

УДК 578.2:578.825.13:578.23

## МОЛЕКУЛЯРНЫЕ ОСНОВЫ ПЕРСИСТЕНЦИИ ВИРУСА ЭПШТЕЙНА-БАРР В ОРГАНИЗМЕ ЧЕЛОВЕКА

**Волянський А.Ю., Колотова Т.Ю., Романова Е.А.,  
Сидоренко Т.А., Игумнова Н.И., Конорева Е.С.,  
Юхименко В.И., Каблучко Т.В., Погорелая М.С.**

**ГУ «Институт микробиологии и иммунологии им.  
И.И. Мечникова  
Национальной академии медицинских наук  
Украины»**

В обзоре приведены сведения о молекулярных аспектах персистенции вируса Эпштейна-Барр в организме человека. В клетках вирус Эпштейна-Барр может существовать в латентной или литической фазах. В литической фазе вирус реплицируется и образуются вирионы, клетка лизируется или погибает путем апоптоза. В литической фазе вирус находится в плазматических и эпителиальных клетках.

Латентной называется фаза персистенции инфекции без активной репликации и разрушения клетки. В латентной фазе вирус находится в ядре клеток в виде двухцепочечной кольцевой эписомы, хотя в некоторых случаях он может быть интегрирован в геном. Почти 100 вирусных генов экспрессируются в течение литической фазы и только от 2 до 10 - в латентных фазах. Отмечено, что персистенция вируса в лимфоцитах часто приводит к установлению второй фазы латентности. Установление этой фазы в свою очередь коррелирует с возникновением различных патологий от лимфом до аутоиммунных заболеваний. Как отмечалось выше, во второй фазе латентности вирус сохраняет способность стимулировать пролиферацию лимфоцитов, что, возможно, и ведет к развитию заболеваний.

**Ключевые слова:** вирус Эпштейна-Барр, персистенция, литическая фаза, латентная фаза, обострение хронической Эпштейна-Барр инфекции.

Вирус Эпштейна-Барр, однажды инфицировав организм человека, остается персистировать в нем на протяжении всей жизни. Персистентный характер вирусной инфекции может быть обусловлен активной репликацией вируса и образованием вирусных частиц, abortивной репликацией вируса без образования вирусных частиц в течение долгого времени. Еще одним видом персистентной инфекции является латентная инфекция. Более 90% людей в мире содержат вирус в латентной фазе в В-лимфоцитах «памяти».

### Экспрессия генов при литической и латентной фазах репликации вируса Эпштейна-Барр

Вирус Эпштейна-Барр (EBV) относится к гамма семейству *Herpesviridae*. Вирус содержит

двухцепочечную ДНК. Размер генома составляет 173 т.п.н. EBV может инфицировать В- и Т-лимфоциты, клетки эпителия ротоглотки и носоглотки, клетки гранулярного эпителия щитовидной железы, желудка и слюнных желез, миоциты гладкой мышечной ткани и фолликулярные дендритные клетки.

В клетках вирус Эпштейна-Барр может существовать в латентной или литической фазах. В литической фазе вирусы реплицируются и образуются вирионы, клетка лизируется или погибает путем апоптоза. В плазматических и эпителиальных клетках вирус способен переходить литическую фазу.

Латентной называется фаза персистенции инфекции без активной репликации и разрушения клетки. В латентной фазе вирус находится в ядре клеток в виде двухцепочечной кольцевой эписомы [1], хотя в некоторых случаях он может быть интегрирован в геном [2]. В латентной фазе вирус реплицируется один раз в течение клеточного цикла и распределяется между дочерней и материнской клетками [3].

Почти 100 вирусных генов экспрессируются в течение литической фазы и только от 2 до 10 - в латентных фазах.

При инфицировании вирусом В-лимфоцитов устанавливается III фаза латентности, в течение которой экспрессируются 10 генов: это гены ядерных антигенов вируса Эпштейна-Барр: EBNA1, EBNA2, EBNA3A, EBNA3B, EBNA3C, EBNA-LP; гены латентных мембранных белков: LMP1, LMP2A, LMP2B и ген некодирующей РНК EBEB [4]. Экспрессия этих генов индуцирует пролиферацию В-лимфоцитов. При продвижении латентно инфицированных В-клеток по герминальным центрам от центробластов до центроцитов клетки подвергаются иммунной селекции и устанавливается II фаза латентности, при которой экспрессируются гены EBNA1, EBNA-LP, LMP1, LMP2A, LMP2B и EBEB. В дальнейшем происходит дифференцировка клеток в В-клетки памяти, и вначале устанавливается I фаза латентности, при которой экспрессируются только EBNA1 и EBEB гены, а затем устанавливается 0 фаза латентности, при которой экспрессируется только ген некодирующей РНК EBEB [5].

Что же представляют собой гены, экспрессирующиеся в латентных фазах репликации вируса, и какие функции они выполняют?

Продукт гена EBNA1 необходим для репликации вируса в латентной фазе и для митотической сегрегации вируса при делении клеток (поддерживает распределение эписомальной вирусной ДНК при делении клеток) [6]. EBNA1 является единственным геном, экспрессирующимся как во время латентной фазы репликации, так и во время литической фазы. EBNA1 изменяет экспрессию более чем 100 генов, а так же с помощью клеточных генов регулирует экспрессию некодирующей РНК EBEB самого вируса Эпштейна-Барр [7]. EBNA1 контролирует транскрипцию, непосредственно присоединяясь к регуляторным элементам генома, то

есть ведет себя как пионерский фактор. Пионерскими называются такие факторы, которые присоединяются к специфическим регуляторным элементам ДНК даже в том случае, когда они соединены с гистонами и образуют нуклеосому, т. е. находятся в закрытой конформации. Обычно белки, обладающие такой способностью, являются ключевыми факторами дифференцировки клеток [6]. Действительно, в некоторых работах показано, что онкогенные свойства этого фактора связаны с его способностью влиять на процесс дифференцировки В-клеток. Продукт гена EBNA1 является онкогеном. У мышей экспрессия EBNA1 в В-лимфоцитах вызывает образование лимфом [8]. При образовании лимфом у трансгенных мышей EBNA1 кооперирует с белком с-Мус, обеспечивающим пролиферацию [9]. Механизм онкогенного действия фактора плохо изучен. Как отмечалось выше, экспрессия EBNA1 может вмешиваться в процесс дифференцировки В-лимфоцитов. Помимо этого, белок дестабилизирует геном, возможно, благодаря образованию реактивных форм кислорода [10]. Некоторые данные свидетельствуют об увеличении EBNA1 экспрессии рекомбиназ RAG1 и RAG2 [11]. RAG рекомбиназы вызывают различные перестройки генома, т.е. дестабилизируют геном, что может вести к развитию опухоли. В то же время транслокация с-Мус/Ig, которая затрагивает клеточный геном и всегда обнаруживается при лимфоме Беркитта, вызывается AID дезаминазой [12], экспрессию которой повышают другие белки вируса. AID дезаминаза способна вызывать образование двойных разрывов, предшествующих перестройкам генома, а также соматические мутации.

Белок, кодируемый EBNA2, регулирует транскрипцию генов вируса и клетки. EBNA2 имеет клеточный гомолог, которым является активированный рецептор Notch. EBNA2 изменяет регуляцию более чем 300 клеточных генов, в том числе такого глобального регулятора транскрипции и основного фактора пролиферации как с-Мус [13]. EBNA2 является ключевым фактором, регулирующим экспрессию генов латентности вируса. При инфицировании вирусом В-клеток EBNA2 с коактиватором EBNA1P экспрессируются с Wp промотора. Затем EBNA2 и EBNA1P белки вируса связываются с Cp промотором, в результате чего стартует синтез остальных генов латентности (EBNA1, 2, 3A, 3B, 3C и LMP генов) [14]. EBNA2 связывается преимущественно с энхансерами клеточных генов, не взаимодействуя с ДНК непосредственно, а соединяясь с транскрипционными факторами RBP-Jk или PU.1 [15]. Оба фактора кодируются геномом клетки. Образующийся комплекс непосредственно присоединяется к регуляторным элементам ДНК и способствует эпигенетическим модификациям генома клетки. EBNA2 мощный онкоген, усиливающий деление В клеток с помощью увеличения экспрессии ключевого фактора пролиферации с-Мус [13].

Белок EBNA1P контролирует транскрипцию клеточных генов, в том числе генов пролиферации и антиапоптотических генов. Во многих случаях EBNA1P регулирует транскрипцию совместно с EBNA2, при этом EBNA2 связывается с энхансерами генов, а LP -- с промоторами [16]. EBNA1P обычно усиливает транскрипцию генов, регулируемых EBNA2, в том числе увеличивает экспрессию с-Мус.

Гены EBNA3 (3A, 3B и 3C) возникли в результате дупликации. Они очень сходны. В кооперации с клеточным геном с-gas и EBNA3A, и EBNA3C трансформируют первичные эмбриональные фибробласты, являясь таким образом онкогенами [17, 18]. Несмотря на сходство, EBNA 3B, наоборот, является онкосупрессором [19]. Также эти факторы изменяют восприимчивость клеток к апоптотическим стимулам и влияют на дифференцировку. Все EBNA3 белки способны непосредственно связываться с ДНК. При их непосредственном связывании с ДНК регуляторных элементов транскрипция клеточных генов обычно подавляется [20]. Помимо непосредственного связывания с ДНК, EBNA3 факторы как и EBNA2 и клеточный гомолог EBNA2 Notch образуют комплексы с белками RBP-J или PU.1, а затем такие комплексы присоединяются к регуляторным последовательностям ДНК [21, 22]. Таким образом, вирус в значительной степени модулирует генетическую программу, находящуюся в клетке под контролем рецептора Notch. EBNA3C стабилизирует белок с-Мус и способствует присоединению с-Мус к промоторам, таким образом модулируя экспрессию множества клеточных генов, находящихся под контролем этого транскрипционного фактора [23]. Экспериментально показано, что EBNA3C изменяет уровень экспрессии 550 клеточных генов [24]. Регулируемые фактором EBNA3C гены в значительной степени перекрываются с генами, регулируемые EBNA2 и EBNA3A.

Таким образом, ядерные антигены вируса – это белки, связывающиеся непосредственно или в составе белковых комплексов с регуляторными последовательностями генома и контролирующими уровень транскрипции генов самого вируса, а также множества клеточных генов. Среди контролируемых ими клеточных генов ключевые гены пролиферации, дифференцировки, программы клеточной гибели и стабилизации/дестабилизации генома.

Два гена вируса LMP1 и LMP2A кодируют вирусные гомологи клеточных рецепторов.

LMP2A является постоянно активированным функциональным гомологом В-клеточного рецептора (BCR). Экспрессия фактора создает сигнал для дифференцировки, а также выживания В-клеток [25]. При конститутивной экспрессии только LMP2A получаемый клеткой сигнал достаточен для того, чтобы В-клетки, не обладающие BCR рецептором, выживали, поступали в герминальные центры и в них активировалась AID дезаминаза. Активация AID дезаминазы вызывает соматический гипермутагенез иммуноглобулиновых генов, процесс необходимый

для образования высокоаффинных иммуноглобулинов и дифференцировки В-клеток памяти. Таким образом, LMP2A практически полностью заменяет В-клеточный рецептор. LMP2A активирует также экспрессию гена с-мус, способствуя тем самым пролиферации В-лимфоцитов и образованию индуцируемых с-Мус лимфом [26]. У LMP2A и LMP2B генов экзоны 2–9 сходны, но один экзон, кодирующий сигнальный домен, у LMP2B отсутствует. Без сигнального домена LMP2B не способен посылать BCR-подобные сигналы в В-клетки. LMP2B играет важную роль в переключении со стадии латентности в стадию реактивации вируса. LMP2A способствует переключению к латентной фазы на литическую [27]. Однако, согласно ранним исследованиям LMP2A, наоборот, тормозит переход в литическую фазу [28]. Чем вызвано наблюдаемое противоречие, неясно. Сверхэкспрессия LMP2B также способствует переходу вируса из латентной в литическую стадию [29].

LMP1 - аналог CD40 антигена, активируемого Т-хелперами. Однако, сам LMP1 является конститутивно активным рецептором и для его активации не нужно взаимодействие с CD4<sup>+</sup> [30]. В свою очередь LMP1 активирует ряд транскрипционных факторов клетки, в том числе NF-κB, AP-1, STAT [31]. Эти же факторы активируются при взаимодействии Т-хелперов с CD40. LMP1 активирует белок NF-κB, который в свою очередь активирует ген с-Мус. NF-κB является транскрипционным фактором, контролирующим экспрессию большого количества клеточных генов, и наряду с с-Мус - ключевым регулятором пролиферации В-клеток. Таким образом, конститутивно активный LMP1 постоянно стимулирует пролиферацию В-лимфоцитов. LMP1 модулирует восприимчивость к апоптотическим стимулам [32]. А также LMP1 дестабилизирует геном, увеличивая экспрессию гена цитидиндезаминазы AID [33], способствующего, как уже отмечалось выше, образованию мутаций и образованию перестроек генома в соматических клетках. По-видимому, все эти свойства LMP1 делают его сильным онкогеном. Экспрессия LMP1 в трансгенных мышах вызывает образование лимфом.

Таким образом, в латентных фазах репликации вируса экспрессируются гены, регулирующие транскрипцию клеточных генов непосредственно или с помощью активации сигнальных путей и модулирующие посредством этого процессы пролиферации, дифференцировки, гибели, а также стабильность генома пораженных вирусом клеток.

Латентно инфицированные В-клетки памяти циркулируют в крови, но периодически возвращаются в миндалины и аденоиды, где вирус реактивируется, вступает в литическую фазу и реплицируется с образованием вирусных частиц. У здоровых людей EBV вирус реплицируется постоянно и вирусные частицы обнаруживаются в слюне. Следует, однако,

заметить, что у здоровых людей не удалось выявить литически инфицированные клетки. О том, что имеет место литическая инфекция, судят только по наличию вирусов в слюне.

Сигналы, инициирующие реактивацию вируса в литическую фазу репликации, на данный момент плохо изучены. Однако это сигналы внешние, поскольку сам вирус не экспрессирует белки в латентной фазе. Предполагается, что реактивация вируса происходит в том случае, когда латентно инфицированные В-клетки активируются в ответ на чужеродный антиген, который стимулирует через узнающий его В-клеточный рецептор сигнал, запускающий терминальную дифференцировку в плазматические клетки. Таким сигналом может быть любой чужеродный антиген [34, 35].

Реактивации вируса способствуют также ингибиторы гистондеацетилазы [36], антитимоглобулины, связывающиеся с В-клеточным рецептором BCR [37], трансформирующий фактор роста [38], ингибитор протеасом бортезомиб [39], деметилирующий ДНК агент 5-азациитидин [40], радиация [41] и химиотерапевтические препараты [42].

Существуют три временные фазы экспрессии вирусных генов литической фазы: немедленно ранняя фаза, ранняя фаза и поздняя фаза.

При индукции литической репликации на немедленно ранней фазе активируется транскрипция двух транскрипционных факторов BZLF1 (ZEBRA) и BRLF1, активирующие, в свою очередь, гены ранней фазы, среди которых гены репликации вирусной ДНК. К генам репликации относятся ген полимеразы BALF5, ген раннего антигена EA/D, связывающегося с одноцепочечной ДНК белка BALF2, праймазы BSLF1, геликазы BBLF4 и связывающегося с геликазой/праймазой белка BBLF2/3 [43]. Присоединение репликативного комплекса к оридину репликации приводит к синтезу новых вирусных частиц и активации экспрессии ряда литических генов. Затем вирусный геном укладывается, собирается капсид, поступающий из ядра в цитоплазму. В результате образуется вирус, секретлируемый из клетки.

Несколько синтезируемых вирусом EBV белков способствуют уклонению вируса от иммунного ответа, в основном за счет подавления образования IFN-γ и супрессии Т-клеточного иммунитета. Гомолог человеческого интерлейкина-10, вирусный vIL-10, подавляет синтез IFN-γ, супрессирует CD8<sup>+</sup>-цитотоксический Т-клеточный ответ и повышает экспрессию MHC I. Вирус также содержит два гена BALF1 и BHRF1, являющиеся гомологами bcl2 гена клетки, которые защищают В-лимфоциты и эпителиальные клетки от апоптоза [44]. Эти два гена также нужны для установления латентной фазы вируса в инфицированных клетках.

Следовательно, в течение литической фазы экспрессируются гены, позволяющие вирусу размножаться и распространяться, а также гены,

модулирующие иммунный ответ и программу апоптоза. Именно последние гены перепрограммируют иммунную систему и программу гибели клеток таким образом, что дают возможность вирусу переключиться из литической в латентную фазу.

### **Экспрессия генов латентной и литической фазы при заболеваниях, вызываемых вирусом Эпштейна-Барр**

Для разработки эффективных методов предупреждения и лечения, вызываемых вирусом патологий необходимо изучить, каким образом продукты генов литической и латентной фаз создают патогенетическую основу возникновения и развитие этих заболеваний. Поэтому в этом разделе мы рассмотрим заболевания, вызываемые EBV вирусом, и те стадии латентной или литической репликации, с которыми они ассоциированы.

При первичной инфекции вирус передается со слюной. В районе миндалин EBV с помощью поверхностного гликопротеина gp350 связывается с рецептором к комплементу 2 (CD21), который экспрессируется зрелыми недифференцированными В-клетками и дендритными клетками [45].

После первичного инфицирования EBV вирусами В-лимфоцитов в лимфоузлах экспрессируются все десять генов латентной фазы [46]. На фоне иммунодефицита это ведет к пролиферации и раковому перерождению клеток. Если же иммунная система активна, происходит переключение на вторую фазу латентности при поступлении инфицированных В-лимфоцитов в герминальные центры миндалин. В течение второй фазы экспрессируются гены EBNA1, LMP1 и LMP2. На этой стадии еще сохраняется высокий пролиферативный потенциал В-лимфоцитов. Затем в результате дифференцировки В-лимфоциты превращаются в В-клетки «памяти» и устанавливается 1 и 0 стадии латентности вируса. В-клетки памяти покидают герминальные центры и выходят в кровотоки.

Для 0 фазы латентности характерна транскрипция генов EBER1 и EBER2, в результате которой образуются так называемые некодирующие РНК, а также экспрессия большой молекулы некодирующей РНК BART, из которой затем образуется ряд микроРНК. В течение 0 фазы латентности белки не экспрессируются. Следовательно, для иммунной системы вирус является полностью невидимым. Именно на этой стадии находится вирус в В-лимфоцитах памяти у здоровых людей. Обнаружить вирус на этой стадии можно только с помощью полимеразной цепной реакции.

EBV способен латентно персистировать в В-лимфоцитах на протяжении всей жизни человека. В то же время латентно инфицированные В-клетки периодически возвращаются в лимфатические узлы и терминально дифференцируются в плазматические

клетки, в которых активируется репликация вируса [35]. В результате образуются новые вирусы, инфицирующие эпителиальные клетки и В-лимфоциты. В эпителиальных клетках вирус реплицируется и выделяется в слюну, с помощью которой он и распространяется [47].

Экспериментально показано, что при дифференцировке инфицированных В-клеток в плазматические клетки активируется промотор ранних литических генов, что запускает транскрипцию и трансляцию генов. Синтезируемые в результате белки и ферменты осуществляют литическую репликацию вируса [35]. В большинстве инфицированных клеток происходит abortивная литическая репликация [48], которая может вызывать гибель клетки путем апоптоза. По-видимому, в клетках, вступивших в апоптоз, кодируемые EBV макромолекулы секретируются в виде экзосом.

### **Инфекционный мононуклеоз**

Заражение вирусом в подростковом возрасте вызывает инфекционный мононуклеоз - лимфопролиферативное заболевание, при котором до 20% В-клеток инфицированы EBV вирусом [49].

Симптомами инфекционного мононуклеоза являются лихорадка, боли в горле, слабость, увеличение лимфатических узлов. Заболевание сопровождается фарингитами, лимфоаденопатией, гепатомегалией, спленомегалией, появлением сыпи, головными болями, снижением аппетита, а также лейкоцитозом, тромбоцитопенией, анемией и повышением уровня аланинаминотрансферазы. В крови появляются атипично крупные лимфоциты, которые называются клетки Дауни, и являются активированными CD8+ Т-лимфоцитами.

Длительность заболевания обычно 16 дней, а восстановление происходит в течение нескольких месяцев. Дольше всего задерживается состояние усталости.

При инфекционном мононуклеозе инфицирование В-клеток приводит к установлению III фазы латентности в В-лимфоцитах. Установление III фазы стимулирует пролиферацию В-лимфоцитов, что и вызывает лимфоаденопатию.

Существует множество осложнений инфекционного мононуклеоза, частота которых достигает по крайней мере 1%: конъюнктивиты, гемофагоцитарный синдром, миокардиты, неврологические заболевания, панкреатиты, паротиты, перикардиты, пневмонии, психические расстройства, разрыв селезенки [50-53].

Большинство людей, которые перенесли первичную EBV инфекцию либо бессимптомно, либо в виде инфекционного мононуклеоза не приобретают серьезные осложнения. Однако в некоторых случаях вирус все же вызывает осложнения. Далее мы рассмотрим заболевания, которые могут развиваться при персистенции вируса Эпштейна-Барр.

**Онкозаболевания.** Установление третьей фазы латентности зависит от взаимодействия только вируса и клетки. Помимо В-лимфоцитов при мононуклеозе, третья фаза латентности устанавливается при трансформации *in vitro* В-лимфоцитов и образовании В-лимфобластоидных клеточных линий, а также при посттрансплантационных лимфопролиферативных нарушениях на фоне развивающегося иммунодефицита [54]. В последнем случае образуется лимфома. Основными факторами иммортализации и пролиферации на этой стадии являются вирусные онкогены EBNA2, EBNA3С и LMP1. Как уже отмечалось выше, эти гены изменяют транскрипцию множества клеточных генов, увеличивая пролиферацию клеток, дестабилизируя клеточный геном и снижая уровень апоптоза.

Вторая стадия латентности наблюдается при лимфоме Ходжкина, а также не-Ходжкинских лимфомах В- и Т-лимфоцитов [55]. Помимо этого, вторая фаза латентности обнаружена в эпителиальных клетках назофарингеальной (носоглоточной) карциномы и гастрокарциномы, вызываемых вирусом. В течение II фазы латентности обычно экспрессируются EBNA1, LMP1, LMP2A и LMP2B гены. В некоторых случаях обнаружена экспрессия EBNA2, но в таких случаях не экспрессируется LMP1. В целом пролиферативный потенциал В-лимфоцитов на этой стадии ниже, чем на 3 стадии, но все равно очень высок.

При I фазе латентности экспрессируется единственный белок EBNA1. Первая фаза латентности характерна для лимфомы Бэркитта [56].

Таким образом, экспрессия белков латентной фазы, каждый из которых регулирует экспрессию множества клеточных генов и модулирует пролиферацию и дифференцировку В-лимфоцитов, вызывает злокачественное перерождение клеток.

### **Хроническая активная EBV инфекция (CAEBV)**

CAEBV - это вызываемое EBV вирусом лимфопролиферативное заболевание, характеризующееся лихорадкой, спленомегалией, лимфоаденопатией. Заболевание развивается после первичного инфекционного мононуклеоза у больных без признаков иммунодефицита [57]. Таким образом, заболевание характеризуется хроническими мононуклеозо-подобными симптомами, длящимися на протяжении от 6 месяцев и до 28 месяцев.

У больных наблюдается также обструкция верхних дыхательных путей, разрыв селезенки, нейрологические заболевания, острая гемологическая цитопения, гепатиты. У большинства пациентов эти симптомы проходят без последствий.

При заболевании обнаруживаются высокие титры антител к капсидному антигену EBV VCA и раннему антигену (EA). Для заболевания характерно высокое содержание самого вируса и тяжесть заболевания напрямую коррелирует с уровнем ДНК вируса в плазме или сыворотке [58].

У больных CAEBV Японии и Восточной Азии вирус преимущественно инфицирует Т-клетки и натуральные киллеры [57]. У европейцев и американцев инфицирование вирусом этих клеток происходит крайне редко. В основном вирус инфицирует В клетки.

К осложнениям этого заболевания относятся панцитопения, гипергаммаглобулинемия, В- и Т-клеточные злокачественные лимфомы и лимфопролиферативные заболевания [59, 60].

С помощью количественного ПЦР у больных CAEBV был определен паттерн экспрессии шести генов латентной фазы и двух литических генов вируса [61]. Экспрессию LMP2 белка удалось обнаружить у большинства больных. В то же время экспрессию EBNA1 и LMP1 удавалось обнаружить реже и экспрессировались они на более низком уровне, чем LMP2. Экспрессия EBNA1 обычно сочетается с сильными клиническими проявлениями. Литические гены не экспрессируются вообще. Таким образом, паттерн экспрессии генов при этом заболевании соответствует второй стадии латентности. Соответственно, клетки сохраняют высокий пролиферативный потенциал, что, собственно, и может привести к развитию лимфом у пациентов.

На данный момент единственным эффективным лечением этого заболевания является трансплантация стволовых клеток костного мозга [62]. Лечение противовирусными препаратами не обладает эффективностью, поскольку противовирусные препараты действуют только в литической фазе репликации, которая отсутствует при этом заболевании [63].

### **Аутоиммунные заболевания**

Существует связь между персистенцией EBV и развитием системной красной волчанки (SLE). У пациентов с SLE содержание вируса в периферических мононуклеарных клетках крови (РВМС) повышено в 10-40 раз по сравнению со здоровыми людьми [64]. Более того, высокое содержание вируса обнаружено и в сыворотке 42% больных с системной красной волчанкой [65]. Предполагается, что это является следствием литической репликации вируса у больных. Однако пока нельзя утверждать, предшествует ли реактивация вируса развитию заболевания или наоборот.

Экспериментально показано, что у SLE пациентов высокий уровень экспрессии нескольких вирусных мРНК (BZLF1, gp350, вирусного гомолога IL10, LMP1, LMP24 и EBNA1) [64, 66]. Высокая экспрессия BZLF1 означает активацию литической репликации EBV, а увеличение gp350 по всей видимости указывает на то, что образуются вирусные частицы и количество инфицированных вирусом В клеток увеличивается. Увеличение экспрессии вирусного аналога IL10 дает возможность вирусу избежать иммунного ответа.

Однако, судя по паттерну экспрессирующихся РНК (LMP1, LMP24 и EBNA1), в В-клетках

пациентов, вирус может также находиться во второй латентной фазе [64, 66]. Таким образом, при системной красной волчанке вирус находится как в латентной фазе репликации, так и в литической.

EBV ДНК обнаруживается в РВМС клетках крови, слюне, синовиальной жидкости и синовиальной мембране больных с ревматоидным артритом [67]. У таких больных инфицированные вирусом В-клетки встречаются в 10 раз чаще, чем у здоровых [68]. Интересно, что ДНК EBV вируса была найдена во многих плазматических клетках, продуцирующих ССР антитела, специфические для этого заболевания и локализованные в синовиальной жидкости больных. У больных с ревматоидным артритом EBV вирус находится в В-лимфоцитах в латентной фазе II и в плазматических клетках в литической фазе репликации [69].

### **Синдром хронической усталости (CFS)**

Диагноз синдрома хронической усталости ставят при наличии следующих симптомов. Прежде всего это усталость, слабость после выполнения физических упражнений, миофасциальные боли или боли в суставах, когнитивные расстройства, не освежающий и беспокойный сон, головные боли и боли в горле.

Помимо перечисленных симптомов для постановки диагноза синдром хронической усталости нужно чтобы у больного было хотя бы по одному симптому из 2-х представленных ниже трех категорий [70].

Функционально независимые симптомы: нейрогенная гипотензия, постуральная ортостатическая тахикардия, замедленная ортостатическая гипотензия, сердцебиение с аритмией или без, головокружение, неуверенная походка (шаткость) с нарушением равновесия и/или одышкой.

Нейроэндокринные проявления: повторяющиеся эпизоды озноба с чувством холода в конечностях, субфебрильная температура тела с колебаниями в течение суток, потливость, ухудшение переносимости низких и высоких температур, изменение веса, полная потеря или снижение аппетита, усугубление вышеуказанных симптомов в период стресса. Иммунологические проявления: частые эпизоды простудных заболеваний, боль или першение в горле без признаков воспаления, повышенная чувствительность, небольшая отечность лимфоузлов при пальпации, изменение чувствительности рецепторов вкуса, обоняния.

Выделяют две группы больных CFS. К группе А относятся больные с высоким уровнем антител только к вирусу EBV или в сочетании с цитомегаловирусом CMV и герпес вирусом 6 типа (HHV6). К группе В относятся больные с таким же увеличением титров антител к вирусам, но дополнительно регистрируется наличие антител к *Borrelia burgdorferi*, *Anaplasma phagocytophilia*, *Babesia*

*microti*, *Mycoplasma pneumoniae*, *Chlamydia pneumoniae*.

Несмотря на то, что на протяжении многих лет наблюдалась связь между синдромом хронической усталости и наличием вируса EBV, до сих пор точно не установлено, в каком состоянии латентном или литическом вирус персистирует у этих больных. Нет точных доказательств репликации вируса, но в то же время увеличение титра IgM антител к позднему VCA антигену обнаруживается у большинства пациентов.

Согласно недавно проведенным исследованиям не удалось обнаружить ДНК вируса в плазме и РНК гена BZLF1 (ZEBRA), необходимого, как отмечалось выше, для переключения с латентной на литическую фазу, в РВМС клетках крови больных CFS [71]. На основании этих данных предполагается, что у больных происходит латентная репликация вируса. Однако, поскольку литическая репликация происходит в лимфатических узлах и для нее необходима дифференцировка В-клеток памяти в плазматические клетки, изучение содержания BZLF1 в РВМС клетках, по-видимому, недостаточно для однозначного исключения возможности активации литической репликации у CFS больных. Отсутствие ДНК вируса в плазме может свидетельствовать об abortивном характере литического цикла, при котором зрелые вирусные частицы не образуются.

Действительно, согласно другим данным при CFS может происходить abortивная литическая репликация вируса в отсутствие ДНКемии в плазме [72].

Так, у больных с высоким титром антител к EA(D) раннему антигену часто обнаруживаются антитела к кодируемой вирусом ДНК полимеразе и UTP-азе, т.е ферментам литической фазы репликации вируса. Показано, что сыворотка пациентов с диагнозом CFS в 93,9% случаев содержала антитела к EA(D), в 44,2% случаях к dUTP-азе и в 78,8% случаях к вирусной ДНК полимеразе [73]. Повышенный уровень антител к этим белкам вируса свидетельствует в пользу предположения о том, что вирус вступает в abortивный литический цикл, который не заканчивается образованием полноценных вирусных частиц.

Помимо этих данных, согласно некоторым исследованиям у CFS больных обнаружены повышенные титры антител к раннему антигену (EA) и к белку литической фазы ZEBRA [74, 75].

Интересно, что фермент дезоксиридинтрифосфатнуклеотидгидролаза (UTPаза) EBV вируса, кодируемый геном BLLF3, экспрессируется на ранней фазе литического цикла и нужен для репликации вируса [76]. Но помимо этого фермент обладает иммуномодулирующими свойствами, стимулируя toll-подобный рецептор TLR2 и последующую активацию транскрипционного фактора NF-κB, что приводит к индукции и секреции противовоспалительных цитокинов лейкоцитами. Последние, в свою очередь, вызывают развитие воспаления и слабость у мышей и, по-видимому, также могут действовать у людей. В

пользу предположения о вступлении вируса в abortивную литическую фазу репликации косвенно свидетельствует и тот факт, что лечение CFS пациентов на протяжении 12 месяцев валацикловиrom дает положительный результат [77, 78]. Таким образом, на данный момент не ясно, в каком виде персистирует вирус у больных с синдромом хронической усталости.

В целом можно отметить, что персистенция вируса в лимфоцитах часто приводит к установлению второй фазы латентности. Установление этой фазы в свою очередь коррелирует с возникновением различных патологий от лимфом до аутоиммунных заболеваний. Как отмечалось выше, во второй фазе латентности вирус сохраняет способность стимулировать пролиферацию лимфоцитов, что, возможно, и ведет к развитию заболеваний.

## References

- Ambinder, R. F. Mononucleosis in the laboratory [Text] / R. F. Ambinder, L. Lin // *J. Infect. Dis.* – 2005. – V. 192. – P.1503–04.
- Kieff, E. The biology and chemistry of Epstein-Barr virus [Text] / E. Kieff // *J. Infect. Dis.* – 1982. – V. 146. – P.506–517.
- Adams, A. Replication of latent Epstein-Barr virus genomes [Text] / A. Adams // *J. Virol.* – 1987. – V. 61. – P.1743–1746.
- Young, L. S. Human herpesviruses biology, therapy, and immunoprophylaxis [Text] / L. S. Young, J. R. Arrand, P. G. Murray, A. Arvin, G. Campadelli-Fiume, E. Mocarski, P. S. Moore, B. Roizman, R. Whitley, K. Yamanishi [et al.] // Cambridge University Press. – 2007. – P. 461–489.
- Babcock, G. J. The expression pattern of Epstein-Barr virus latent genes in vivo is dependent upon the differentiation stage of the infected B cell [Text] / G. J. Babcock, D. Hochberg, A. D. Thorley-Lawson // *Immunity.* – 2000. – V. 13. – P.497–506.
- Nanbo, A. The coupling of synthesis and partitioning of ebv's plasmid replicon is revealed in live cells[Text] / A. Nanbo, A. Sugden; B. Sugden // *EMBO J.* – 2007. – V. 26. – P. 4252–62.
- Westhoff Smith, D. Potential cellular functions of Epstein-Barr Nuclear Antigen 1 (EBNA1) of Epstein-Barr Virus [Text] / D. Westhoff Smith, B. Sugden // *Viruses.* – 2013. – V. 16. № 5. – P.226–40.
- Wilson, J. B. Expression of epstein-barr virus nuclear antigen-1 induces b cell neoplasia in transgenic mice[Text] / J. B. Wilson, J. L. Bell, A. J. Levine // *EMBO J.* – 1996. – № 15. – P.3117–26.
- Drotar, M. E. Epstein-barr virus nuclear antigen-1 and myc cooperate in lymphomagenesis [Text] / M. E. Drotar, S. Silva; E. Barone, D. Campbell, P. Tsimbouri, J. Jurvansu, P. Bhatia, G. Klein, J. B. Wilson // *Int. J. Cancer.* – 2003. – № 106. – P.388–395.
- Gruhne, B. The epstein-barr virus nuclear antigen-1 promotes genomic instability via induction of reactive oxygen species [Text] / B. Gruhne, R. Sompallae, D. Marescotti; S. A. Kamranvar, S. Gastaldello; M. G. Masucci // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* – 2009. – № 106. – P. 2313–18.
- Tsimbouri, P. Bcl-x1 and rag genes are induced and the response to il-2 enhanced in emuebna-1 transgenic mouse lymphocytes [Text] / P. Tsimbouri, M. E. Drotar, J. L. Coy, J. B. Wilson // *Oncogene.* – 2002. – № 21. – P.5182–87.
- Robbiani, D. F. Aid is required for the chromosomal breaks in c-myc that lead to c-myc/igh translocations [Text] / D. F. Robbiani, A. Bothmer, E. Callen, B. Reina-San-Martin, Y. Dorsett, S. Difilippantonio, D. J. Bolland, H. T. Chen, A. E. Corcoran, A. Nussenzweig, [et al.] // *Cell.* – 2008. – № 135. – P.1028–38.
- Maier, S. Cellular target genes of Epstein-Barr virus nuclear antigen 2 [Text] / S. Maier, G. Staffler, A. Hartmann, J. Höck, K. Henning, K. Grabusic, R. Mailhammer, R. Hoffmann, M. Wilmanns, R. Lang, J. Mages, B. Kempkes // *J Virol.* – 2006. – V. 80. – № 19. – P.9761-71.
- Sung, N. S. EBNA-2 transactivates a lymphoid-specific enhancer in the *BamHI* C promoter of Epstein-Barr virus[Text] / N. S. Sung, S. Kenney, D. Gutsch, J. S. Pagano // *J. Virol.* – 1991. – № 65. – P.2164–69.
- Hayward, S. D. Viral interactions with the Notch pathway [Text] / S. D. Hayward // *Semin. Cancer Biol.* – 2004. – № 14. – P.387–396.
- Portal, D. Epstein-Barr virus nuclear antigen leader protein localizes to promoters and enhancers with cell transcription factors and EBNA2 [Text] / D. Portal, H. Zhou, B. Zhao, P. V. Kharchenko, E. Lowry, L. Wong, J. Quackenbush, D. Holloway, S. Jiang, Lu Y, E. Kieff // *Proc Natl Acad Sci U S A.* – 2013. – V. 12. – № 46. – P.18537–42.
- Tomkinson, B. Epstein-Barr virus nuclear proteins EBNA-3A and EBNA-3C are essential for B-lymphocyte growth transformation [Text] / B. Tomkinson, E. Robertson, E. Kieff // *J Virol.* – 1993. – № 67. – P.2014–25.
- Maruo, S. Epstein-Barr Virus nuclear protein EBNA3A is critical for maintaining lymphoblastoid cell line growth [Text] / S. Maruo, E. Johannsen, D. Illanes, A. Cooper, E. Kieff // *J Virol.* – 2003. – № 77. – P.10437–47.
- White, R. E. EBNA3B-deficient EBV promotes B cell lymphomagenesis in humanized mice and is found in human tumors [Text] / R. E. White, P. C. Ramer, K. N. Naresh, S. Meixlsperger, L. Pinaud [et al.] // *J Clin Invest.* – 2012. – № 122. – P.1487–1502.
- Bourillot, P. Y. Transcriptional repression by the Epstein-Barr virus EBNA3A protein tethered to DNA does not require RBP-Jkappa [Text] / P. Y. Bourillot, L. Waltzer, A. Sergeant, E. Manet // *J Gen Virol.* – 1998. – № 79. – P.363–370.
- Zhao, B. A conserved domain of the Epstein-Barr virus nuclear antigens 3A and 3C binds to a discrete domain of Jk [Text] / B. Zhao, D. M. Marshall, C. E. Sample // *J. Virol.* – 1996. – № 70. – P.4228–36.
- Robertson, E. S. The amino-terminal domains of Epstein-Barr virus nuclear proteins 3A, 3B, and 3C

- interact with RBPJ [Text] / E. S. Robertson, J. Lin, E. Kieff // *J. Virol.* – 1996. – № 70. – P.3068–74.
23. Bajaj, B. G. Epstein-Barr virus nuclear antigen 3C interacts with and enhances the stability of the c-Myc oncoprotein [Text] / B. G. Bajaj, M. Murakami, Q. Cai, S. C. Verma, K. Lan, E. S. Robertson // *J. Virol.* – 2008. – V. 82. – № 8. – P.4082–90.
24. Zhao, B. Epstein-Barr virus nuclear antigen 3C regulated genes in lymphoblastoid cell lines [Text] / B. Zhao, J. C. Mar, S. Maruo, S. Lee, B. E. Gewurz, E. Johannsen, K. Holton, R. Rubio, K. Takada, J. Quackenbush, E. Kieff // *Proc Natl Acad Sci U S A.* – 2011. – V. 108. – № 1. – P.337–342.
25. Swart, R. Latent membrane protein 2A-mediated effects on the phosphatidylinositol 3-kinase/Akt pathway [Text] / R. Swart, I. K. Ruf, J. Sample, R. Longnecker // *J. Virol.* – 2000. – № 74. – P.10838–45.
26. Bultema, R. Epstein-Barr virus LMP2A accelerates MYC-induced lymphomagenesis [Text] / R. Bultema, R. Longnecker, M. Swanson-Mungerson // *Oncogene.* – 2009. – V. 19. – № 28. – P.1471–76.
27. Engels, N. Epstein-Barr virus LMP2A signaling in statu nascendi mimics a B cell antigen receptor-like activation signal [Text] / N. Engels, G. Yigit, C. H. Emmerich, D. Czesnik, D. Schild, J. Wienands // *Cell Commun Signal.* – 2012. – V. 3. – № 10. – P. 9.
28. Miller, C. L. An integral membrane protein (LMP2) blocks reactivation of Epstein-Barr virus from latency following surface immunoglobulin crosslinking [Text] / C. L. Miller, J. H. Lee, E. Kieff, R. Longnecker // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* – 1994. – № 91. – P.772–76.
29. Rechsteiner, M. P. Latent membrane protein 2B regulates susceptibility to induction of lytic Epstein-Barr virus infection [Text] / M. P. Rechsteiner, C. Berger, L. Zauner, J. A. Sigrist, M. Weber, R. Longnecker, M. Bernasconi, D. Nadal // *J. Virol.* – 2008. – V. 82. – № 4. – P.1739–47.
30. Rastelli, J. LMP1 signaling can replace CD40 signaling in B cells in vivo and has unique features of inducing class-switch recombination to IgG1 [Text] / J. Rastelli [et al.] // *Blood.* – 2008. – № 111. – P.1448–55.
31. Graham, J. P. Differential B-lymphocyte regulation by CD40 and its viral mimic, latent membrane protein 1 [Text] / J. P. Graham, K. M. Arcipowski, G. A. Bishop // *Immunol. Rev.* – 2010. – № 237. – P.226–48.
32. Pratt, Z. L. The latent membrane protein 1 (LMP1) oncogene of Epstein-Barr virus can simultaneously induce and inhibit apoptosis in B cells [Text] / Z. L. Pratt, J. Zhang, B. Sugden // *J. Virol.* – 2012. – V. 86. – № 8. – P.4380–93.
33. Kim, J. H. Epstein-Barr virus latent membrane protein 1 increases genomic instability through Egr-1-mediated up-regulation of activation-induced cytidine deaminase in B-cell lymphoma [Text] / J. H. Kim, W. S. Kim, C. Park // *Leuk Lymphoma.* – 2013. – V. 54. – № 9. – P.2035–40.
34. Odumade, O. A. Progress and problems in understanding and managing primary Epstein-Barr virus infections [Text] / O. A. Odumade, K. A. Hogquist, H. H. Balfour // *Clin Microbiol Rev.* – 2011. – № 24. – P.193–209.
35. Laichalk, L. L. Terminal differentiation into plasma cells initiates the replicative cycle of Epstein-Barr virus in vivo [Text] / L. L. Laichalk, D. A. Thorley-Lawson // *Journal of Virology.* – 2005. – V. 79. – № 2. – P.1296–07.
36. Luka, J. Induction of the Epstein-Barr virus (EBV) cycle in latently infected cells by n-butyrate [Text] / J. Luka, B. Kallin, G. Klein // *Virology.* – 1979. – № 94. – P.228–31.
37. Takada, K. Synchronous and sequential activation of latently infected Epstein-Barr virus genomes [Text] / K. Takada, Y. Ono // *J. Virol.* – 1989. – № 63. – P.445–49.
38. Fahmi, H. Transforming growth factor beta 1 stimulates expression of the Epstein-Barr virus BZLF1 immediate-early gene product ZEBRA by an indirect mechanism which requires the MAPK kinase pathway [Text] / H. Fahmi, C. Cochet, Z. Hmama, P. Opolon, I. Joab // *J. Virol.* – 2000. – № 74. – P.5810–18.
39. Shirley, C. M. 2011. Bortezomib induction of C/EBPbeta mediates Epstein-Barr virus lytic activation in Burkitt lymphoma [Text] / C. M. Shirley [et al.] // *Blood.* – № 117. – P.6297–03.
40. Ben-Sasson, S. A. Activation of the Epstein-Barr virus genome by 5-aza-cytidine in latently infected human lymphoid lines [Text] / S. A. Ben-Sasson, G. Klein // *Int. J. Cancer.* – 1981. – № 28. – P.131–35.
41. Westphal, E. M. Activation of lytic Epstein-Barr virus (EBV) infection by radiation and sodium butyrate in vitro and in vivo: a potential method for treating EBV-positive malignancies [Text] / E. M. Westphal, W. Blackstock, W. Feng, B. Israel, S. C. Kenney // *Cancer Res.* – 2000. – № 60. – P.5781–88.
42. Feng, W. H. Chemotherapy induces lytic EBV replication and confers ganciclovir susceptibility to EBV-positive epithelial cell tumors [Text] / W. H. Feng, B. Israel, N. Raab-Traub, P. Busson, S. C. Kenney // *Cancer Res.* – 2002. – № 62. – P.1920–26.
43. Amon, W. Reactivation of Epstein-Barrvirus from latency [Text] / W. Amon, P. J. Farrell // *Rev. Med. Virol.* – 2005. – № 15. – P.149–156.
44. Altmann, M. Epstein-Barr virus provides a new paradigm: A requirement for the immediate inhibition of apoptosis [Text] / M. Altmann, W. Hammerschmidt // *PLoS Biol.* – 2005. – V. 3. – № 12. – P.404.
45. Speck, P. Epstein-Barr virus entry into cells [Text] / P. Speck, K. M. Haan, R. Longnecker. // *Virology.* – 2000. – № 277. – P.1–5.
46. Thorley-Lawson, D. A. Persistence of the Epstein-Barr virus and the origins of associated lymphomas [Text] / D. A. Thorley-Lawson, A. Gross // *The New England Journal of Medicine.* – 2004. – № 350. – P.1328–37.
47. Hadinoto, V. The dynamics of EBV shedding implicate a central role for epithelial cells in amplifying viral output [Text] / V. Hadinoto, M. Shapiro, C. C. Sun, D. A. Thorley-Lawson. // *PLoS Pathogens.* – 2009. – V. 5. – № 7. – P.496.
48. Al Tabaa, Y. Functional Epstein-Barr virus reservoir in plasma cells derived from infected peripheral blood memory B cells [Text] / Y. Al Tabaa, E. Tuaille, K. Bollere, V. Foulongne, G. Petitjean, J. M. Seigneurin, C.

- Duperray, C. Desgranges, J. P. Vendrell // *Blood*. – 2009. – V. 15. – № 113. – P.604–11.
49. Tattevin, P. Increasing incidence of severe Epstein-Barr virus-related infectious mononucleosis: surveillance study [Text] / P. Tattevin, Y. Le Tulzo, S. Minjolle [et al.] // *Journal of Clinical Microbiology*. – 2006. – V. 44. – № 5. – P.1873–74.
50. Robinson, R. G. Abdominal complications of infectious mononucleosis [Text] / R. G. Robinson // *J. Am. Board Fam. Pract.* – 1988. – № 1 – P. 207–210.
51. White, L. R. Review of the clinical manifestations, laboratory findings, and complications of infectious mononucleosis [Text] / L. R. White, P. S. Karofsky // *Wis. Med. J.* – 1985. – № 84. – P.19–25.
52. Jenson, H. B. Acute complications of Epstein-Barr virus infectious mononucleosis [Text] / H. B. Jenson // *Curr. Opin. Pediatr.* – 2000. – № 12. – P.263–268.
53. Hoagland, R. J. Splenic rupture in infectious mononucleosis [Text] / R. J. Hoagland, H. M. Henson // *Ann. Intern. Med.* – 1957. – № 46. – P.1184–91.
54. Loren, A. W. Posttransplant lymphoproliferative disorder: a review [Text] / A. W. Loren, D. L. Porter, E. A. Stadtmauer, D. E. Tsai // *Bone Marrow Transplant.* – 2003. – № 31. – P.145–155.
55. Kapatai, G. Contribution of the Epstein Barr virus to the molecular pathogenesis of Hodgkin lymphoma [Text] / G. Kapatai, P. Murray // *J Clin Pathol.* – 2007. – V. 60. № 12. – P.1342–9.
56. Bornkamm, G. W. Epstein-Barr virus and its role in the pathogenesis of Burkitt's lymphoma: an unresolved issue [Text] / G. W. Bornkamm // *Semin Cancer Biol.* – 2009. – V. 19. – № 6. – P.351–365.
57. Kimura, H. Pathogenesis of chronic active Epstein-Barr virus infection: is this an infectious disease, lymphoproliferative disorder, or immunodeficiency? [Text] / H. Kimura // *Rev. Med. Virol.* – 2006. – № 16. – P.251–261.
58. Okano, M. Severe chronic active Epstein-Barr virus infection syndrome [Text] / M. Okano [et al.] // *Clin. Microbiol. Rev.* – 1991. – № 4. – P.129–135.
59. Kimura, H. Clinical and virologic characteristics of chronic active Epstein-Barr virus infection [Text] / H. Kimura [et al.] // *Blood*. – 2001. – № 98. – P.280–286.
60. Okano, M. Epstein-Barr virus and human diseases: recent advances in diagnosis [Text] / M. Okano, G. M. Thiele, J. R. Davis, H. L. Grierson, D. T. Purtilo // *Clin. Microbiol. Rev.* – 1988. – № 1. – P.300–312.
61. Iwata, S. Quantitative analysis of Epstein-Barr virus (EBV)-related gene expression in patients with chronic active EBV infection [Text] / S. Iwata, K. Wada, S. Tobita, K. Gotoh, Y. Ito, A. Demachi-Okamura, N. Shimizu, Y. Nishiyama, H. Kimura // *J Gen Virol.* – 2010. – V. 91. – № 1. – P.42–50.
62. Gotoh, K. Clinical and virological characteristics of 15 patients with chronic active Epstein-Barr virus infection treated with hematopoietic stem cell transplantation [Text] / K. Gotoh [et al.] // *Clin. Infect. Dis.* – 2008. – № 46. – P.1525–34.
63. Cohen, J. I. Optimal treatment for chronic active Epstein-Barr virus disease [Text] / J. I. Cohen // *Pediatr. Transplant.* – 2009. – № 13. – P.393–396.
64. Gross, A. J. EBV and systemic lupus erythematosus: a new perspective [Text] / A. J. Gross, D. Hochberg, W. M. Rand, D. A. Thorley-Lawson // *Journal of Immunology.* – 2005. – V. 174. – № 11. – P.6599–07.
65. Lu, J. J.-Y. Association of Epstein-Barr virus infection with systemic lupus erythematosus in Taiwan [Text] / J. J.-Y. Lu, D.-Y. Chen, C.-W. Hsieh, J.-L. Lan, F.-J. Lin, S.-H. Lin // *Lupus.* – 2007. – V. 16. – № 3. – P.168–175.
66. Poole, B. D. Aberrant Epstein-Barr viral infection in systemic lupus erythematosus [Text] / B. D. Poole, A. K. Templeton, J. M. Guthridge, E. J. Brown, J. B. Harley, J. A. James // *Autoimmunity Reviews.* – 2009. – V. 8. – № 4. – P.337–342.
67. Takei, M. Detection of Epstein-Barr virus-encoded small RNA 1 and latent membrane protein 1 in synovial lining cells from rheumatoid arthritis patients [Text] / M. Takei, K. Mitamura, S. Fujiwara [et al.] // *International Immunology.* – 1997. – V. 9. – № 5. – P.739–743.
68. Balandraud, N. Epstein-Barr virus load in the peripheral blood of patients with rheumatoid arthritis: accurate quantification using real-time polymerase chain reaction [Text] / N. Balandraud, J. B. Meynard, I. Auger [et al.] // *Arthritis and Rheumatism.* – 2003. – V. 48. – № 5. – P.1223–28.
69. Croia, C. Epstein-Barr virus persistence and infection of autoreactive plasma cells in synovial lymphoid structures in rheumatoid arthritis [Text] / C. Croia, B. Serafini, M. Bombardieri [et al.] // *Annals of the Rheumatic Diseases.* – 2012.
70. Jason, L. A. Pediatric Myalgic Encephalomyelitis/Chronic Fatigue Syndrome [Text] / L. A. Jason, K. Barker, A. Brown // *Rev Health Care.* – 2012. – V. 1. – №3. – P. 257-270.
71. Loebel, M. Deficient EBV-Specific B- and T-Cell Response in Patients with Chronic Fatigue Syndrome [Text] / M. Loebel, K. Strohschein, C. Giannini, U. Koelsch, S. Bauer [et al.] // *PLoS ONE.* – 2014. – V. 9. – № 1. – P.853-887.
72. Glaser, R. Stress-associated changes in the steady-state expression of latent Epstein-Barr virus: implications for chronic fatigue syndrome and cancer [Text] / R. Glaser, D. A. Padgett, M. L. Litsky, R. A. Baiocchi, E. V. Yang // *Brain Behav Immun.* – 2005. – № 19. – P.91–103.
73. Lerner, A. M. Subset-directed antiviral treatment of 142 herpesvirus patients with chronic fatigue syndrome [Text] / A. M. Lerner, S. H. Beqaj, J. T. Fitzgerald, K. Gill, C. Gill [et al.] // *Virus Adaptation and Treatment.* – 2010. – № 2. – P.47–57.
74. Sairenji, T. Antibody responses to Epstein-Barr virus, human herpesvirus 6 and human herpesvirus 7 in patients with chronic fatigue syndrome [Text] / T. Sairenji, K. Yamanishi, Y. Tachibana, G. Bertoni, T. Kurata // *Intervirology.* – 1995. – № 38. – P.269–273.
75. Kawai, K. Studies on the relationship between chronic fatigue syndrome and Epstein-Barr virus in Japan [Text] / K. Kawai, A. Kawai // *Intern Med.* – 1992. – № 31. – P.313–318.

76. Ariza, M. E. Epstein-Barr Virus Encoded dUTPase Containing Exosomes Modulate Innate and Adaptive Immune Responses in Human Dendritic Cells and Peripheral Blood Mononuclear Cells [Text] / M. E. Ariza, P. Rivaille, R. Glaser, M. Chen, M. V. Williams // *PLoS ONE*. – 2013. – V. 8. – № 7. – P.698-727.

77. Lerner, A. M. Antibody to Epstein-Barr Virus Deoxyuridine Triphosphate Nucleotidohydrolase and Deoxyribonucleotide Polymerase in a Chronic Fatigue Syndrome Subset [Text] / A. M. Lerner, M. E. Ariza, M. Williams, L. Jason, S. Beqaj // *PLoS ONE*. – 2012. – V. 7. – № 11. – P.478-491.

78. Kogelnik, A. M. Use of valganciclovir in patients with elevated antibody titers against Human Herpesvirus-6 (HHV-6) and Epstein-Barr Virus (EBV) who were experiencing central nervous system dysfunction including long-standing fatigue [Text] / A. M. Kogelnik, K. Loomis, M. Hoegh-Petersen, F. Rosso, C. Hischier [et al.] // *J Clin Virol*. – 2006. – V. 37. – № 1. – P. 33–38.

**UDC 578.2:578.825.13:578.23**

**THE MOLECULAR MECHANISMS OF EPSTEIN-BARR VIRUS PERSISTENCE IN THE HUMAN ORGANISM**

**Volyanskiy AYu, Kolotova T Yu, Romanova EA, Sidorenko TA, Igumnova NI, Konoreva ES, Yukhimenko VI, Kabluchko TV, Pogorila MS.**

This review describes advances in molecular aspects of EBV infection and disease. We discuss the spectrum of clinical illness due to EBV persistent infection. The main characteristic of Epstein-Barr virus (EBV) is that initial infection results in lifelong persistence. EBV infects nearly all humans by the time they reach adulthood. Healthy humans have approximately 1 to 50 infected cells per million leukocytes. EBV is one of the eight known human herpesviruses. EBV virions have a double-stranded linear DNA and 100 genes had been described in virus genome. Initial infection is thought to occur in the oral compartment. The host cells of EBV are mainly lymphocytes and epithelial cells. EBV attaches to B cells via binding of the viral gp350 protein to CD21 receptor. The consequence of EBV infection is cells proliferation and differentiation into memory B lymphocyte in the germinal center. Infected memory B cells are released into the peripheral circulation. EBV persists mostly in the memory B cell. Latency is the state of persistent viral infection without active viral production. In latently infected B cells EBV virus exist as episomes. During the latent phase episomal replication occurs via host DNA polymerase. Genes of the nuclear antigens (EBNA) and latent membrane proteins (LMP) are transcribed during latency. These include EBNA1, EBNA2, EBNA3A, EBNA3B, EBNA3C, EBNA leader protein (EBNALP), LMP1 and LMP2 genes. All nuclear antigens are transcription transactivators which bind to cis-regulatory DNA elements of cell or virus genomes directly or in complex with other proteins. LMP2A and LMP1 can function to coordinately mimic B-cell receptor and CD40 coreceptor signaling in latently infected B cells. LMP

proteins activate cell signaling systems and as the consequence different gene expression programs. Characterization of gene expression patterns in different cell lines and pathologic conditions has revealed that there are at least three different latency programs. During I phase of latency latent EBV genomes can multiply in dividing memory B cells, during II phase of latency virus can induce and modulate B-cell differentiation, during III phase of latency virus can activate proliferation of the naïve B cells, during 0 phase of latency virus completely down regulates expression all protein coding genes. Latently infected B cells can occasionally be stimulated to reactivate EBV. Viral proteins BZLF1 and BRLF1 act as transactivators of the viral lytic program. The early reactivated virus gene products have such function as replication, metabolism and blockade of antigen processing. DNA polymerase replicates linear viral genome during the lytic phase. The late products code the structural proteins such as the viral capsid antigens (VCA) and gene products used for immune evasion. In healthy carriers virus exists in resting memory B lymphocytes in 0 phase of latency. The intensive virus reactivation in lytic replication phase or virus persistence in I, II and III latent phases promotes the development of such disease as lymphomas, rheumatoid arthritis, systemic erythematous lupus, chronic fatigue syndrome, etc.

EBNA1 is expressed in the type I latency program, which is active in Burkitt's lymphoma. EBNA1 and LMP1/2 are expressed in the type II latency program, which is observed in Hodgkin's lymphoma. LMP1 and LMP2 expression activate proliferation program in the cell. The type III latency program, in which all of the latency gene products are expressed, is often detected during acute infectious mononucleosis or in virus infected B cell line and in immunocompromised individuals after tissue transplantation. Immunodeficiency-related B-cell posttransplant lymphoproliferative disorders (PTLDs) are caused directly by EBV

Chronic active EBV (CAEBV) infection develops due to the inappropriate viral load. This disease is characterized by chronic infectious mononucleosis-like symptoms with illness lasting for 6-24 months and in the course of the disease lymphoproliferative disorders like T or NK cell lymphomas may arise. The determined pattern of latent gene expression during CAEBV is latency type II. In this review we sum up the existing data linking EBV with rheumatoid arthritis and systemic erythematous lupus. SLE patients have abnormally high expression of several viral mRNAs coding for BZLF1, gp350, viral IL10, LMP1, LMP2 and EBNA1. So during this pathology EBV persists in lytic and in latent phases. Also it has been demonstrated the humoral response to both latent and lytic EBV antigens in both sera and synovial fluids from patients with rheumatoid arthritis. Chronic Fatigue Syndrome (CFS) is characterized by severe fatigue with typical, cognitive dysfunctions and flu-like symptoms. Numerous studies find evidence for an association of CFS with EBV. In a subset of patients CFS begins with infectious mononucleosis. Elevated antibodies against EBV dUTPase and DNA polymerase

has been found in CFS patients but not in controls  
Consistent with these data, elevated titers antibodies to  
ZEBRA detected in CFS patients. These data suggest that  
during CFS virus reactivate and enter in lytic replication.  
But according to other reports EBV virus in CFS patients  
replicates only latently.

So, in the articles we summarized the data which  
reveal the connection between the disease development,  
phase of persistence and the program of gene expression.  
**Key words:** Epstein-Barr virus, persistence, virus lytic  
replication, phase of latency, chronic active EBV  
infection.