

ОРИГИНАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ

DOI: <https://doi.org/10.36233/0507-4088-214>

© ГУРЦЕВИЧ В.Э., ЛУБЕНСКАЯ А.К., СЕНЮТА Н.Б., СМИРНОВА К.В., 2024



Вирус Эпштейна–Барр (Orthoherpesviridae: *Lymphocryptovirus*) у этносов России: распространенность типов ВЭБ (ВЭБ-1 и ВЭБ-2), варианты гена *LMP1* и злокачественные опухоли

Гурцевич В.Э.¹✉, Лубенская А.К.¹, Сенюта Н.Б.¹, Смирнова К.В.¹⁻³¹НИИ канцерогенеза ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, 115478, г. Москва, Россия;²ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов», 117198, г. Москва, Россия;³ФГАОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова» Минздрава России, 117997, г. Москва, Россия

Резюме

Введение. Открытие двух типов вируса Эпштейна–Барр (ВЭБ) – ВЭБ-1 и ВЭБ-2 – стимулировало изучение их распространенности в популяциях и связи со злокачественными опухолями.

Цель исследования. Изучить персистенцию ВЭБ-1 и ВЭБ-2 среди этносов России, проанализировать ПЦР-продукты гена *LMP1* в изолятах вируса и оценить вклад типов ВЭБ в заболеваемость злокачественными новообразованиями.

Материалы и методы. Изоляты ВЭБ, амплифицированные из смывов ротовой полости представителей республик Адыгея, Калмыкия, Татарстан и Московской области (МО), изучали методом гнездовой ПЦР на принадлежность к ВЭБ-1 и ВЭБ-2. Ампликоны *LMP1*, полученные с помощью ПЦР в реальном времени из ДНК вирусных изолятов, подвергали классификации и секвенированию на автоматическом секвенаторе ДНК ABI PRISM 3100-Avant (США), а результаты секвенирования анализировали с помощью программ Chromas 230 и Vector NT (Invitrogen, США). Достоверность полученных данных оценивали с помощью статистических пакетов Statistica for Windows 10.0.

Результаты. Показатели распространенности ВЭБ-1 и ВЭБ-2 у представителей четырех этносов сравнивали с уровнями заболеваемости некоторыми опухолями у населения трех республик и МО. Доминирующая персистенция трансформирующего *in vitro* ВЭБ-1 у представителей Татарстана и МО коррелировала среди населения этих территорий с высокой заболеваемостью раком желудка и лимфомами. Напротив, преобладающее инфицирование не трансформирующим *in vitro* ВЭБ-2 представителей Адыгеи и обоими типами вируса примерно у одинакового процента представителей Калмыкии коррелировало с более низкой заболеваемостью вышеуказанными опухолями населения этих республик. Различия между показателями заболеваемости указанными новообразованиями в сравниваемых этнических популяциях были статистически недостоверными ($p > 0,05$). Обнаруженные варианты *LMP1* не отражали ни уровень персистенции типов ВЭБ, ни частоту возникновения опухолей.

Заключение. Инфицированность этносов ВЭБ-1 и ВЭБ-2 может существенно различаться под влиянием разных факторов. Преобладание в популяции трансформирующего *in vitro* ВЭБ-1 не увеличивает заболеваемость опухолями за счет случаев, ассоциированных с доминирующим типом вируса.

Ключевые слова: вирус Эпштейна–Барр (ВЭБ); типы ВЭБ (ВЭБ-1 и ВЭБ-2); латентный мембранный белок 1 (*LMP1*); секвенный анализ; адыгейцы; калмыки; татары; славяне; ПЦР в реальном времени; злокачественные опухоли

Для цитирования: Гурцевич В.Э., Лубенская А.К., Сенюта Н.Б., Смирнова К.В. Вирус Эпштейна–Барр (Orthoherpesviridae: *Lymphocryptovirus*) у этносов России: распространенность типов ВЭБ (ВЭБ-1 и ВЭБ-2), варианты гена *LMP1* и злокачественные опухоли. *Вопросы вирусологии*. 2024; 69(1): 56–64. DOI: <https://doi.org/10.36233/0507-4088-214> EDN: <https://elibrary.ru/fibzll>

Финансирование. Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда (проект № 23-25-00435).

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

Этическое утверждение. Исследование проводилось при добровольном информированном согласии пациентов. Протокол исследования одобрен Этическим комитетом ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России (Протокол № 512 от 10.11.2021).

ORIGINAL STUDY ARTICLE

DOI: <https://doi.org/10.36233/0507-4088-214>

Epstein–Barr virus (Orthoherpesviridae: *Lymphocryptovirus*) among Russian ethnic groups: Prevalence of EBV types (EBV-1 and EBV-2), *LMP1* gene variants and malignancies

Vladimir E. Gurtsevitch¹✉, Alexandra K. Lubenskaya¹, Natalia B. Senyuta¹,
Ksenia V. Smirnova^{1–3}

¹Research Institute of Carcinogenesis, N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology, Ministry of Health of Russia; 115478, Moscow, Russia;

²The Peoples' Friendship University of Russia (RUDN University); 117998, Moscow, Russia;

³Pirogov Russian National Research Medical University (Pirogov Medical University), 117997, Moscow, Russia

Abstract

Introduction. The discovery of two EBV types (EBV-1 and EBV-2) has stimulated the study of their prevalence in populations and association with malignancies.

Objective. To study the prevalence of EBV-1 and EBV-2 types among ethnic groups in Russia, to analyze PCR products of the *LMP1* gene in virus isolates, and to evaluate the contribution of EBV types to the incidence of malignant neoplasms.

Materials and methods. EBV isolates from oral lavages of the Republics Adygea, Kalmykia, Tatarstan and the Moscow Region (MR) representatives were studied by nested PCR for the belonging to EBV-1 and EBV-2 types. *LMP1* amplicons obtained by real-time PCR from viral isolates DNA were classified and sequenced on an automatic DNA sequencer ABI PRISM 3100-Avant (USA). The sequencing results were analyzed using Chromas 230 and Vector NT programs (Invitrogen, USA). The reliability of the obtained data was assessed using statistical packages Statistica for Windows, 10.0.

Results. The prevalence rates of EBV-1 and EBV-2 in representatives of four ethnic groups were compared with the incidence rates of some tumors in the population of three Republics and MR.

The dominant persistence of the transforming *in vitro* EBV-1 type in representatives of the Republic of Tatarstan and MR correlated with a high incidence of gastric cancer and lymphomas in the population of these territories. On the contrary, predominant infection of the non-transforming *in vitro* EBV-2 type and both types of the virus in approximately the same percentage of representatives of Adygea and Kalmykia, respectively, correlated with a lower level incidence of above tumors in populations of these Republics. The differences between the incidence rates of neoplasms in the compared ethnic populations were statistically insignificant ($p > 0.05$). *LMP1* variants of viral isolates did not reflect either the level of EBV persistence types or the incidence of tumors.

Conclusion. Infection of ethnic groups with EBV-1 and EBV-2 may vary significantly under the influence of various factors. The predominance of the *in vitro* transforming EBV-1 type in the population did not increase the incidence of tumors due to cases associated with the dominant virus type.

Keywords: Epstein-Barr virus (EBV); EBV-1 and EBV-2 types; latent membrane protein 1 (*LMP1*); sequence analysis; Adygeians; Kalmyks; Tatars; Slavs; real-time PCR; malignant tumors

For citation: Gurtsevitch V.E., Lubenskaya A.K., Senyuta N.B., Smirnova K.V. Epstein-Barr virus (Orthoherpesviridae: *Lymphocryptovirus*) among Russian ethnic groups: Prevalence of EBV types (EBV-1 and EBV-2), *LMP1* gene variants and malignancies. *Problems of Virology (Voprosy Virusologii)*. 2024; 69(1): 56–64. DOI: <https://doi.org/10.36233/0507-4088-214> EDN: <https://elibrary.ru/fibzll>

Financing. Russian Scientific Foundation (RSF), project No. 23-25-00435, supported the research.

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

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, Ministry of Health of Russia (Protocol No. 512 of November 10, 2021).

Введение

Эпидемиологические данные позволяют предположить, что в мире с вирусом Эпштейна–Барр (ВЭБ) связано возникновение около 200 тыс. опухолей в год [1]. При этом биологическая особенность ВЭБ заключается в его способности индуцировать неоплазии различного клеточного происхождения, в то время как опухоли, вызываемые другими онкогенными вирусами, возникают только в клетках их тканей-мишеней. С другой стороны, известно, что ВЭБ инфицировано более 90% населения планеты, однако его присутствие в организме человека не является обязательным условием возникновения опухоли. Для реализации онкогенных потенциалов вируса необходимы дополнительные условия: как общие, так и отличающиеся для разных типов опухолей.

В частности, доказано, что риск возникновения эндемичной лимфомы Беркитта в странах Экваториальной Африки связан с высокой нагрузкой ВЭБ-инфекции у детей при рождении в сочетании с заражением малярийным плазмодием, оказывающим мутагенное действие на В-клетки [2]. Кроме того, риску развития рака носоглотки (РНГ) способствуют интенсивное заражение в младенчестве ВЭБ и особенности питания с первых лет жизни ребенка, характерные для культуры Южного Китая, – кормление детей соленой рыбой, богатой преканцерогенами (нитрозаминами) [3]. Нарушение иммунитета, изменяющего баланс между вирусом и хозяином в пользу вируса, также является важной предпосылкой для возникновения обоих типов опухолей.

В возникновении некоторых опухолей, например, РНГ, определенную роль играет и генетический фактор. Случаи так называемого «семейного» рака встречаются примерно в 10% случаев среди населения эндемичных по РНГ южных провинций Китая [4]. Несколько аллельных детерминант чувствительности, наиболее тесно связанных с областью HLA класса I, обнаружены также у больных РНГ вне эндемичных регионов [5].

С открытием двух типов ВЭБ (ВЭБ-1 и ВЭБ-2), различающихся генами, кодирующими ядерные антигены (EBNA-2, 3A, 3B, 3C), и биологическими свойствами, стали проводить исследования, цель которых состояла в выяснении роли каждого типа вируса в ВЭБ-ассоциированном канцерогенезе. Эти исследования базировались на фактах, согласно которым ВЭБ-1, в отличие от ВЭБ-2, способен трансформировать В-лимфоциты *in vitro* [6], и на результатах экспериментальных исследований, показавших более медленный рост лимфобластоидных клеточных линий, инфицированных ВЭБ-2, по сравнению с ВЭБ-1. Оказалось, однако, что оба типа вируса способны вызывать В-клеточные лимфомы у мышей линии СВН [7].

Отличаются оба типа вируса и по степени распространенности среди разных групп населения. В частности, показано, что население европеоидной расы характеризуется инфицированием преимущественно 1-м типом вируса (~74%), у здоровых лиц азиат-

ского происхождения отмечено еще большее его преобладание (~85%) [8, 9]. Имеются также данные, указывающие на достаточно широкое распространение ВЭБ-2 среди отдельных групп населения, например лиц, бессимптомно инфицированных ВИЧ (50%) [10], больных с прогрессирующей формой ВИЧ-инфекции (62%), больных СПИДом с неходжкинской лимфомой (53%), и даже среди доноров в некоторых штатах Америки (50%) [11]. Однако вопрос о том, являются ли ВЭБ-1 и ВЭБ-2 опухоль-специфическими, остается пока без ответа.

Поиски опухоль-специфических штаммов ВЭБ велись и на базе генетического разнообразия генов латентного мембранного белка 1 (latent membrane protein 1, LMP1) – *LMP1*, отнесенных по общепризнанной классификации R. Edwards и соавт. к 7 разным вариантам вне зависимости от типа вируса [12]. В частности, было обнаружено, что почти все изоляты ВЭБ китайского происхождения, относящиеся к 1-му типу, содержат делецию 30 п.н. с характерными аминокислотными заменами в его белковом варианте – *LMP1* [13]. В популяциях из других географических регионов, таких как Япония, делеция 30 п.н., обнаруживаемая в *LMP1*, была связана преимущественно с вирусом 2-го типа. [14]. Важно отметить, что большинство молекулярных полиморфизмов, обнаруженных в изолятах ВЭБ от здоровых вирусоносителей, с одинаковой частотой обнаруживались и в вирус-ассоциированных опухолях пациентов из того же географического региона. [15].

Возникает вопрос, могут ли типы ВЭБ и/или варианты *LMP1* вируса влиять на заболеваемость определенными формами опухолей или частота последних определяется главным образом генетическими особенностями популяции и/или другими факторами. В связи с этим было бы важно изучить молекулярный профиль, а также опухоль-индуцирующие свойства изолятов ВЭБ среди разных этносов, представляющих генетически различающиеся группы населения и подвергающиеся воздействию различных факторов окружающей среды.

На основании вышеизложенного **целью** настоящего исследования был анализ распространенности типов ВЭБ и вариантов *LMP1* у представителей четырех генетически отличающихся этносов (адыгейцев, калмыков, татар и славян) – жителей разных климатических зон и географических территорий России со своим национальным бытом и культурой. Важно было также выяснить, существует ли корреляция между доминированием одного из типов ВЭБ и вариантов *LMP1* и частотой возникновения злокачественных опухолей.

Материалы и методы

Объекты исследования

Изучены смывы полости рта у представителей четырех этносов (адыгейцев, калмыков, татар и славян) – жителей трех республик Российской Федерации и Московской области (МО) соответственно.

Таблица 1. Характеристика представителей этносов, участвовавших в исследовании**Table 1.** Characteristics of ethnic group representatives involved in the study

Представители этносов Representatives of ethnic groups	Религия Religion	Географический регион Geographical region	Число обследованных лиц Number of investigated persons	Гендерное соотношение: М/Ж Gender ratio: M/F	Средний возраст, лет Average age, years
Адыгейцы Adygeans	Ислам Islam	г. Майкоп, Республика Адыгея Maykop town, Republic of Adygea	59	24/34	41,4
Калмыки Kalmyks	Буддизм Buddhism	г. Элиста, Республика Калмыкия Elista town, Republic of Kalmykia	50	19/31	21,4
Татары Tatars	Ислам Islam	г. Казань, Республика Татарстан Kazan city, Republic of Tatarstan	60	15/45	21,5
Славяне Slavs	Православие Orthodoxy	Московская область, районы Small towns, Moscow region	40	21/19	47,5

Подробная характеристика лиц, принявших участие в исследовании, представлена в **табл. 1**. Все участники были практически здоровыми людьми и представителями вышеуказанных этнических групп не менее чем в трех поколениях. Каждый смыв представлял собой клеточную суспензию, полученную индивидуально после полоскания рта в течение 30 с 15 мл стерильного физиологического раствора. Пробы смывов, собранные в герметично закрытые пластиковые пробирки, хранили при температуре +4 °С не более 2 сут до исследования. Информированное согласие было получено от всех обследованных лиц. Протокол исследования одобрен Этическим комитетом ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России (Протокол № 512 от 10.11.2021).

Экстракция ДНК и амплификация гена *LMP1*

Из собранных после центрифугирования клеток смывов полости рта выделяли тотальную ДНК методом фенол-хлороформной депротеинизации. Наличие и концентрацию ДНК ВЭБ, амплифицированную из образцов тотальной ДНК, анализировали методом полимеразной цепной реакции в реальном времени (ПЦР-РВ), описанным нами ранее [16]. Амплификацию гена *LMP1* из вирусной ДНК проводили в два этапа с внешними и внутренними праймерами по ранее принятой нами методике [17]. Каждый ПЦР-продукт очищали на мини-колонке QIAGEN (QIAquick PCR Purification kit, cat. 28104, Германия) согласно инструкции производителя. Для реакции использовали примерно 100–200 нг ПЦР-продукта, а концентрацию ДНК оценивали визуально в агарозном геле. В качестве положительного контроля применяли ДНК, выделенную из линии В95-8, а в качестве отрицательного контроля – воду.

Типирование ВЭБ методом гнездовой ПЦР гена *EBNA-2*

Типирование изолятов ВЭБ на 1-й и 2-й типы (ВЭБ-1 и ВЭБ-2) проводили с помощью гнездовой ПЦР, следуя описанному ранее методу [18] с незначительными модификациями. Используемые праймеры продемонстрировали высокую специфичность и отсут-

ствие перекрестной реактивности с геномом человека и другими вирусами или микроорганизмами [19].

Секвенирование ПЦР-продуктов *LMP1*

Ампликоны *LMP1* секвенировали в обоих направлениях. Секвенирование проводили с помощью набора реактивов ABI PRISM BigDye Terminator v. 3.1 (США) с последующим анализом продуктов реакции на автоматическом секвенаторе ДНК ABI PRISM 3100-Avant (США). Обработку данных секвенирования выполняли с помощью программ Chromas 230 и Vector NT (Invitrogen, США).

Классификация *LMP1*

Нуклеотидные последовательности образцов *LMP1*, амплифицированные из ВЭБ-изолятов, полученных из смывов полости рта, были транслированы в *LMP1*-аминокислотные последовательности и подверглись анализу с помощью принятой в литературе классификации R. Edwards и соавт. [12].

Статистический анализ

Количество копий ВЭБ-1 и ВЭБ-2 в смывах полости рта лиц исследуемых групп оценивали с помощью U-теста Манна–Уитни. С помощью точного теста Фишера (Fisher's exact test) рассчитывали значение *p* при сравнении числа лиц, инфицированных ВЭБ 1-го или 2-го типов; различия считали статистически значимыми при *p* ≤ 0,05. Вычисления проводили с помощью статистических пакетов Statistica for Windows 10.0.

Результаты

Типы ВЭБ

Образцы ВЭБ, амплифицированные из клеточных суспензий смывов полости рта представителей четырех этнических групп, были протестированы на типы вируса ВЭБ – ВЭБ-1 и ВЭБ-2. Полученные результаты свидетельствовали о том, что в группе славян и татар доминирует ВЭБ-1 (81%, 30/37 и 83%, 43/52 соответственно), а в группе адыгейцев – ВЭБ-2 (81%; 48/59) (**рис. 1**). Представители калмыков были инфицирова-

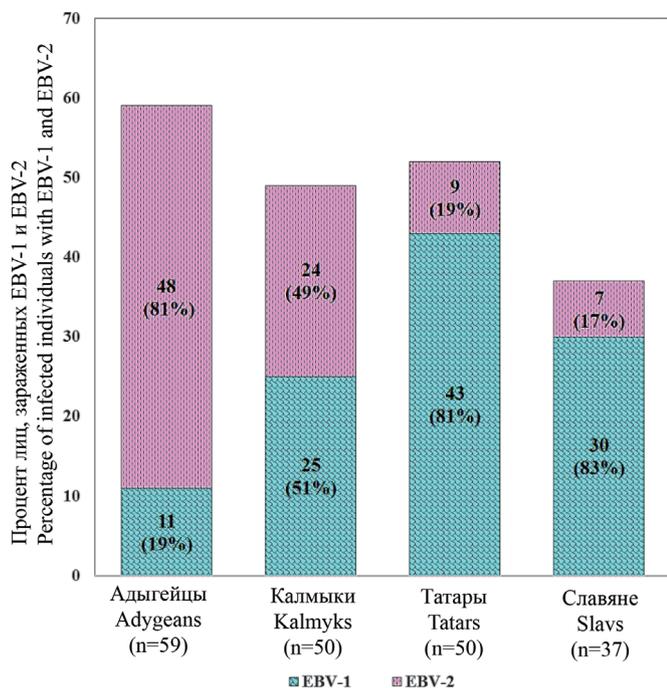


Рис. 1. Соотношение ВЭБ-1 и ВЭБ-2 в смывах полости рта представителей четырех этносов: адыгейцев, калмыков, татар и славян.

Fig. 1. The ratio of EBV-1 and EBV-2 in oral lavages of four ethnic groups' representatives: Adygeans, Kalmyks, Tatars and Slavs.

ны обоими типами вируса примерно в равном соотношении (51%, 25/49 с 1-м типом и 49%, 24/49 с 2-м типом). По одному случаю одновременного заражения обоими типами вируса обнаружено в группах калмыков, славян и татар.

Полиморфизм образцов гена LMP1 ВЭБ

Нуклеотидные последовательности гена *LMP1* были транслированы в аминокислотные со последующим определением варианта для каждого образца *LMP1* с помощью классификации R. Edwards и соавт. [12]. Обнаруженные варианты *LMP1*, а также результаты их секвенирования представлены в **табл. 2**. Из таблицы следует, что низко трансформирующий *in vitro* вариант *LMP1*-95.8 был характерен для 100% вирусных изолятов адыгейцев. Этот вариант *LMP1* был также широко представлен среди вирусных изолятов калмыков и славян (75,9 и 82,5% соответственно) и в меньшей степени – среди татар (34,1%). Вариант *LMP1*-China-1, аналог высоко трансформирующего *in vitro* китайского варианта *LMP1*-Сао, был идентифицирован в вирусных изолятах калмыков (17,2%), славян (7,5%) и татар (9,8%). Вариант *LMP1*-Med – в вирусных изолятах представителей вышеуказанных этносов встречался в 3,4, 2,5 и 14,6% случаев соответственно, а вариант *LMP1*-NC – только у представителей калмыков (3,4%) и славян (7,5%).

По классификации R. Edwards и соавт. [12] у представителей татар из 41 образца *LMP1* его белковые

варианты *LMP1* были идентифицированы в 24 случаях. Остальные 17 (41,5%) образцов не могли быть интерпретированы с помощью этой классификации, что позволило нам обозначить их в качестве образцов «вне классификации» (ВК). Среди 17 неидентифицированных образцов *LMP1* 8 образцов характеризовались совокупным содержанием делеций 5 аа в кодонах 312–316 и 382–386, не характерных ни для одного из известных нам вариантов *LMP1*. Эта группа, принадлежащая этническим татарам и обозначенная нами как *LMP1*-ТатК (Татарстан-Казань), по-видимому, заслуживает дальнейшего изучения.

Секвенирование всех полученных образцов *LMP1* выявило наличие важных ключевых мутаций в С-концевой области транс-активирующих доменов. В частности, в домене STAR1 образцов *LMP1*, принадлежащих представителям адыгейцев, калмыков и татар, мутация кодона 229 (S→T) выявлена в 6,9, 6,9 и 19,5% случаев соответственно. В домене STAR2 образцы *LMP1* представителей всех четырех этносов содержали мутации в кодоне 366 (S→A/T) в диапазоне от 3,4 до 53,6% случаев. В домене STAR3 образцы *LMP1*, полученные от представителей вышеуказанных этносов, содержали мутацию кодона 309 (S→T/N) с частотой от 4,9 до 16,9% случаев. В этом же домене у представителей калмыков, татар и славян мутация (Q→N/E/T) в кодоне 322 обнаружена в 24,1, 22,0 и 17,5% случаев соответственно, а мутация в кодоне 328 (E→Q) выявлена только у представителей славян в 30% (4/12) случаев. На основании результатов секвенирования образцов *LMP1* от представителей адыгейцев, калмыков и татар можно сделать вывод о генетическом родстве штаммов ВЭБ, циркулирующих среди этих этносов. Штаммы ВЭБ славянского происхождения, хотя и характеризуются отсутствием мутаций в домене STAR1 и повышенным количеством мутаций в доменах STAR2 и STAR3, с учетом остальных обнаруженных мутаций могут также считаться генетически близкими к штаммам ВЭБ, циркулирующим у остальных представителей изучаемых этносов.

Типы ВЭБ и злокачественные опухоли

С целью выяснить, влияет ли каждый из типов ВЭБ на заболеваемость злокачественными опухолями, различные показатели распространенности ВЭБ-1 и ВЭБ-2 у представителей адыгейцев, калмыков, татар и славян сравнивали с показателями заболеваемости некоторыми злокачественными новообразованиями среди населения трех национальных республик и МО. Была проанализирована заболеваемость опухолями желудка, полости рта и крови, в которых встречаются соответствующие ВЭБ-ассоциированные новообразования, такие как аденокарцинома желудка, рак миндалин и РНГ, лимфома Ходжкина и неходжкинские лимфомы. Результаты анализа представлены на **рис. 2**. Согласно стандартизированным показателям (на 100 тыс. населения), заболеваемость опухолью полости рта и глотки среди населения трех республик и МО была низкой и колебалась от 7 до 36 [20].

Таблица 2. Полиморфизм LMP1 в изолятах ВЭБ из смывов полости рта представителей четырех этносов

Table 2. LMP1 polymorphism in EBV isolates from oral lavages of four ethnic groups representatives

Этническая группа (количество промываний полости рта) Investigated ethnic groups (number of oral lavages)	Число ампли- фицированных образцов LMP1 Number of amplified LMP1 samples	Варианты LMP1 по классификации R. Edwards и соавт. [12] LMP1 variants by classification of Edwards et al. [12]					Мутации в STAR-областях гена LMP1 Mutations in STAR regions of the LMP1 gene		
		B95.8	China-1	Med-	NC	БК* ОС*	STAR 1 191-232	STAR 2 351-386	STAR 3 275-330
Адыгейцы Adygeans (n = 59)	29/59 (49,2%)	29/29 (100%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	–	S229T 2/29 (6,9%)	S366T 1/29 (3,4%)	S309T/N 2/29 (6,9%)
Калмыки Kalmyks (n = 50)	29/50 (58,0%)	22/29 (75,9%)	5/29 (17,2%)	1/29 (3,4%)	1/29 (3,4%)	–	S229T 2/29 (6,9%)	S366A/T 6/29 (20,7%)	S309N; 8/29 (16,9%) Q322E/T 7/29 (24,1%)
Славяне Slavs (n = 40)	40/40 (100%)	33/40 (82,5%)	3/40 (7,5%)	1/40 (2,5%)	3/40 (7,5%)	–	S229T 8/41 (19,5%)	S366A/T 22/41 (53,6%)	S309N; 2/41(4,9%) Q322N/E; 9/41(22,0%)
Татары Tatars (n = 60)	41/60 (68,3%)	14/41 (34,1%)	4/41 (9,8%)	6/41 (14,6%)	0 (0%)	17/41 (41,5%)	0 (0%)	S366/T 19/40 (47,5%) L338S 7/40 (17,5%)	S309N; 4/40 (10,0%) Q322N/E/T 7/40 (17,5%) E328Q; 4/12 (30,0%)

Примечание. *БК – вне классификации.

Note. *OC – out of classification.

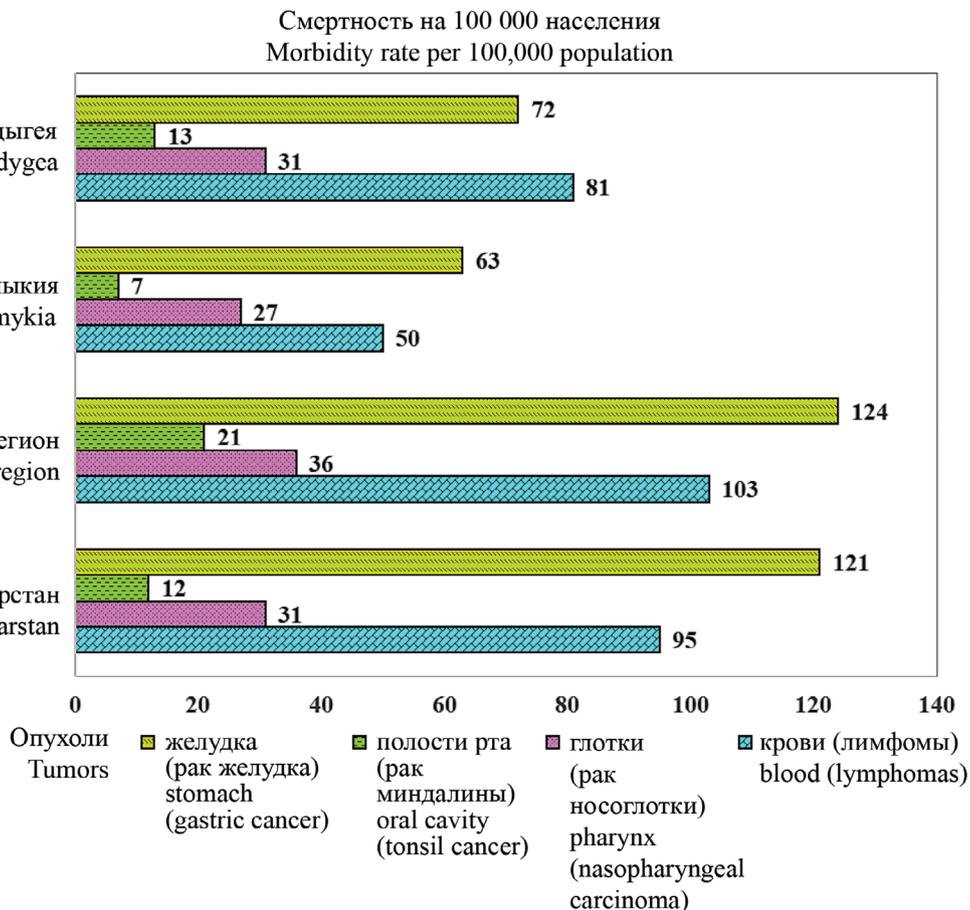


Рис. 2. Показатели заболеваемости опухолями с ВЭБ-ассоциированными случаями среди населения республик Адыгея, Калмыкия, Татарстан и Московской области.

Fig. 2. Incidence rates of malignant neoplasms with EBV-associated cases among the population of the Republics of Adygea, Kalmykia, Tatarstan and the Moscow region.

Заболеемость раком желудка и лимфомами была значительно выше. Значения этих показателей для республики Татарстан (121 и 95 соответственно) и МО (124 и 103 соответственно) коррелировали с доминированием трансформирующего *in vitro* типом вируса (ВЭБ-1) у представителей этих регионов. Напротив, более низкие показатели заболеваемости этими же опухолями, раком желудка и лимфомами, наблюдали у населения Республики Адыгея (72 и 81 соответственно), представители которой были инфицированы преимущественно не трансформирующим типом вируса (ВЭБ-2), и населения Республики Калмыкия (63 и 50 соответственно), представители которой были инфицированы обоими типами вируса примерно в равных соотношениях. Статистический анализ, однако, показал, что различия между показателями заболеваемости лимфомами и раком желудка у населения Республики Татарстан и МО, с одной стороны, и республик Адыгея и Калмыкия, с другой, были статистически недостоверными ($p > 0,05$).

Обсуждение

Нами изучена распространенность ВЭБ-1 и ВЭБ-2 у представителей четырех этносов, генетически отличающихся и обитающих в разных географических и климатических регионах России. Показано, что соотношение лиц, инфицированных ВЭБ-1 и ВЭБ-2, у представителей каждого этноса различно, что, вероятно, связано с генетическими особенностями этносов, и в первую очередь с разнообразием их типов главного комплекса гистосовместимости (МНС). Вероятно, по этой же причине в европеоидной популяции обнаружено доминирование ВЭБ-1, тогда как население некоторых африканских стран чаще инфицировано 2-м типом вируса [21]. Исключить влияние климата и условия быта на распространение типов вируса внутри различных групп населения, по-видимому, также нельзя.

Попытки обнаружить существование опухолевых специфических штаммов ВЭБ предпринимались многими исследователями, но до сих пор были неудачными. В нашей работе доминирование трансформирующего *in vitro* типа ВЭБ-1 среди представителей республики Татарстан и МО коррелировало с более высокой заболеваемостью населения этих территориальных образований раком желудка и лимфомами. Напротив, более низкие уровни заболеваемости этими новообразованиями у населения других республик сочетались с преимущественным распространением нетрансформирующего типа ВЭБ-2 у представителей республики Адыгея и обоих типов вируса в равных соотношениях у представителей Республики Калмыкия. Однако различия между показателями заболеваемости этими опухолями у изучаемых этносов оказались статистически недостоверными ($p > 0,05$). Тем не менее полученные данные представляют интерес и требуют дополнительных исследований. Можно предположить, что для выяснения влияния ВЭБ-инфекции на возникновение злокачественных опухолей важно определить частоту ВЭБ-ассоциированных

случаев среди опухолей изучаемой локализации. Установление соотношения опухолей, ассоциированных с трансформирующим и нетрансформирующим типами ВЭБ (ВЭБ-1 и ВЭБ-2), также могло бы внести важный вклад в изучение канцерогенеза, ассоциированного с ВЭБ.

ЛИТЕРАТУРА

1. Shannon-Lowe C., Rickinson A. The global landscape of EBV-associated tumors. *Front. Oncol.* 2019; 9: 713. <https://doi.org/10.3389/fonc.2019.00713>
2. Graham B.S., Lynch D.T. *Burkitt Lymphoma*. In: *StatPearls [Internet]*. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2023.
3. Tsao S.W., Tsang C.M., Lo K.W. Epstein-Barr virus infection and nasopharyngeal carcinoma. *Philos. Trans. R. Soc. Lond. B. Biol. Sci.* 2017; 372(1732): 20160270. <https://doi.org/10.1098/rstb.2016.0270>
4. Bei J.X., Zuo X.Y., Liu W.S., Guo Y.M., Zeng Y.X. Genetic susceptibility to the endemic form of NPC. *Chin. Clin. Oncol.* 2016; 5(2): 15. <https://doi.org/10.21037cco.2016.03.11>
5. Su W.H., Hildesheim A., Chang Y.S. Human leukocyte antigens and Epstein-Barr virus-associated nasopharyngeal carcinoma: old associations offer new clues into the role of immunity in infection-associated cancers. *Front. Oncol.* 2013; 3: 299. <https://doi.org/10.3389/fonc.2013.00299>
6. Rickinson A.B., Young L.S., Rowe M. Influence of the Epstein-Barr virus nuclear antigen EBNA 2 on the growth phenotype of virus-transformed B cells. *J. Virol.* 1987; 61(5): 1310–7. <https://doi.org/10.1128/jvi.61.5.1310-1317.1987>
7. Romero-Masters J.C., Huebner S.M., Ohashi M., Bristol J.A., Benner B.E., Barlow E.A., et al. B cells infected with Type 2 Epstein-Barr virus (EBV) have increased NFATc1/NFATc2 activity and enhanced lytic gene expression in comparison to Type 1 EBV infection. *PLoS Pathog.* 2020; 16(2): e1008365. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1008365>
8. Correa R.M., Fellner M.D., Alonzo L.V., Durand K., Teyssié A.R., Picconi M.A. Epstein-Barr virus (EBV) in healthy carriers: Distribution of genotypes and 30 bp deletion in latent membrane protein-1 (LMP-1) oncogene. *J. Med. Virol.* 2004; 73(4): 583–8. <https://doi.org/10.1002/jmv.20129>
9. Srivastava G., Wong K.Y., Chiang A.K., Lam K.Y., Tao Q. Coinfection of multiple strains of Epstein-Barr virus in immunocompetent normal individuals: reassessment of the viral carrier state. *Blood.* 2000; 95(7): 2443–5.
10. Van Baarle D., Hovenkamp E., Kersten M.J., Klein M.R., Miedema F., van Oers M.H. Direct Epstein-Barr virus (EBV) typing on peripheral blood mononuclear cells: no association between EBV type 2 infection or superinfection and the development of acquired immunodeficiency syndrome-related non-Hodgkin's lymphoma. *Blood.* 1999; 93(11): 3949–55.
11. Sixbey J.W., Shirley P., Chesney P.J., Buntin D.M., Resnick L. Detection of a second widespread strain of Epstein-Barr virus. *Lancet.* 1989; 2(8666): 761–5. [https://doi.org/10.1016/s0140-6736\(89\)90829-5](https://doi.org/10.1016/s0140-6736(89)90829-5)
12. Edwards R.H., Seillier-Moiseiwitsch F., Raab-Traub N. Signature amino acid changes in latent membrane protein 1 distinguish Epstein-Barr virus strains. *Virology.* 1999; 261(1): 79–95. <https://doi.org/10.1006/viro.1999.9855>
13. Cheung S.T., Leung S.F., Lo K.W., Chiu K.W., Tam J.S., Fok T.F., et al. Specific latent membrane protein 1 gene sequences in type 1 and type 2 Epstein-Barr virus from nasopharyngeal carcinoma in Hong Kong. *Int. J. Cancer.* 1998; 76(3): 399–406. [https://doi.org/10.1002/\(sici\)1097-0215\(19980504\)76:3<399::aid-ijc18>3.0.co;2-6](https://doi.org/10.1002/(sici)1097-0215(19980504)76:3<399::aid-ijc18>3.0.co;2-6)
14. Oshima M., Azuma H., Okuno A. High prevalence of Epstein-Barr virus type A strain with the 30 b.p. deletion of the latent membrane protein-1 gene in a Japanese population. *Pediatr. Int.* 1999; 41(5): 490–5. <https://doi.org/10.1046/j.1442-200x.1999.01122.x>
15. Khanim F., Yao Q.Y., Niedobitek G., Sihota S., Rickinson A.B., Young L.S. Analysis of Epstein-Barr virus gene polymorphisms in normal donors and in virus-associated tumors from different geographic locations. *Blood.* 1996; 88(9): 3491–501.
16. Смирнова К.В., Сенюта Н.Б., Ботезару 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>
17. Hahn P., Novikova E., Scherback L., Janik C., Pavlish O., Arkhipov V., et al. The LMP1 gene isolated from Russian nasopharyngeal carcinoma has no 30-bp deletion. *Int. J. Cancer*. 2001; 91(6): 815–21. [https://doi.org/10.1002/1097-0215\(200002\)9999:9999<:aid-ijc1122>3.0.co;2-w](https://doi.org/10.1002/1097-0215(200002)9999:9999<:aid-ijc1122>3.0.co;2-w)
 18. 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>
 19. Salahuddin S., Khan J., Azhar J., B. Whitehurst C., 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>
 20. Каприн А.Д., Старинский В.В., Шахзадова А.О., ред. *Злокачественные новообразования в России в 2020 году (заболеваемость и смертность)*. М.; 2021.
 21. 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>
- REFERENCES**
1. Shannon-Lowe C., Rickinson A. The global landscape of EBV-associated tumors. *Front. Oncol.* 2019; 9: 713. <https://doi.org/10.3389/fonc.2019.00713>
 2. Graham B.S., Lynch D.T. Burkitt Lymphoma. In: *StatPearls [Internet]*. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2023.
 3. Tsao S.W., Tsang C.M., Lo K.W. Epstein-Barr virus infection and nasopharyngeal carcinoma. *Philos. Trans. R. Soc. Lond. B. Biol. Sci.* 2017; 372(1732): 20160270. <https://doi.org/10.1098/rstb.2016.0270>
 4. Bei J.X., Zuo X.Y., Liu W.S., Guo Y.M., Zeng Y.X. Genetic susceptibility to the endemic form of NPC. *Chin. Clin. Oncol.* 2016; 5(2): 15. <https://doi.org/10.21037/cco.2016.03.11>
 5. Su W.H., Hildesheim A., Chang Y.S. Human leukocyte antigens and Epstein–Barr virus-associated nasopharyngeal carcinoma: old associations offer new clues into the role of immunity in infection-associated cancers. *Front. Oncol.* 2013; 3: 299. <https://doi.org/10.3389/fonc.2013.00299>
 6. Rickinson A.B., Young L.S., Rowe M. Influence of the Epstein–Barr virus nuclear antigen EBNA 2 on the growth phenotype of virus-transformed B cells. *J. Virol.* 1987; 61(5): 1310–7. <https://doi.org/10.1128/jvi.61.5.1310-1317.1987>
 7. Romero-Masters J.C., Huebner S.M., Ohashi M., Bristol J.A., Benner B.E., Barlow E.A., et al. B cells infected with Type 2 Epstein–Barr virus (EBV) have increased NFATc1/NFATc2 activity and enhanced lytic gene expression in comparison to Type 1 EBV infection. *PLoS Pathog.* 2020; 16(2): e1008365. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1008365>
 8. Correa R.M., Fellner M.D., Alonio L.V., Durand K., Teyssié A.R., Picconi M.A. Epstein–Barr virus (EBV) in healthy carriers: Distribution of genotypes and 30 bp deletion in latent membrane protein-1 (LMP-1) oncogene. *J. Med. Virol.* 2004; 73(4): 583–8. <https://doi.org/10.1002/jmv.20129>
 9. Srivastava G., Wong K.Y., Chiang A.K., Lam K.Y., Tao Q. Coinfection of multiple strains of Epstein–Barr virus in immunocompetent normal individuals: reassessment of the viral carrier state. *Blood*. 2000; 95(7): 2443–5.
 10. Van Baarle D., Hovenkamp E., Kersten M.J., Klein M.R., Miedema F., van Oers M.H. Direct Epstein–Barr virus (EBV) typing on peripheral blood mononuclear cells: no association between EBV type 2 infection or superinfection and the development of acquired immunodeficiency syndrome-related non-Hodgkin's lymphoma. *Blood*. 1999; 93(11): 3949–55.
 11. Sixbey J.W., Shirley P., Chesney P.J., Buntin D.M., Resnick L. Detection of a second widespread strain of Epstein–Barr virus. *Lancet*. 1989; 2(8666): 761–5. [https://doi.org/10.1016/s0140-6736\(89\)90829-5](https://doi.org/10.1016/s0140-6736(89)90829-5)
 12. Edwards R.H., Seillier-Moisewitsch F., Raab-Traub N. Signature amino acid changes in latent membrane protein 1 distinguish Epstein–Barr virus strains. *Virology*. 1999; 261(1): 79–95. <https://doi.org/10.1006/viro.1999.9855>
 13. Cheung S.T., Leung S.F., Lo K.W., Chiu K.W., Tam J.S., Fok T.F., et al. Specific latent membrane protein 1 gene sequences in type 1 and type 2 Epstein–Barr virus from nasopharyngeal carcinoma in Hong Kong. *Int. J. Cancer*. 1998; 76(3): 399–406. [https://doi.org/10.1002/\(sici\)1097-0215\(19980504\)76:3<399:aid-ijc18>3.0.co;2-6](https://doi.org/10.1002/(sici)1097-0215(19980504)76:3<399:aid-ijc18>3.0.co;2-6)
 14. Oshima M., Azuma H., Okuno A. High prevalence of Epstein–Barr virus type A strain with the 30 b.p. deletion of the latent membrane protein-1 gene in a Japanese population. *Pediatr. Int.* 1999; 41(5): 490–5. <https://doi.org/10.1046/j.1442-200x.1999.01122.x>
 15. Khanim F., Yao Q.Y., Niedobitek G., Sihota S., Rickinson A.B., Young L.S. Analysis of Epstein–Barr virus gene polymorphisms in normal donors and in virus-associated tumors from different geographic locations. *Blood*. 1996; 88(9): 3491–501.
 16. 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. *Uspekhii molekulyarnoy onkologii*. 2018; 5(3): 65–74. <https://doi.org/10.17650/2313-805X-2018-5-3> <https://elibrary.ru/vloxpu> (in Russian)
 17. Hahn P., Novikova E., Scherback L., Janik C., Pavlish O., Arkhipov V., et al. The LMP1 gene isolated from Russian nasopharyngeal carcinoma has no 30-bp deletion. *Int. J. Cancer*. 2001; 91(6): 815–21. [https://doi.org/10.1002/1097-0215\(200002\)9999:9999<:aid-ijc1122>3.0.co;2-w](https://doi.org/10.1002/1097-0215(200002)9999:9999<:aid-ijc1122>3.0.co;2-w)
 18. 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>
 19. Salahuddin S., Khan J., Azhar J., B. Whitehurst C., 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>
 20. Каприн А.Д., Старинский В.В., Шахзадова А.О., eds. *Malignant Neoplasms in Russia in 2020 (Morbidity and Mortality) [Zlokachestvennye novoobrazovaniya v Rossii v 2020 godu (zabolevaemost' i smertnost')]*. Moscow; 2021. (in Russian)
 21. 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>

Информация об авторах:

Гурцевич Владимир Эдуардович[✉] – д-р мед. наук, профессор, главный научный консультант лаборатории вирусного канцерогенеза, НИИ канцерогенеза ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, Москва, Россия. E-mail: gurtsevitch-vlad-88@yandex.ru; <https://orcid.org/0000-0003-1840-4364>

Лубенская Александра Кирилловна – научный сотрудник, лаборатория вирусного канцерогенеза, НИИ канцерогенеза ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, Москва, Россия. E-mail: lubenskoy.96@mail.ru; <https://orcid.org/0000-0003-3953-7449>

Сенюта Наталья Борисовна – канд. мед. наук, научный консультант лаборатории вирусного канцерогенеза, НИИ канцерогенеза ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, Москва, Россия. E-mail: nat.senyuta@yandex.ru; <https://orcid.org/0000-0001-8915-8274>

Смирнова Ксения Валерьевна – канд. биол. наук, заведующая лабораторией вирусного канцерогенеза, НИИ канцерогенеза ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, РУДН, ФГАОУ ВО «РНИМУ им. Н.И. Пирогова» Минздрава России, Москва, Россия. E-mail: skv.lab@yandex.ru; <https://orcid.org/0000-0001-6209-977X>

Участие авторов: Гурцевич В.Э. – идея и оформление исследования, оформление таблиц и рисунков, написание рукописи; Лубенская А.К. – определение типов ВЭБ, амплификация LMP1; Сенюта Н.Б. – систематизация результатов исследований, анализ последовательностей, идентификация вариантов LMP1; Смирнова К.В. – организация исследования, анализ результатов, редактирование рукописи.

Поступила 07.01.2024
Принята в печать 14.02.2024
Опубликована 28.02.2024

Information about the authors:

Vladimir E. Gurtsevitch[✉] – Dr. Sci. (Medicine), Professor, Chief Scientific Adviser of the Laboratory of Viral Carcinogenesis, Research Institute of Carcinogenesis, N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology, Ministry of Health of Russia, Moscow, Russia. E-mail: gurtsevitch-vlad-88@yandex.ru; <https://orcid.org/0000-0003-1840-4364>

Alexandra K. Lubenskaya – Researcher, Laboratory of Viral Carcinogenesis, Research Institute of Carcinogenesis, N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology, Ministry of Health of Russia, Moscow, Russia. E-mail: lubenskoy.96@mail.ru; <https://orcid.org/0000-0003-3953-7449>

Natalia B. Senyuta – PhD (Medicine), Scientific Consultant of the Laboratory of Viral Carcinogenesis, Research Institute of Carcinogenesis, N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology, Ministry of Health of Russia, Moscow, Russia. E-mail: nat.senyuta@yandex.ru; <https://orcid.org/0000-0001-8915-8274>

Ksenia V. Smirnova – PhD (Biology), Head of the Laboratory of Viral Carcinogenesis, Research Institute of Carcinogenesis, N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology, Ministry of Health of Russia, RUDN University, Pirogov Medical University, Moscow, Russia. E-mail: skv.lab@yandex.ru; <https://orcid.org/0000-0001-6209-977X>

Contribution: Gurtsevitch V.E. – idea and design of the study, design of tables and figures, writing the manuscript; Lubenskaya A.K. – determination of EBV types, LMP1 amplification; Senyuta N.B. – systematization of research results, sequence analysis, identification of LMP1 variants; Smirnova K.V. – organization of the study, analysis of results, editing of the manuscript.

Received 07 January 2024
Accepted 14 February 2024
Published 28 February 2024