист Нижегородского областного центра по профилактике и борьбе со СПИД и инфекционными заболеваниями, Нижний Новгород, Россия, <https://orcid.org/0000-0003-3591-9618>

**Кулова Екатерина Александровна** — к.м.н., врач-инфекционист, аллерголог-иммунолог ООО «Тонус Кроха и семейная стоматология», Нижний Новгород, Россия, <https://orcid.org/0000-0002-5207-1164>

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

**Участие авторов:** *Брызгалова Д.А.*, *Сахарнов Н.А.* — написание текста; *Соболева Е.А.*, *Кулова Е.А.* — представление клинического материала, формирование групп исследования; *Уткин О.В.*, *Попкова М.И.* — редактирование. Все авторы внесли существенный вклад в проведение поисково-аналитической работы и подготовку статьи, прочли и одобрили финальную версию до публикации.

Статья поступила в редакцию 05.06.2023;  
принята к публикации 15.09.2023;  
опубликована 28.10.2023

### Information about the authors

**Daria A. Bryzgalova** — junior researcher, Laboratory of molecular biology and biotechnology, Academician I.N. Blokhina Nizhny Novgorod Scientific Research Institute of Epidemiology and Microbiology, Nizhny Novgorod, Russia, <https://orcid.org/0000-0002-6663-8440>

**Nikolay A. Sakharnov**<sup>✉</sup> — Cand. Sci. (Biol.), senior researcher, Laboratory of molecular biology and biotechnology, Academician I.N. Blokhina Nizhny Novgorod Scientific Research Institute of Epidemiology and Microbiology, Nizhny Novgorod, Russia, [saharnov@nniem.ru](mailto:saharnov@nniem.ru), <https://orcid.org/0000-0003-3965-2033>

**Maria I. Popkova** — 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, <https://orcid.org/0000-0001-5864-5862>

**Evgeniya A. Soboleva** — infectious disease physician, Nizhny Novgorod Regional Center for the Prevention and Control of AIDS and Infectious Diseases, Nizhny Novgorod, Russia, <https://orcid.org/0000-0003-3591-9618>

**Ekaterina A. Kulova** — Cand. Sci. (Med.), infectious disease physician, allergologist and immunologist, Tonus Krokha i Semeynaya Stomatologiya LLC, Nizhny Novgorod, Russia, <https://orcid.org/0000-0002-5207-1164>

**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, <https://orcid.org/0000-0002-7571-525X>

**Author contribution:** *Bryzgalova D.A.*, *Sakharnov N.A.* — writing a text; *Soboleva E.A.*, *Kulova E.A.* — presentation of clinical material, formation of study groups; *Utkin O.V.*, *Popkova M.I.* — correction of the article. All authors made a significant contribution to the search and analytical work and preparation of the article, read and approved the final version before publication.

The article was submitted 05.06.2023;  
accepted for publication 15.09.2023;  
published 28.10.2023