



ОРИГИНАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ

DOI: <https://doi.org/10.36233/0507-4088-181>

© СМЕРНОВА К.В., ЛУБЕНСКАЯ А.К., СЕНИЮТА Н.Б., ДУШЕНЬКИНА Т.Е., ГУРЦЕВИЧ В.Э., 2023

Вирус Эпштейна–Барр 1-го и 2-го типа (Herpesviridae: *Lymphocryptovirus*) и другие маркеры вируса у больных раком носоглотки в двух этнически и географически отличающихся регионах России

Смирнова К.В.^{1–3}, Лубенская А.К.¹, Сениюта Н.Б.¹, Душенькина Т.Е.¹, Гурцевич В.Э.¹

¹ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, 115478, г. Москва, Россия;

²ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов им. Патриса Лумумбы, 117198, г. Москва, Россия;

³ФГАОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова» Минздрава России, 117997, г. Москва, Россия

Введение. Открытие двух молекулярных типов вируса Эпштейна–Барр (ВЭБ): ВЭБ-1 и ВЭБ-2, обладающих разными биологическими свойствами, стимулировало поиски новообразований, ассоциированных с каждым типом вируса.

Цель работы – изучить у больных раком носоглотки (РНГ), представителей двух популяций из географически и климатически отличающихся регионов России, характер ассоциации с ВЭБ-1 и ВЭБ-2, серологическую активность к каждому типу вируса, а также концентрацию ДНК ВЭБ в плазме крови двух гендерных, возрастных и этнических групп больных.

Материалы и методы. В плазме крови больных РНГ и другими, не ассоциированными с ВЭБ опухолями полости рта (ДОПР^{ВЭБ-}) больных из Северо-Кавказского и Центрального федеральных округов России определяли типы ВЭБ и концентрацию вирусной ДНК с помощью «гнездной» ПЦР и ПЦР в режиме реального времени соответственно. Титры IgG- и IgA-антител к вирусному капсидному антигену определяли методом непрямой иммунофлуоресценции.

Результаты. Тестирование собранных образцов плазмы крови показало, что больные РНГ и ДОПР^{ВЭБ-} инфицированы обоими типами ВЭБ примерно в одинаковых соотношениях. У двух групп больных РНГ, инфицированных только одним из типов вируса, соответственно ВЭБ-1 или ВЭБ-2, не обнаружено статистически значимых различий между среднегеометрическими значениями титров IgG- и IgA-антител к ВЭБ и концентрациями вирусной ДНК в плазме крови. На распространенность типов ВЭБ не влияли ни пол, ни этногеографическая принадлежность больных РНГ. Различия выявлено только в возрастных группах: у больных РНГ до 60 лет преобладал ВЭБ-2, а старше 60 лет – ВЭБ-1.

Заключение. Отсутствие преобладания одного из типов ВЭБ у больных РНГ, представителей разных этносов из географически и климатически отличающихся регионов, позволяет предположить, что ни один из этих факторов не играет важной роли в канцерогенезе РНГ, но каждый тип ВЭБ (ВЭБ-1 или ВЭБ-2) при возникновении необходимых условий способен проявить свой онкогенный потенциал и инициировать развитие опухоли.

Ключевые слова: вирус Эпштейна–Барр (ВЭБ); типы ВЭБ (ВЭБ-1 и ВЭБ-2); рак носоглотки (РНГ); другие опухоли полости рта, не ассоциированные с ВЭБ (ДОПР^{ВЭБ-}); «гнездная» ПЦР; ПЦР в режиме реального времени; медиана копий ДНК ВЭБ в плазме/мл; IgG- и IgA-антитела к вирусному (ВЭБ) капсидному антигену (ВКА)

Для цитирования: Смирнова К.В., Лубенская А.К., Сениюта Н.Б., Душенькина Т.Е., Гурцевич В.Э. Вирус Эпштейна–Барр 1-го и 2-го типа (Herpesviridae: *Lymphocryptovirus*) и другие маркеры вируса у больных раком носоглотки в двух этнически и географически отличающихся регионах России. *Вопросы вирусологии*. 2023; 68(4): 291–301. DOI: <https://doi.org/10.36233/0507-4088-181> EDN: <https://elibrary.ru/mszoip>

Для корреспонденции: Смирнова Ксения Валерьевна, заведующая лабораторией вирусного канцерогенеза НИИ канцерогенеза «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России. Тел.: +7 (919) 760-82-57; E-mail: skv.lab@yandex.ru

Участие авторов: Смирнова К.В. – организация исследования, анализ полученных результатов, редактирование рукописи; Лубенская А.К. – детекция типов ВЭБ, определение концентрации ДНК ВЭБ в плазме; Сениюта Н.Б. – систематизация результатов исследования, анализ гуморального ответа к ВЭБ; Душенькина Т.Е. – сбор и обработка биологического материала; постановка реакции иммунофлуоресценции; Гурцевич В.Э. – идея исследования, написание рукописи, оформление рисунков.

Финансирование. Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда (проект № 23-25-00435). **Благодарность.** Авторы выражают глубокую признательность и искреннюю благодарность профессорам: Евгению Григорьевичу Матайкину, Михаилу Алексеевичу Кропоткову и Али Мурадовичу Мудунову, заведующим в разные годы отделением опухолей головы и шеи в НИИ клинической онкологии НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина, а также к.м.н., врачу-онкологу этого же отделения Анастасии Валерьевне Игнатовой за данные клинического сопровождения больных и обеспечение клиническим материалом.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Этическое утверждение. Исследование проводилось при добровольном информированном согласии пациентов. Протокол исследования одобрен Этическим комитетом ФГБУ «НМИЦО им. Н.Н. Блохина» Минздрава России (Протокол № 532 от 14.04.2022).

Поступила 17.06.2023

Принята в печать 08.08.2023

Опубликована 31.08.2023

ORIGINAL STUDY ARTICLE

DOI: <https://doi.org/10.36233/0507-4088-181>

Epstein–Barr virus (Herpesviridae: *Lymphocryptovirus*) types 1 and 2 and other viral markers in patients with nasopharyngeal carcinoma in two geographically and ethnically distinct regions of Russia

Ksenia V. Smirnova^{1–3}, Aleksandra K. Lubenskaya¹, Natalya B. Senyuta¹, Tatyana E. Dushenkina¹, Vladimir E. Gurtsevitch¹

¹N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology, 115478, Moscow, Russia;

²Peoples' Friendship University of Russia named after Patrice Lumumba, 117998, Moscow, Russia;

³N.I. Pirogov National Research Medical University, 117997, Moscow, Russia

Introduction. The discovery of two types of Epstein–Barr virus (EBV) (EBV-1 and EBV-2) that have different biological properties stimulated the search for neoplasms associated with each type of the virus.

The aim of the work is to study the nature of the association of nasopharyngeal cancer (NPC) with EBV-1 and EBV-2, serological activity for each viral type and the concentration of EBV DNA in the blood plasma of two gender, age and ethnic groups of NPC patients that represent geographically and climatically different regions of Russia.

Materials and methods. In the blood plasma of patients with NPC and other non-EBV associated tumors of oral cavity (OTOC^{EBV-}) from the North Caucasian (NCFD) and Central (CFD) Federal Districts of Russia, the types of EBV and the concentration of viral DNA were determined using respectively «nested» and real time PCR; titers of IgG and IgA antibodies to viral capsid antigen (VCA) were measured in indirect immunofluorescence assay.

Results. The blood plasma samples testing showed that NPC and OTOC^{EBV-} patients were infected with both types of EBV in approximately equal proportions. In two groups of NPC patients infected with one of the virus types only, EBV-1 or EBV-2, respectively, no statistically significant differences were found between the geometric mean values of IgG and IgA anti-EBV antibody titers and viral DNA concentrations in blood plasma. The distribution of virus types was not affected by either patient gender or ethnogeographic origin. The difference was found only between age groups: EBV-2 dominated in NPC patients up to 60 years, and EBV-1 was prevalent in patients over 60 years.

Conclusion. The lack of the predominance of one of EBV types in NPC patients that are the representatives of different ethnic groups from geographically and climatically different regions, suggests that none of these factors play an important role in the NPC carcinogenesis. Evidently, each type of EBV, EBV-1 or EBV-2, if the necessary conditions arise, are able to exhibit its oncogenic potential to initiate tumor development.

Keywords: Epstein–Barr virus (EBV); EBV types (EBV-1 and EBV-2); nasopharyngeal carcinoma (NPC); other tumors of the oral cavity not associated with EBV (OTOC^{EBV-}); «nested» PCR; real-time PCR; EBV DNA concentration in plasma; immunofluorescence reaction; IgG and IgA antibodies to the virus (EBV) capsid antigen (VCA)

For citation: Smirnova K.V., Lubenskaya A.K., Senyuta N.B., Dushenkina T.E., Gurtsevitch V.E. Epstein–Barr virus (Herpesviridae: *Lymphocryptovirus*) types 1 and 2 and other viral markers in nasopharyngeal carcinoma patients in two geographically and ethnically different regions of Russia. *Problems of Virology (Voprosy Virusologii)*. 2023; 68(4): 291–301 (In Russ.). DOI: <https://doi.org/10.36233/0507-4088-181> EDN: <https://elibrary.ru/mszoip>

For correspondence: Smirnova Ksenia Valerievna, Head, laboratory of viral carcinogenesis, Research Institute of Carcinogenesis, N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology. E-mail: skv.lab@yandex.ru

Information about the authors:

Smirnova K.V., <https://orcid.org/0000-0001-6209-977X>

Lubenskaya A.K., <https://orcid.org/0000-0003-3953-7449>

Senyuta N.B., <https://orcid.org/0000-0001-8915-8274>

Dushenkina T.E., <https://orcid.org/0000-0001-8279-514X>

Gurtsevitch E.V., <https://orcid.org/0000-0003-1840-4364>

Contribution: Smirnova K.V. – organization of the study, analysis of the results obtained, editing of the manuscript; Lubenskaya A.K. – detection of EBV types, determination of EBV DNA concentration in plasma; Senyuta N.B. – system-

atization of the study results, analysis of the serological response to EBV; Dushenkina T.E. – collection and processing of biological material; setting up an immunofluorescence reaction; Gurtsevitch V.E. – the idea and design of the study, writing the manuscript, the design of figures.

Funding. The research was funded by the Grant of Russian Scientific Foundation (project No. 23-25-00435).

Acknowledgement. The authors express their deep gratitude and sincere gratitude to the professors Eugenii G. Matyakin, Mikhail A. Kropotov and Ali M. Mudunov, who in different years headed the department of head and neck tumors at the Research Institute of Clinical Oncology of the N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology, as well as to oncologist of the same department PhD in Medicine Anastasia V. Ignatova for the data of clinical support of patients and provision of clinical material.

Conflict of interest. Authors declare no potential conflicts of interest.

Ethics approval. The study was conducted with the informed consent of the patients. The research protocol was approved by the Ethics Committee of the N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology (Protocol No. 532 dated 14.04.2022).

Received 17 June 2023

Accepted 08 August 2023

Published 31 August 2023

Введение

Известно, что вирус Эпштейна–Барр (ВЭБ) пожизненно инфицирует более 95% взрослого населения планеты. Заражение ВЭБ в большинстве случаев протекает бессимптомно, и у инфицированных лиц вирус, как правило, сохраняется в латентном состоянии в В-клетках памяти [1]. В то же время существуют неоспоримые доказательства того, что вирус причастен к возникновению злокачественных новообразований лимфоидного и эпителиального происхождения, на основании чего Международное агентство по изучению рака включило ВЭБ в группу канцерогенов № 1, обладающих прямым канцерогенным действием на человека [2].

Среди опухолей эпителиального происхождения, ассоциированных с ВЭБ, особое место занимает рак носоглотки (РНГ), являющийся одним из наиболее распространенных раков в южных провинциях Китая и странах Юго-Восточной Азии (25–30 случаев на 100 тыс. человек в год). Менее часто РНГ встречается среди арабов Северной Африки, коренных народов Гренландии, Аляски и достаточно редко – в большинстве европейских стран и США [3]. В России частота РНГ составляет 0,1–0,2% в общей структуре онкологической заболеваемости: 0,55 и 0,29 на 100 тыс. населения для мужчин и женщин соответственно [3]. Установленными для РНГ факторами риска, кроме массивного инфицирования в раннем детском возрасте, являются генотип хозяина, мужской пол и семейный анамнез РНГ. К факторам риска относятся и высокое потребление консервированных продуктов (например, соленой рыбы в Китае), а также наличие у инфицированного лица определенных аллелей лейкоцитарного антигена (HLA) класса I [4, 5]. Важно также отметить, что ассоциированным с ВЭБ является преимущественно неороговевающий недифференцированный гистологический вариант опухоли.

Механизм канцерогенеза при ВЭБ-ассоциированном РНГ во многом определяется функциональными особенностями и самого вируса, требующими дальнейшего изучения. Показано, что ВЭБ обладает двойной тропностью, проявляющейся в способности инфицировать как В-лимфоциты, так и эпителиальные клетки. Инфекция обоих типов клеток в миндалинах

является важным этапом, обеспечивающим персистенцию вируса в организме [6, 7]. Латентная фаза инфекции в клетках эпителия способствует размножению и распространению потомства вируса, а латентная инфекция этих же клеток позволяет избежать обнаружения и уничтожения вируса иммунной системой хозяина и может стать событием, предвещающим возникновение опухоли. При этом экспрессия латентных генов ВЭБ возможна только в immortalized эпителиальных клетках с измененной активностью ряда клеточных генов (циклина-D, p16), способствующих преодолению ареста клеточного цикла. Экспрессия латентных генов вируса также происходит при возникновении локального воспаления в присутствии воспалительного цитокина – трансформирующего фактора роста (TGF-1) [8, 9]. Эти данные позволяют предположить, что для злокачественной трансформации эпителия, инфицированного ВЭБ, необходимы не только определенный генотип хозяина, но и приобретаемые эпителиальными клетками геномные/эпигенетические изменения.

Возникшие опухолевые клетки эпителиального происхождения в результате реактивации в них вируса часто подвергаются лизису с высвобождением вирусного потомства [10]. Об этом свидетельствуют высокие концентрации ДНК ВЭБ в плазме крови и повышенные уровни IgG- и IgA-антител к антигенам вируса [11]. Процесс реактивации ВЭБ в опухолевых клетках также вносит свой вклад в прогрессирование РНГ. Это происходит за счет высвобождающихся вирусных белков, вызывающих нестабильность клеточного генома [12], в результате интеграции вируса в областях клеточного генома, расположенных вблизи опухоли-супрессорных и связанных с воспалением генов [13], а также за счет активированной продукции фактора роста эндотелия сосудов (VEGF) [14] и т.д. Таким образом, в то время как латентные гены вируса обеспечивают выживание опухолевым клеткам РНГ, литическая фаза инфекции способствует прогрессированию опухоли за счет нестабильности генома и ангиогенеза.

Важную роль в ВЭБ-ассоциированном канцерогенезе играет кодируемый вирусом ядерный белок EBNA1. Недавно обнаружено, что в клетках, латент-

но инфицированных ВЭБ, EBNA1 связывает ВЭБ-подобные последовательности на хрупком участке 11-й хромосомы человека и при увеличении количества EBNA1 на этой хромосоме происходит ее разрушение. Последствие этого события стало понятным после полногеномного секвенирования 2439 злокачественных новообразований, относящихся к 38 нозологическим формам. Оказалось, что опухоли, ассоциированные с ВЭБ, демонстрируют более высокие уровни аномалий 11-й хромосомы, а у больных РНГ эти аномалии встречаются в 100% случаев [15].

Открытие двух типов ВЭБ (ВЭБ-1 и ВЭБ-2, или типов А и В) на основании генетических различий в генах, кодирующих ядерные белки EBNA-2, EBNA-3а и EBNA-3с [16–19], стимулировало проведение серии исследований, направленных на выяснение биологических свойств этих типов вируса. В частности, было показано, что ВЭБ-1, в отличие от ВЭБ-2, обладает способностью трансформировать В-лимфоциты *in vitro* [20], а ВЭБ-2 характеризуется уникальным клеточным тропизмом к Т-клеткам. Оказалось также, что ВЭБ-2 легко инфицирует зрелые CD3-Т-клетки человека *in vitro*, оставаясь в этих клетках в латентном состоянии [21]. Более того, закономерное обнаружение ВЭБ-2 в Т-клетках больных лимфомой Беркитта в Кении и Новой Гвинее, а также инфицированность им более 20% здоровых кенийских младенцев свидетельствует о том, что заражение Т-клеток ВЭБ-2 является естественной частью жизненного цикла этого типа вируса, предпосылкой реализации его онкогенного потенциала [22]. Эти наблюдения позволили предположить, что каждый из вирусных типов (ВЭБ-1 и ВЭБ-2) в ситуации *in vivo* использует альтернативные подходы для установления своей латентности – этапа, предваряющего развитие злокачественных новообразований. В пользу такого предположения свидетельствует тот факт, что заражение ВЭБ-2 гуманизированных мышей, предварительно привитых стволовыми CD34-клетками пуповинной крови человека, привело к возникновению у большинства из них В-клеточной лимфомы, напоминающей диффузную крупноклеточную лимфому человека [23]. Описанные выше результаты наблюдений и другие данные послужили основой для исследований, направленных на изучение связи каждого из 2 типов вируса с конкретным ВЭБ-ассоциированным новообразованием и определением более агрессивного злокачественного фенотипа у одного из них [24].

Согласно данным литературы, ВЭБ-1 был ассоциирован с большинством ВЭБ-положительных лимфом Беркитта в Бразилии, доминировал у больных РНГ в Китае, пациентов с назальной и периферической Т-клеточной лимфомой в Тайване, а также преобладал среди ВЭБ-положительных случаев лимфомы Ходжкина в Англии [25–27] и т.д. В то же время ВЭБ-2 чаще обнаруживали у больных с иммуносупрессией различного генеза [28]. Несмотря на имеющиеся сообщения о преимущественной персистенции одного из типов ВЭБ при той или иной патологии, вклад каждого из них в процесс канцерогенеза остается практически неизученным.

В России также проведены исследования, посвященные изучению персистенции ВЭБ-1 и ВЭБ-2 в разных группах населения. В частности показано, что в группе этнических калмыков из Республики Калмыкия обнаружено примерно одинаковое соотношение лиц, инфицированных обоими типами ВЭБ (51 и 49% соответственно), в то время как в группе татар (83%), представителей Республики Татарстан, и в группе славян (81%), представителей Московской области, доминировал 1-й тип вируса. В группе адыгейцев, представителей Республики Адыгея, была обнаружена высокая (81%) инфицированность вирусом 2-го типа [29–31].

Поскольку инфицированность типами ВЭБ, как и заболеваемость РНГ, характеризуются географической и этнической вариабельностью [32], выяснение вклада каждого из типов вируса в развитие РНГ в генетически отличающихся популяциях из разных географических регионов представляется актуальной задачей.

Исходя из сказанного, **цель** настоящей работы заключалась в изучении характера ассоциации ВЭБ-1 и ВЭБ-2 с РНГ у больных, представителей Центрального (ЦФО) и Северо-Кавказского (СКФО) федеральных округов России, расположенных в географически и климатически отличающихся регионах страны с разным этническим составом населения. При этом у больных РНГ было важным выяснить гендерные и возрастные особенности ассоциации с типами вируса, серологический ответ на них больных и концентрацию вирусной ДНК в плазме крови.

Материалы и методы

Объекты исследования

Исследуемый материал

Объектом исследования стали образцы плазмы крови больных РНГ с ассоциированным с ВЭБ неороговевающим недифференцированным гистологическим вариантом опухоли из СКФО и ЦФО страны (21 и 30 случаев соответственно). В качестве контроля исследовали образцы плазмы крови больных с опухолями полости рта, не ассоциированными с ВЭБ (ДОПР^{ВЭБ-}). В их число вошли новообразования слизистой оболочки полости рта, языка, неба, подъязычной миндалины и случаи РНГ с ороговевающим дифференцированным гистологическим вариантом опухоли (не ассоциированные с ВЭБ) из тех же федеральных округов (27 и 23 случая соответственно). Принадлежность к конкретному этносу определяли на основании наличия у больного кровных родственников в третьем поколении, относящихся к тому же этносу, и продолжительности проживания больного в соответствующем регионе не менее 15 лет. Все участники исследования являлись пациентами ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России. Исследование проводили при добровольном информированном согласии пациентов. Протокол исследования был одобрен Комитетом по этике при ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России (Протокол № 532 от 14.04.2022).

Генотипирование EBNA-2 методом «гнездовой» полимеразной цепной реакции

Для получения препаратов тотальной ДНК использовали набор ExtractDNA Blood & Cells («Евроген», Россия), предназначенный для выделения высококачественной суммарной ДНК из цельной крови с использованием микроцентрифужных колонок. В качестве стандартной реакционной смеси при постановке полимеразной цепной реакции (ПЦР) применяли набор qPCRmix-HS («Евроген», Россия), в состав которого помимо смеси дезокси-нуклеозидтрифосфатов, Mg²⁺ и реакционного буфера входит HS Taq ДНК-полимераза, представляющая собой смесь рекомбинантного фермента Taq ДНК-полимеразы и моноклональных антител, что позволяет использовать режим «горячего старта» для повышения чувствительности и специфичности реакции.

Генотипирование гена EBNA-2 на ВЭБ-1 и ВЭБ-2 в образцах плазмы крови больных проводили с помощью «гнездовой» ПЦР, следуя описанному ранее методу [33], с незначительными модификациями. Используемые праймеры продемонстрировали высокую специфичность тестирования и отсутствие перекрестной реактивности с геномом человека и другими вирусами или микроорганизмами [34].

Количественное измерение вирусной ДНК

Число копий ДНК ВЭБ в образцах плазмы крови больных РНГ и ДОПР^{ВЭБ-} определяли с помощью ПЦР в режиме реального времени (ПЦР-РВ), используя подходы, опубликованные ранее [35].

Серологический тест на антитела к ВЭБ

Титры IgG- и IgA-антител к капсидному антигену ВЭБ (ВКА) определяли в плазме крови больных методом непрямой иммунофлуоресценции (т.н. «золотым» стандартом); его описание и учет получаемых результатов были нами описаны ранее [36]. Титры антител представлены в виде их среднегеометрических значений (СГЗ).

Статистический анализ

Число копий ДНК ВЭБ в исследуемых образцах плазмы крови больных РНГ и ДОПР^{ВЭБ-} оценивали с помощью U-критерия Манна–Уитни. Результаты представлены в виде медиан с межквартильными интервалами (25 и 75 процентилями). С помощью точного теста Фишера (Fisher's exact test) рассчитывали значение *p* при сравнении значений медиан копий ДНК ВЭБ в 1 мл плазмы крови для изучаемых групп больных; различия между значениями медиан считали статистически значимыми при *p* ≤ 0,05. Вычисления проводили с помощью статистических пакетов Statistica for Windows 10.0.

Результаты

С целью определения характера ассоциации РНГ в России с типами ВЭБ, образцы плазмы крови больных РНГ и ДОПР^{ВЭБ-} из СКФО и ЦФО тестирова-

ли на наличие генетических последовательностей ВЭБ-1 и ВЭБ-2. В плазме крови больных РНГ и ДОПР^{ВЭБ-} дополнительно определяли титры IgG- и IgA-антител к ВКА ВЭБ и концентрацию вирусной ДНК, представленную в виде медианы копий ДНК ВЭБ/мл плазмы крови. Как следует из полученных данных (рис. 1), инфицированность ВЭБ-1 была выше у больных ДОПР^{ВЭБ-}: 54% (27/51) против 41% (21/51) у больных РНГ. Напротив, у больных РНГ доминировал ВЭБ-2: 60% (30/50) против 46% (23/50) у больных ДОПР^{ВЭБ-}. Однако различия между процентными соотношениями ВЭБ-1 и ВЭБ-2 у больных РНГ и ДОПР^{ВЭБ-} оказались статистически недостоверными (*p* = 0,12). Из рисунка 1 также следует, что СГЗ титров IgG- и IgA-антител к ВКА, как и медиана копий вирусной ДНК/мл плазмы, у больных РНГ были существенно и статистически достоверно выше, чем у больных ДОПР^{ВЭБ-} (*p* < 0,0001, *p* < 0,0001 и *p* < 0,008 соответственно). Полученные данные свидетельствуют об отсутствии у больных РНГ предпочтительной связи с одним из типов вируса, подтверждая в тоже время выраженную ассоциацию РНГ с ВЭБ.

Для анализа биологической активности каждого типа ВЭБ серологический ответ, а также концентрацию вирусной ДНК/мл плазмы, изучали в 2 группах больных РНГ, инфицированных соответственно одним из типов вируса: ВЭБ-1 или ВЭБ-2. Из данных, представленных на рис. 2, видно, что более высокие СГЗ титров IgG- и IgA-антител к ВКА и концентрация вирусной ДНК/мл плазмы (медиана) были обнаружены у больных РНГ, инфицированных 2-м типом вируса (383, 102 и 933 против 312, 80 и 322 у больных, инфицированных 1-м типом вируса). Различия между соответствующими значениями в сравниваемых группах больных РНГ были статистически недостоверными, хотя некоторую тенденцию к большей, по сравнению с ВЭБ-1, активностью демонстрировал ВЭБ-2. Изучение дополнительных свойств у ВЭБ-1 и ВЭБ-2 с использованием достаточно большой выборки, возможно более точно определит биологическую активность каждого из этих типов вируса.

Учитывая отличающиеся физиологические и обменные метаболические процессы у мужчин и женщин, представлялось важным выяснить, не существует ли у представителей двух гендеров больных РНГ предпочтительной ассоциации с одним из типов ВЭБ. Представленные на рис. 3 данные свидетельствуют о том, что мужчины несколько чаще инфицированы 1-м типом вируса (47% против 38% у женщин), в то время как женщины – 2-м типом (62% против 53% у мужчин). Однако различия между процентным содержанием ВЭБ-1 и ВЭБ-2 в группах мужчин и женщин были статистически недостоверными (*p* = 0,24). Несмотря на более высокие СГЗ титров IgG- и IgA-антител к ВКА и медианы копий вирусной ДНК в группе женщин (453, 108 и 1240 против 283, 77 и 1098 у мужчин), различия между сравниваемыми показателями также оказались статистически недостоверными (*p* = 0,054, 0,560, 0,980 соответственно).

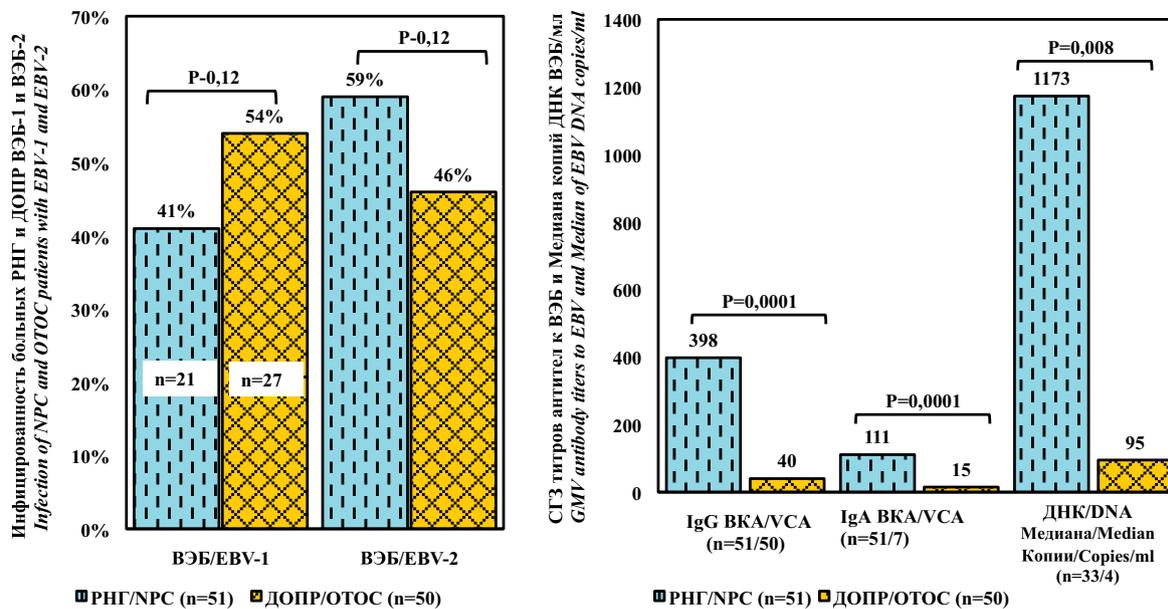


Рис. 1. Типы ВЭБ и другие маркеры вируса у больных РНГ и ДОПР^{ВЭБ-}.
 Fig. 1. EBV types and other viral markers in NPC and OTOC^{EBV-} patients.

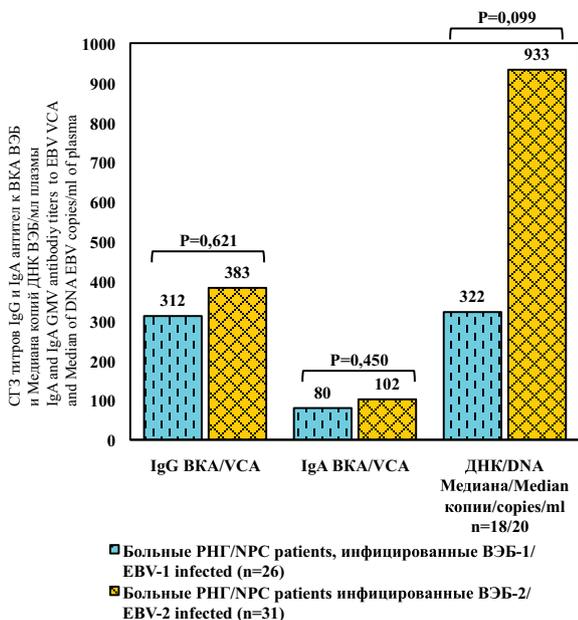


Рис. 2. Маркеры ВЭБ в двух группах больных РНГ, инфицированных ВЭБ-1 и ВЭБ-2.

Fig. 2. EBV markers in two NPC groups of patients infected with EBV-1 and EBV-2.

Полученные данные позволяют сделать вывод о том, что гендерные различия не влияют на инфицированность больных РНГ типами вируса.

Влияние генетических факторов и триггеров окружающей среды на характер инфицированности ВЭБ-1 и ВЭБ-2 было изучено у больных РНГ, этнических представителей ЦФО и СКФО России. Как было указано выше, федеральные округа расположены в разных климатических и географических регионах страны и населены генетически отличающимися

популяциями – преимущественно представителями славянских народов и многочисленными кавказскими народами соответственно. Проведенный анализ показал (рис. 4), что инфицированность больных РНГ из обоих федеральных округов была выше 2-м, чем 1-м типом вируса (55 и 54% против 45 и 46% соответственно), хотя различия между степенью распространенности ВЭБ-1 и ВЭБ-2 у представителей двух этносов были статистически недостоверными ($p = 0,39$). Показатели СГЗ титров IgG-и IgA-антител к ВКА ВЭБ у больных РНГ из СКФО и ЦФО также оказались статистически незначимыми ($p = 0,406$ и $p = 0,110$ соответственно). Однако медиана копий ДНК/мл плазмы у больных РНГ из СКФО статистически достоверно превышала соответствующее значение у больных из ЦФО (1328 против 112 соответственно; $p = 0,002$). Полученные данные свидетельствуют о том, что генетические особенности больных РНГ и факторы окружающей среды, не оказывая у больных РНГ существенного влияния на распределение типов вируса и серологический к ним ответ, воздействуют на уровень репликации вируса и, как следствие, на его концентрацию в организме хозяина.

Известно, что иммунная система человека максимально функционирует с 16–18 до 55–60 лет и в последующие годы ее активность постепенно снижается, что может, в частности, сопровождаться активизацией репликации ВЭБ – фактором риска для возникновения ВЭБ-ассоциированных новообразований, таких как саркома Капоши, болезнь Кастрлемана, ряд лимфом, включая лимфому Ходжкина и РНГ. Для того чтобы выяснить, коррелирует ли серологическая активность типов ВЭБ и их репликация в организме хозяина в зависимости от возраста, были изучены две группы больных РНГ в возрасте до 60 лет (11 пациентов; средний возраст 44,1 года) и старше 60 лет (31 паци-

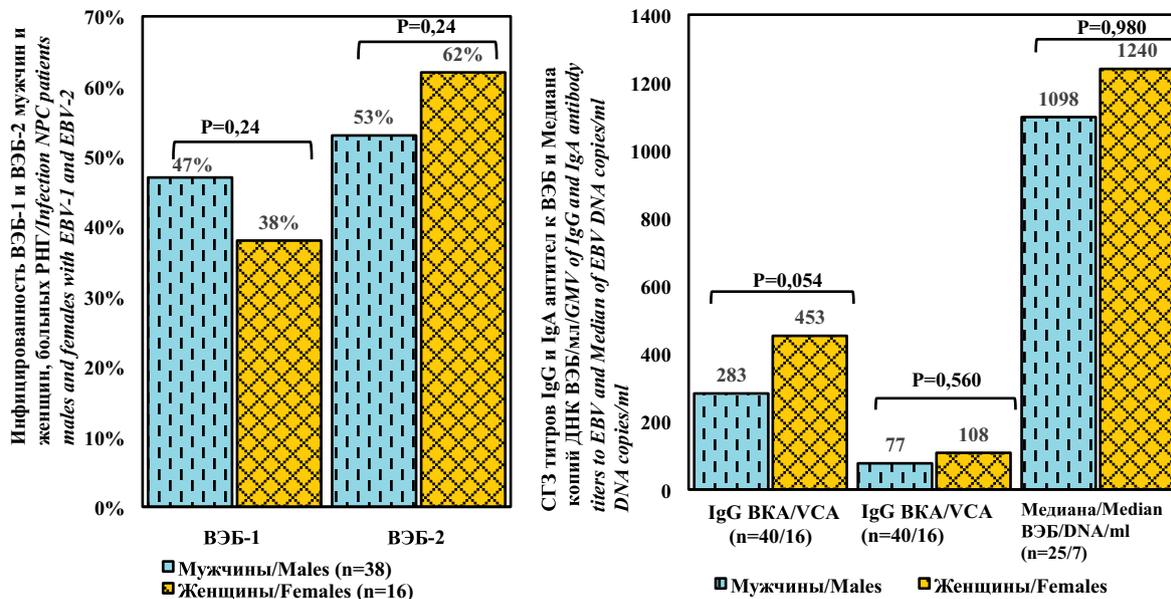


Рис. 3. Типы ВЭБ и другие маркеры вируса у мужчин и женщин, больных РНГ.

Fig. 3. EBV types and other viral markers in NPC male and female patients.

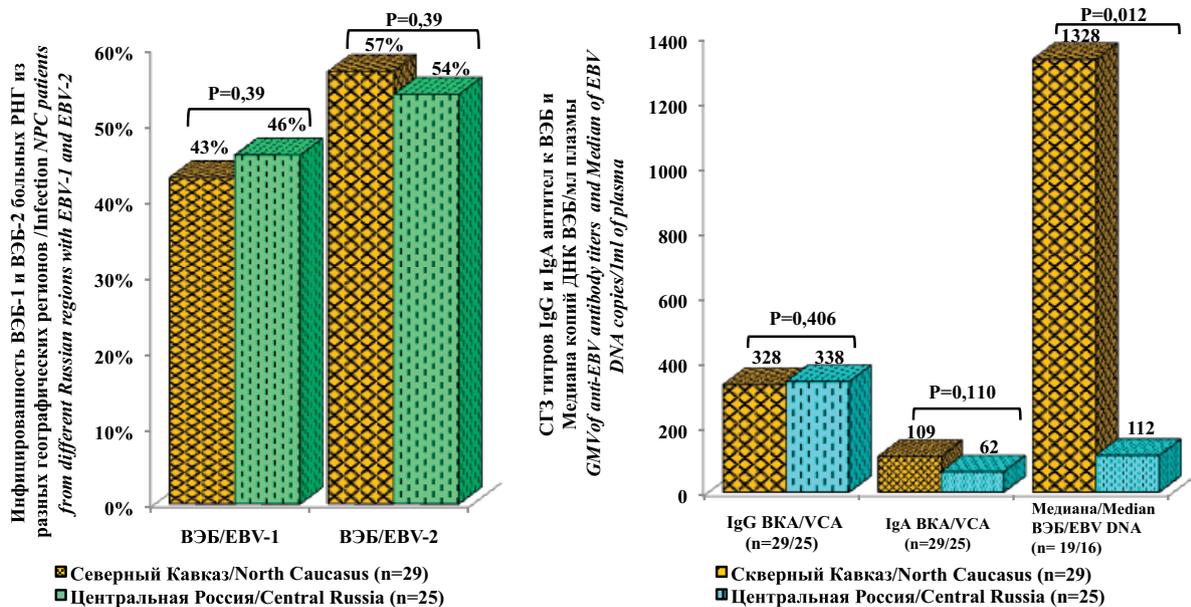


Рис. 4. Типы ВЭБ и другие маркеры вируса у больных РНГ, представителей 2 этносов из разных климатогеографических регионов России.

Fig. 4. EBV types and other markers of the virus in NPC patients that are the representatives of two ethnic groups from different climatic and geographical regions of Russia.

ент; средний возраст 71,5 года). Проведенный анализ показал (рис. 5), что больные старше 60 лет статистически достоверно чаще инфицированы 1-м типом вируса (55% против 48% 2-м типом; $p = 0,01$), в то время как 2-м типом вируса достоверно чаще инфицированы больные до 60 лет (52% против 45% 1-м типом; $p = 0,01$). Выявлено также, что СГЗ титров IgG- и IgA-антител к ВКА, хотя и были более высокими в группе больных до 60 лет (320 и 99 против 265 и 58 соответственно), различия между этими показателями

оказались статистически недостоверными ($p = 0,310$ и $p = 0,242$ соответственно). И несмотря на то, что медиана копий вирусной ДНК/мл плазмы крови у больных до 60 лет оказалась в 3 раза выше, чем у больных старше 60 лет (959 и 319 соответственно), различие между значениями медиан было статистически недостоверным ($p = 0,39$). Последнее, вероятно, объясняется небольшим числом наблюдений в группе больных старше 60 лет (6 случаев) и разбросом копий ДНК/мл плазмы для отдельных случаев в этой группе.

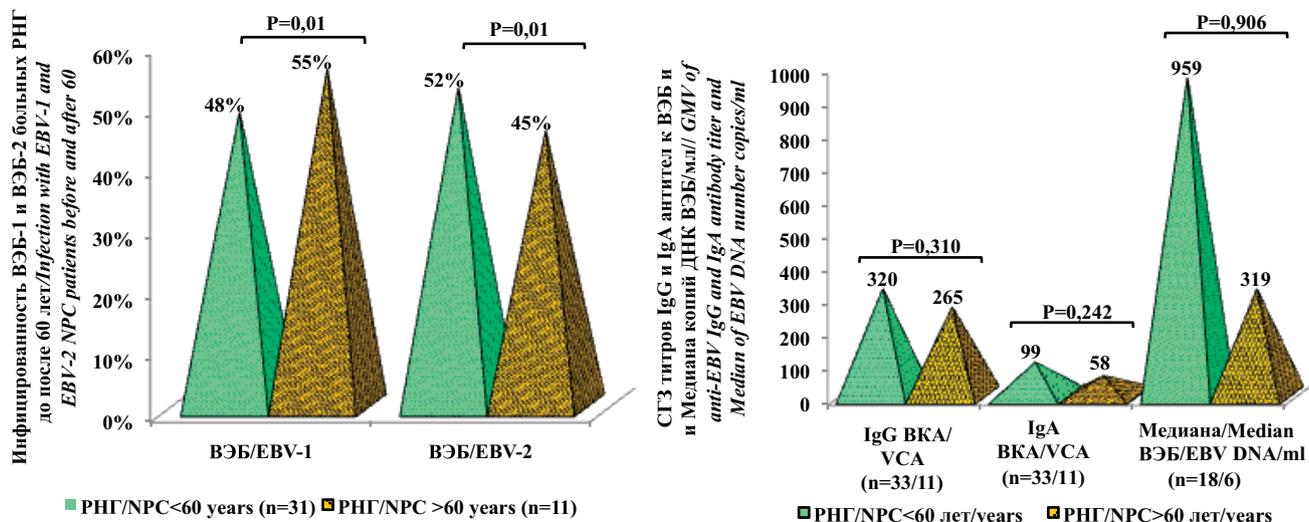


Рис. 5. Типы ВЭБ и другие маркеры вируса у больных РНГ в возрастных группах моложе и старше 60 лет.

Fig. 5. EBV types and other viral markers in NPC patients under and over 60 years.

Обсуждение

Проведенные исследования показали практически не отличающийся характер инфицированности ВЭБ-1 и ВЭБ-2 у больных РНГ и ДОПР^{ВЭБ}, а также у больных РНГ, этнических представителей двух генетически отличающихся популяций из разных географических и климатических регионов России. У больных РНГ не было обнаружено гендерных различий в распределении типов вируса. Кроме того, примерно одинаковая серологическая активность вируса к ВКА ВЭБ была выявлена в группах больных РНГ, инфицированных только ВЭБ-1 или ВЭБ-2. Не было также обнаружено доминирования ни одного из типов вируса у больных РНГ с разными размерами первичной опухоли, величиной измененных опухолевых процессом лимфатических узлов и стадиями болезни (данные не представлены). Различалась лишь инфицированность типами вируса в разных возрастных группах в сторону преобладания ВЭБ-1 у больных РНГ старше 60 лет и ВЭБ-2 у больных до 60 лет. Это наблюдение, по-видимому, нуждается, в дальнейшем изучении.

Полученные данные позволяют в целом сделать вывод об отсутствии доминирующей роли какого-либо типа ВЭБ в развитии РНГ в России. Различия в последовательностях генов *EBNA-2*, *EBNA-3A* и *EBNA-3C*, обеспечившие 1-му и 2-му типам вируса некоторые функциональные особенности, не сопровождаются приобретением ни одним из них РНГ-специфических свойств, как и утратой каждым из них онкогенного потенциала, способного реализоваться при возникновении соответствующих условий. Обнаруженное же некоторыми авторами преимущественного инфицирования 1-м типом вируса большинства больных ВЭБ-положительными лимфомами Беркитта в Бразилии, лимфомами Ходжкина в Англии и РНГ в Китае [25–27], как и закономерное обнаружение ВЭБ-2 в Т-клетках лимфом Беркитта в Кении и Новой Гви-

неи [22], по-видимому, не связано с опухоль-специфическими свойствами местных типов вируса. Вероятно, это результат доминирующей персистенции одного из типов вируса в соответствующих популяциях конкретных географических регионов. Результаты тестирования здоровых представителей в указанных регионах на ВЭБ-1 и ВЭБ-2 могли бы внести ясность в этот вопрос.

Попытки обнаружить существование вариантов ВЭБ, специфически ассоциированных с конкретными опухолями человека, предпринимались многими исследователями, но до сих пор терпели неудачу. Однако полностью исключать существование штаммов ВЭБ, этиологически причастных к возникновению определенных новообразований, нельзя. Примером тому может служить недавно изолированный от китайского больного РНГ штамм ВЭБ М-81, который характеризуется высокой склонностью к эпителиотропизму [37]. Такое свойство вируса способствует увеличению вероятности инфицирования им эпителия носоглотки и возникновению рака в этой анатомической области. В этой связи поиски вариантов ВЭБ, специфических для определенных типов опухолей в эндемичных регионах среди различных этносов, представляются оправданными. Сложность задачи, однако, заключается в том, что идентификация ВЭБ высокого риска, аналогичного вирусам папилломы человека (HPV-16, HPV-18), затруднена из-за гетерогенности его вирусных генов, совместное функционирование которых, вероятно, и приводит к приобретению вирусом онкогенного потенциала.

Заключение

Отличающаяся распространенность типов ВЭБ (ВЭБ-1 и ВЭБ-2) в мире обусловлена многими факторами, в том числе и генетическими особенностями популяций. При этом факторы, влияющие на отбор типов ВЭБ *in vivo*, включают в себя иммунный надзор

со стороны организма и тип главного комплекса гистосовместимости (Major Histocompatibility Complex, МНС). А поскольку преобладающие типы МНС различаются между этническими группами и популяциями из разных географических регионов, эти факторы могут иметь большое значение для определения структурных модификаций ВЭБ и его типов [38]. Ярким примером тому могут служить результаты исследований, проведенных в России, которые показали несовпадающий характер персистенции типов вируса у представителей разных этносов: примерно равное соотношение ВЭБ-1 и ВЭБ-2 у калмыков, доминирование ВЭБ-1 у татар и славян и ВЭБ-2 – у адыгейцев [29–31].

Отсутствие доминирования одного из типов ВЭБ у изучаемых нами больных РНГ позволяет сделать вывод, что в России тип вируса в развитии РНГ не играет принципиально важного значения. По-видимому, каждый из его типов (ВЭБ-1 или ВЭБ-2) при возникновении необходимых условий способен проявить свой онкогенный потенциал. Тем не менее поиски онкогенных опухоль-специфических вариантов ВЭБ в России представляется задачей актуальной, поскольку обнаружение вируса с конкретной органной онкотропностью способствовало бы созданию эффективной вакцины для успешной борьбы с соответствующими новообразованиями.

ЛИТЕРАТУРА

- Higgins C.D., Swerdlow A.J., Macsween K.F., Harrison N., Williams H., McAulay K., et al. A study of risk factors for acquisition of Epstein-Barr virus and its subtypes. *J. Infect. Dis.* 2007; 195(4): 474–82. <https://doi.org/10.1086/510854>
- Chen C.J., You S.L., Hsu W.L., Yang H.I., Lee M.H., Chen H.C., et al. Epidemiology of virus infection and human cancer. *Recent Results Cancer Res.* 2021; 217: 13–45. https://doi.org/10.1007/978-3-030-57362-1_2
- Yu M.C., Yuan J.M. Epidemiology of nasopharyngeal carcinoma. *Semin. Cancer Biol.* 2002; 12(6): 421–9. <https://doi.org/10.1016/s1044579x02000858>
- Lo K.W., To K.F., Huang D.P. Focus on nasopharyngeal carcinoma. *Cancer Cell.* 2004; 5(5): 423–8. [https://doi.org/10.1016/s1535-6108\(04\)00119-9](https://doi.org/10.1016/s1535-6108(04)00119-9)
- Wei W.I., Kwong D.L. Current management strategy of nasopharyngeal carcinoma. *Clin. Exp. Otorhinolaryngol.* 2010; 3(1): 1–12. <https://doi.org/10.3342/ceo.2010.3.1.1>
- Borza C.M., Hutt-Fletcher L.M. Alternate replication in B cells and epithelial cells switches tropism of Epstein-Barr virus. *Nat. Med.* 2002; 8(6): 594–9. <https://doi.org/10.1038/nm0602-594>
- Hutt-Fletcher L.M. Epstein-Barr virus entry. *J. Virol.* 2007; 81(15): 7825–32. <https://doi.org/10.1128/JVI.00445-07>
- Tsang C.M., Zhang G., Seto E., Takada K., Deng W., Yip Y.L., et al. Epstein-Barr virus infection in immortalized nasopharyngeal epithelial cells: regulation of infection and phenotypic characterization. *Int. J. Cancer.* 2010; 127(7): 1570–83. <https://doi.org/10.1002/ijc.25173>
- Tsang C.M., Yip Y.L., Lo K.W., Deng W., To K.F., Hau P.M., et al. Cyclin D1 overexpression supports stable EBV infection in nasopharyngeal epithelial cells. *Proc. Natl Acad. Sci. USA.* 2012; 109(50): E3473–82. <https://doi.org/10.1073/pnas.1202637109>
- Yip Y.L., Lin W., Deng W., Jia L., Lo K.W., Busson P., et al. Establishment of a nasopharyngeal carcinoma cell line capable of undergoing lytic Epstein-Barr virus reactivation. *Lab. Invest.* 2018; 98(8): 1093–104. <https://doi.org/10.1038/s41374-018-0034-7>
- Twu C.W., Wang W.Y., Liang W.M., Jan J.S., Jiang R.S., Chao J., et al. Comparison of the prognostic impact of serum anti-EBV antibody and plasma EBV DNA assays in nasopharyngeal carcinoma. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* 2007; 67(1): 130–7. <https://doi.org/10.1016/j.ijrobp.2006.07.012>
- Chiu S.H., Wu C.C., Fang C.Y., Yu S.L., Hsu H.Y., Chow Y.H., et al. Epstein-Barr virus BALF3 mediates genomic instability and progressive malignancy in nasopharyngeal carcinoma. *Oncotarget.* 2014; 5(18): 8583–601. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.2323>
- 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>
- Hong G.K., Kumar P., Wang L., Damania B., Gulley M.L., Delecluse H.J., et al. Epstein-Barr virus lytic infection is required for efficient production of the angiogenesis factor vascular endothelial growth factor in lymphoblastoid cell lines. *J. Virol.* 2005; 79(22): 13984–92. <https://doi.org/10.1128/JVI.79.22.13984-13992.2005>
- Li J.S.Z., Abbasi A., Kim D.H., Lippman S.M., Alexandrov L.B., Cleveland D.W. Chromosomal fragile site breakage by EBV-encoded EBNA1 at clustered repeats. *Nature.* 2023; 616(7957): 504–9. <https://doi.org/10.1038/s41586-023-05923-x>
- Rowe M., Young L.S., Cadwallader K., Petti L., Kieff E., Rickinson A.B. Distinction between Epstein-Barr virus type A (EBNA 2A) and type B (EBNA 2B) isolates extends to the EBNA 3 family of nuclear proteins. *J. Virol.* 1989; 63(3): 1031–9. <https://doi.org/10.1128/JVI.63.3.1031-1039.1989>
- 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, EBNA-3B, and EBNA-3C genes. *J. Virol.* 1990; 64(9): 4084–92. <https://doi.org/10.1128/JVI.64.9.4084-4092.1990>
- Feederle R., Klinke O., Kutikhin A., Poirey R., Tsai M.H., Delecluse H.J. Epstein-Barr virus: from the detection of sequence polymorphisms to the recognition of viral types. *Curr. Top. Microbiol. Immunol.* 2015; 90(Pt. 1): 119–48. https://doi.org/10.1007/978-3-319-22822-8_7
- 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>
- 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. doi: 10.1128/JVI.61.5.1310-1317.1987
- Coleman C.B., Wohlford E.M., Smith N.A., King C.A., Ritchie J.A., Baresel P.C., et al. Epstein-Barr virus type 2 latently infects T cells, inducing an atypical activation characterized by expression of lymphotactic cytokines. *J. Virol.* 2015; 89(4): 2301–12. <https://doi.org/10.1128/JVI.03001-14>
- Young L.S., Yao Q.Y., Rooney C.M., Sculley T.B., Moss D.J., Rupani H., et al. New type B isolates of Epstein-Barr virus from Burkitt's lymphoma and from normal individuals in endemic areas. *J. Gen. Virol.* 1987; 68(Pt. 11): 2853–62. <https://doi.org/10.1099/0022-1317-68-11-2853>
- Coleman C.B., Lang J., Sweet L.A., Smith N.A., Freed B.M., Pan Z., et al. Epstein-Barr virus type 2 infects T cells and induces B cell lymphomagenesis in humanized mice. *J. Virol.* 2018; 92(21): e00813-18. <https://doi.org/10.1128/JVI.00813-18>
- 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>
- Klumb C.E., Hassan R., De Oliveira D.E., De Resende L.M., Carriço M.K., de Almeida Dobbin J., et al. Geographic variation in Epstein-Barr virus-associated Burkitt's lymphoma in children from Brazil. *Int. J. Cancer.* 2004; 108(1): 66–70. <https://doi.org/10.1002/ijc.11443>
- Wu S.J., Lay J.D., Chen C.L., Chen J.Y., Liu M.Y., Su I.J. Genomic analysis of Epstein-Barr virus in nasal and peripheral T-cell lymphoma: a comparison with nasopharyngeal carcinoma in an endemic area. *J. Med. Virol.* 1996; 50(4): 314–21. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1096-9071\(199612\)50:4<314::AID-JMV6>3.0.CO;2-B](https://doi.org/10.1002/(SICI)1096-9071(199612)50:4<314::AID-JMV6>3.0.CO;2-B)
- Gledhill S., Gallagher A., Jones D.B., Krajewski A.S., Alexander F.E., Klee E., et al. Viral involvement in Hodgkin's disease: detection of clonal type A Epstein-Barr virus genomes in tumour samples. *Br. J. Cancer.* 1991; 64(2): 227–32. <https://doi.org/10.1038/bjc.1991.281>

28. Boyle M.J., Sewell W.A., Sculley T.B., Apolloni A., Turner J.J., Swanson C.E., et al. Subtypes of Epstein-Barr virus in human immunodeficiency virus-associated non-Hodgkin lymphoma. *Blood*. 1991; 78(11): 3004–11.
29. Смирнова К.В., Сеньюта Н.Б., Ботезату И.В., Душенькина Т.Е., Лубенская А.К., Фроловская А.А. и др. Вирус Эпштейна–Барр у этнических татар: инфицированность и сиквенсные варианты онкогена LMP1. *Успехи молекулярной онкологии*. 2018; 5(3): 65–74. <https://doi.org/10.17650/2313-805X-2018-5-3-65-74> <https://elibrary.ru/vloxpu>
30. Гурцевич В.Э., Лубенская А.К., Сеньюта Н.Б., Душенькина Т.Е., Смирнова К.В. Вирус Эпштейна–Барр (Herpesviridae: Gammaherpesvirinae: Lymphocryptovirus: Human gammaherpesvirus 4) у калмыков и славян, проживающих на территории России: типы вируса, варианты онкогена LMP1 и злокачественные опухоли. *Вопросы вирусологии*. 2022; 67(3): 246–57. <https://doi.org/10.36233/0507-4088-120> <https://elibrary.ru/rhfij>
31. Смирнова К.В., Сеньюта Н.Б., Лубенская А.К., Ботезату И.В., Душенькина Т.Е., Лихтенштейн А.В. и др. Вирус Эпштейна–Барр у адыгейцев и славян в России: типы вируса, варианты LMP1 и злокачественные новообразования. *Успехи молекулярной онкологии*. 2022; 9(3): 49–59. <https://doi.org/10.17650/2313-805X-2022-9-3-49-59> <https://elibrary.ru/cqausz>
32. Chang C.M., Yu K.J., Mbulaiteye S.M., Hildesheim A., Bhatia K. The extent of genetic diversity of Epstein-Barr virus and its geographic and disease patterns: a need for reappraisal. *Virus Res*. 2009; 143(2): 209–21. <https://doi.org/10.1016/j.virusres.2009.07.005>
33. Hassan R., White L.R., Stefanoff C.G., de Oliveira D.E., Felisbino F.E., Klumb C.E., et al. Epstein-Barr virus (EBV) detection and typing by PCR: a contribution to diagnostic screening of EBV-positive Burkitt's lymphoma. *Diagn. Pathol*. 2006; 1: 17. <https://doi.org/10.1186/1746-1596-1-17>
34. Salahuddin S., Khan J., Azhar J., Whitehurst B., Qadri I., Shackelford J., et al. Prevalence of Epstein-Barr virus genotypes in Pakistani lymphoma patients. *Asian Pac. J. Cancer Prev*. 2018; 19(11): 3153–9. <https://doi.org/10.31557/APJCP.2018.19.11.3153>
35. Gurtsevitch V.E., Senyuta N.B., Ignatova A.V., Lomaya M.V., Kondratova V.N., Pavlovskaya A.I., et al. Epstein-Barr virus biomarkers for nasopharyngeal carcinoma in non-endemic regions. *J. Gen. Virol*. 2017; 98(8): 2118–27. <https://doi.org/10.1099/jgv.0.000889>
36. Gurtsevitch V., Ruiz R., Stepina V., Plachov I., Le Riverend E., Glazkova T., et al. Epstein-Barr viral serology in nasopharyngeal carcinoma patients in the USSR and Cuba, and its value for differential diagnosis of the disease. *Int. J. Cancer*. 1986; 37(3): 375–81. <https://doi.org/10.1002/ijc.2910370308>
37. Tsai M.H., Raykova A., Klinke O., Bernhardt K., Gartner K., Leung C.S., et al. Spontaneous lytic replication and epitheliotropism define an Epstein-Barr virus strain found in carcinomas. *Cell Rep*. 2013; 5(2): 458–70. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2013.09.012>
38. Burrows J.M., Bromham L., Woolfit M., Piganeau G., Tellam J., Connolly G., 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. <https://doi.org/10.1128/JVI.78.13.7131-7137.2004>
6. Borza C.M., Hutt-Fletcher L.M. Alternate replication in B cells and epithelial cells switches tropism of Epstein-Barr virus. *Nat. Med*. 2002; 8(6): 594–9. <https://doi.org/10.1038/nm0602-594>
7. Hutt-Fletcher L.M. Epstein-Barr virus entry. *J. Virol*. 2007; 81(15): 7825–32. <https://doi.org/10.1128/JVI.00445-07>
8. Tsang C.M., Zhang G., Seto E., Takada K., Deng W., Yip Y.L., et al. Epstein-Barr virus infection in immortalized nasopharyngeal epithelial cells: regulation of infection and phenotypic characterization. *Int. J. Cancer*. 2010; 127(7): 1570–83. <https://doi.org/10.1002/ijc.25173>
9. Tsang C.M., Yip Y.L., Lo K.W., Deng W., To K.F., Hau P.M., et al. Cyclin D1 overexpression supports stable EBV infection in nasopharyngeal epithelial cells. *Proc. Natl Acad. Sci. USA*. 2012; 109(50): E3473–82. <https://doi.org/10.1073/pnas.1202637109>
10. Yip Y.L., Lin W., Deng W., Jia L., Lo K.W., Busson P., et al. Establishment of a nasopharyngeal carcinoma cell line capable of undergoing lytic Epstein-Barr virus reactivation. *Lab. Invest*. 2018; 98(8): 1093–104. <https://doi.org/10.1038/s41374-018-0034-7>
11. Twu C.W., Wang W.Y., Liang W.M., Jan J.S., Jiang R.S., Chao J., et al. Comparison of the prognostic impact of serum anti-EBV antibody and plasma EBV DNA assays in nasopharyngeal carcinoma. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys*. 2007; 67(1): 130–7. <https://doi.org/10.1016/j.ijrobp.2006.07.012>
12. Chiu S.H., Wu C.C., Fang C.Y., Yu S.L., Hsu H.Y., Chow Y.H., et al. Epstein-Barr virus BALF3 mediates genomic instability and progressive malignancy in nasopharyngeal carcinoma. *Oncotarget*. 2014; 5(18): 8583–601. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.2323>
13. 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>
14. Hong G.K., Kumar P., Wang L., Damania B., Gulley M.L., Delecluse H.J., et al. Epstein-Barr virus lytic infection is required for efficient production of the angiogenesis factor vascular endothelial growth factor in lymphoblastoid cell lines. *J. Virol*. 2005; 79(22): 13984–92. <https://doi.org/10.1128/JVI.79.22.13984-13992.2005>
15. Li J.S.Z., Abbasi A., Kim D.H., Lippman S.M., Alexandrov L.B., Cleveland D.W. Chromosomal fragile site breakage by EBV-encoded EBNA1 at clustered repeats. *Nature*. 2023; 616(7957): 504–9. <https://doi.org/10.1038/s41586-023-05923-x>
16. Rowe M., Young L.S., Cadwallader K., Petti L., Kieff E., Rickinson A.B. Distinction between Epstein-Barr virus type A (EBNA 2A) and type B (EBNA 2B) isolates extends to the EBNA 3 family of nuclear proteins. *J. Virol*. 1989; 63(3): 1031–9. <https://doi.org/10.1128/JVI.63.3.1031-1039.1989>
17. 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, EBNA-3B, and EBNA-3C genes. *J. Virol*. 1990; 64(9): 4084–92. <https://doi.org/10.1128/JVI.64.9.4084-4092.1990>
18. Feederle R., Klinke O., Kutikhin A., Poirey R., Tsai M.H., Delecluse H.J. Epstein-Barr virus: from the detection of sequence polymorphisms to the recognition of viral types. *Curr. Top. Microbiol. Immunol*. 2015; 90(Pt. 1): 119–48. https://doi.org/10.1007/978-3-319-22822-8_7
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. 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. doi: 10.1128/JVI.61.5.1310-1317.1987
21. Coleman C.B., Wohlford E.M., Smith N.A., King C.A., Ritchie J.A., Baresel P.C., et al. Epstein-Barr virus type 2 latently infects T cells, inducing an atypical activation characterized by expression of lymphotactic cytokines. *J. Virol*. 2015; 89(4): 2301–12. <https://doi.org/10.1128/JVI.03001-14>
22. Young L.S., Yao Q.Y., Rooney C.M., Sculley T.B., Moss D.J., Rupani H., et al. New type B isolates of Epstein-Barr virus from Burkitt's lymphoma and from normal individuals in endemic areas. *J. Gen. Virol*. 1987; 68(Pt. 11): 2853–62. <https://doi.org/10.1099/0022-1317-68-11-2853>
23. Coleman C.B., Lang J., Sweet L.A., Smith N.A., Freed B.M., Pan Z., et al. Epstein-Barr virus type 2 infects T cells and induces B cell lymphomagenesis in humanized mice. *J. Virol*. 2018; 92(21): e00813-18. <https://doi.org/10.1128/JVI.00813-18>

REFERENCES

1. Higgins C.D., Swerdlow A.J., Macsween K.F., Harrison N., Williams H., McAulay K., et al. A study of risk factors for acquisition of Epstein-Barr virus and its subtypes. *J. Infect. Dis*. 2007; 195(4): 474–82. <https://doi.org/10.1086/510854>
2. Chen C.J., You S.L., Hsu W.L., Yang H.I., Lee M.H., Chen H.C., et al. Epidemiology of virus infection and human cancer. *Recent Results Cancer Res*. 2021; 217: 13–45. https://doi.org/10.1007/978-3-030-57362-1_2
3. Yu M.C., Yuan J.M. Epidemiology of nasopharyngeal carcinoma. *Semin. Cancer Biol*. 2002; 12(6): 421–9. <https://doi.org/10.1016/s1044579x02000858>
4. Lo K.W., To K.F., Huang D.P. Focus on nasopharyngeal carcinoma. *Cancer Cell*. 2004; 5(5): 423–8. [https://doi.org/10.1016/s1535-6108\(04\)00119-9](https://doi.org/10.1016/s1535-6108(04)00119-9)
5. Wei W.I., Kwong D.L. Current management strategy of nasopharyngeal carcinoma. *Clin. Exp. Otorhinolaryngol*. 2010; 3(1): 1–12. <https://doi.org/10.3342/ceo.2010.3.1.1>

24. 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>
25. Klumb C.E., Hassan R., De Oliveira D.E., De Resende L.M., Carriço M.K., de Almeida Dobbin J., et al. Geographic variation in Epstein-Barr virus-associated Burkitt's lymphoma in children from Brazil. *Int. J. Cancer.* 2004; 108(1): 66–70. <https://doi.org/10.1002/ijc.11443>
26. Wu S.J., Lay J.D., Chen C.L., Chen J.Y., Liu M.Y., Su I.J. Genomic analysis of Epstein-Barr virus in nasal and peripheral T-cell lymphoma: a comparison with nasopharyngeal carcinoma in an endemic area. *J. Med. Virol.* 1996; 50(4): 314–21. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1096-9071\(199612\)50:4<314::AID-JMV6>3.0.CO;2-B](https://doi.org/10.1002/(SICI)1096-9071(199612)50:4<314::AID-JMV6>3.0.CO;2-B)
27. Gledhill S., Gallagher A., Jones D.B., Krajewski A.S., Alexander F.E., Klee E., et al. Viral involvement in Hodgkin's disease: detection of clonal type A Epstein-Barr virus genomes in tumour samples. *Br. J. Cancer.* 1991; 64(2): 227–32. <https://doi.org/10.1038/bjc.1991.281>
28. Boyle M.J., Sewell W.A., Sculley T.B., Apolloni A., Turner J.J., Swanson C.E., et al. Subtypes of Epstein-Barr virus in human immunodeficiency virus-associated non-Hodgkin lymphoma. *Blood.* 1991; 78(11): 3004–11.
29. Smirnova K.V., Senyuta N.B., Botezatu I.V., Dushen'kina T.E., Lubenskaya A.K., Frolovskaya A.A., et al. Epstein-Barr virus in the ethnic Tatars population: the infection and sequence variants of LMP1 oncogene. *Uspekhi molekulyarnoy onkologii.* 2018; 5(3): 65–74. <https://doi.org/10.17650/2313-805X-2018-5-3-65-74> <https://elibrary.ru/vloxpu> (in Russian)
30. Gurtsevich V.E., Lubenskaya A.K., Senyuta N.B., Dushen'kina T.E., Smirnova K.V. Epstein-Barr virus (Herpesviridae: Gammaherpesvirinae: Lymphocryptovirus: Human gammaherpesvirus 4) in Kalmyks and Slavs living in Russia: virus types, LMP1 oncogene variants, and malignancies. *Voprosy virusologii.* 2022; 67(3): 246–57. <https://doi.org/10.36233/0507-4088-120> <https://elibrary.ru/rhfijj> (in Russian)
31. Smirnova K.V., Senyuta N.B., Lubenskaya A.K., Botezatu I.V., Dushen'kina T.E., Likhtenshteyn A.V., et al. Epstein-Barr virus in Adygeans and Slavs in Russia: virus types, LMP1 variants, and malignant tumors. *Uspekhi molekulyarnoy onkologii.* 2022; 9(3): 49–59. <https://doi.org/10.17650/2313-805X-2022-9-3-49-59> <https://elibrary.ru/cqausz> (in Russian)
32. Chang C.M., Yu K.J., Mbulaiteye S.M., Hildesheim A., Bhatia K. The extent of genetic diversity of Epstein-Barr virus and its geographic and disease patterns: a need for reappraisal. *Virus Res.* 2009; 143(2): 209–21. <https://doi.org/10.1016/j.virusres.2009.07.005>
33. Hassan R., White L.R., Stefanoff C.G., de Oliveira D.E., Felisbino F.E., Klumb C.E., et al. Epstein-Barr virus (EBV) detection and typing by PCR: a contribution to diagnostic screening of EBV-positive Burkitt's lymphoma. *Diagn. Pathol.* 2006; 1: 17. <https://doi.org/10.1186/1746-1596-1-17>
34. Salahuddin S., Khan J., Azhar J., Whitehurst B., Qadri I., Shackelford J., et al. Prevalence of Epstein-Barr virus genotypes in Pakistani lymphoma patients. *Asian Pac. J. Cancer Prev.* 2018; 19(11): 3153–9. <https://doi.org/10.31557/APJCP.2018.19.11.3153>
35. Gurtsevitch V.E., Senyuta N.B., Ignatova A.V., Lomaya M.V., Kondratova V.N., Pavlovskaya A.I., et al. Epstein-Barr virus biomarkers for nasopharyngeal carcinoma in non-endemic regions. *J. Gen. Virol.* 2017; 98(8): 2118–27. <https://doi.org/10.1099/jgv.0.000889>
36. Gurtsevitch V., Ruiz R., Stepina V., Plachov I., Le Riverend E., Glazkova T., et al. Epstein-Barr viral serology in nasopharyngeal carcinoma patients in the USSR and Cuba, and its value for differential diagnosis of the disease. *Int. J. Cancer.* 1986; 37(3): 375–81. <https://doi.org/10.1002/ijc.2910370308>
37. Tsai M.H., Raykova A., Klinke O., Bernhardt K., Gartner K., Leung C.S., et al. Spontaneous lytic replication and epitheliotropism define an Epstein-Barr virus strain found in carcinomas. *Cell Rep.* 2013; 5(2): 458–70. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2013.09.012>
38. Burrows J.M., Bromham L., Woolfit M., Piganeau G., Tellam J., Connolly G., 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. <https://doi.org/10.1128/JVI.78.13.7131-7137.2004>