

СПОСОБСТВУЮТ ЛИ МУТАЦИЯ В ГЕНОМЕ ВИРУСА ЭПШТЕЙНА-БАРРА К ИЗМЕНЕНИЮ ТЕЧЕНИЯ ЗАБОЛЕВАНИЮ

Научный руководитель: Мирзаева М.А.

Профессор, заведующая кафедры Микробиологии

ТашПМИ Выполнил:

Омонов Мадорбек Ойбекович

Студент 3 курса Ташкентского Педиатрического

Медицинского Института г. Ташкент

Аннотация: Большая часть населения земного шара инфицирована вирусом Эпштейна-Барр (ВЭБ), но частота заболеваний, связанных с ВЭБ-инфекцией, сильно различается в разных частях мира. Эти различия могут определяться многими факторами, но вариации в геноме вируса, вероятно, являются фактором, способствующим возникновению некоторых заболеваний. Здесь мы рассмотрим основные формы изменчивости последовательности генома ВЭБ и механизмы, с помощью которых вариации в геноме вируса могут способствовать заболеванию, и попытаемся дать ответ на главный вопрос: Действительно мутации могут изменить течения заболевания ?.И поднимем вопрос об иммунизации, так как делеции или полиморфизмы генома EBV также могут служить полезными маркерами для мониторинга заболевания. Если некоторые штаммы ВЭБ оказываются более патогенными, чем другие, это свидетельствует о возможной ценности иммунизации людей против заражения этими патогенными штаммами.

Ключевые слова: вирус Эпштейна-Барр, иммунизация, мутация, мониторинг.

Введение: Большинство людей заражаются вирусом Эпштейна-Барр в раннем возрасте без каких-либо симптомов. Как и все герпесвирусы, ВЭБ может инфицировать клетки на периферии организма, что делает возможной передачу инфекции, но также может инфицировать другой тип клеток, где происходит латентная (неактивная, непродуктивная, персистирующая) инфекция. Для ВЭБ передача происходит через слюну (например, при поцелуях), при этом вирус, возможно, ненадолго реплицируется в эпителиальных клетках рта или горла. Затем это дает доступ к основным клеткам-мишеням, которые представляют собой В-лимфоциты, наиболее вероятно встречающиеся в миндалинах или других лимфоидных органах ротоглотки. Инфицированные В-лимфоциты активируются и пролиферируют, но затем могут дифференцироваться в В-клетки памяти, в которых ВЭБ латентно персистирует

in vivo. Первичная инфекция обычно контролируется иммунным ответом хозяина, который вызывает реакцию естественных клеток-киллеров (NK) и цитотоксических Т-клеток, которые разрушают В-клетки, инфицированные EBV, в дополнение к антителам, нацеленным на многие вирусные белки. В отличие от младенцев (у которых не проявляются явные симптомы), люди, заразившиеся в подростковом или взрослом возрасте, могут страдать инфекционным мононуклеозом; их воспалительные симптомы коррелируют с повышенным ответом Т-клеток CD8 против вируса. Обычно эти симптомы исчезают через несколько недель или месяцев, и выздоровевший пациент (или бессимптомно инфицированный ребенок) является носителем вируса до конца жизни. Люди выделяют инфекционный вирус со слюной в различных количествах с течением времени и поддерживают долгосрочный иммунный ответ, включая антитела к вирусному белку EBNA1 и Т-клетки памяти, которые могут воздействовать на несколько антигенов EBV. Инфицирование В-лимфоцитов сопровождается экспрессией набора вирусных генов, кодирующих белки (различные EBNA и LMP), двух функциональных малых РНК (EBER) и множества вирусных микроРНК. EBNA представляют собой ядерные антигены Эпштейна-Барра — EBNA1, EBNA2, EBNA3A, B, C и EBNA-LP; эти белки способствуют активации, пролиферации и выживанию инфицированной клетки и поддерживают вирусный геном в виде мультикопийной эписомы в ядре клетки. В культуре клеток инфицированные ВЭБ первичные В-клетки неограниченно растут в виде лимфобластоидных клеточных линий (ЛКЛ). Таким образом, вместе вирусные белки EBNA и LMP заставляют клетки вести себя так, как если бы они были активированы путем связывания родственного им антигена. Хотя у большинства инфицированных людей никогда не будет никаких симптомов или заболеваний, связанных с инфекцией ВЭБ, существует множество заболеваний, в которых ВЭБ играет важную роль. Способность продуктов гена EBV вызывать пролиферацию клеток, предотвращать апоптоз или уклоняться от иммунитета связывает вирус с некоторыми из этих заболеваний.

Понимание изменчивости генома EBV быстро прогрессировало за последние 10 лет с момента разработки метода секвенирования обогащения гибридов. Этот метод позволяет проводить специфическую очистку ДНК ВЭБ, присутствующей в клетках в культуре или клинических образцах, для секвенирования с использованием стандартных методов. В настоящее время в Genbank имеется более 1000 последовательностей генома ВЭБ, полученных как от здоровых людей, так и от многих заболеваний, связанных с инфекцией ВЭБ, с представительствами из многих частей мира. У здоровых носителей вируса и в большинстве случаев заболеваний, связанных с ВЭБ, вирусный геном

оказывается интактным (без явных делеций или перестроек). Однако есть некоторые примеры делеций, которые, по-видимому, имеют отношение к заболеванию: они могут указывать на механизмы, вызывающие заболевание. ДНК-вирусы, такие как EBV, обычно имеют довольно стабильные последовательности генома, но существуют некоторые различия между различными частями мира, которые могут иметь отношение к различным географическим случаям заболеваний, связанных с EBV. Имеются данные о рекомбинации вируса в EBV, но трудно определить эволюционные линии EBV из-за неравномерного распределения полиморфизмов и межштаммовой рекомбинации. Классификация ВЭБ на штаммы типа 1 и типа 2, а также некоторые признаки географической изменчивости последовательности вирусного генома типа 1 известны с 1980-х годов. Однако значительно возросшее количество последовательностей в последние годы позволило построить множественное выравнивание последовательностей 241 последовательности генома ВЭБ, которое использовалось для более четкого определения основы этих классификаций. Сравнение однонуклеотидных полиморфизмов (SNP) между штаммами EBV типа 1 и EBV типа 2 подтвердило, что различия в основном заключаются в генах EBNA2 и EBNA3. В области генома вокруг EBNA2 различия ограничиваются областью между двумя последними кодирующими экзонами EBNA-LP (экзоны Y) и кодирующей белок последовательностью EBNA2. Большой внутренний повтор (IR1), расположенный непосредственно выше по течению, и нижележащая повторяющаяся последовательность, кодирующая BHLF1 (называемая IR2 или повтором Not I), не могут быть использованы для отличия EBV типа 1 от EBV типа 2. В локусе EBNA3 различия между типами 1 и 2 распространяются на соседние вирусные гены. Интересно, что они кодируют два гликопротеина на поверхности вирусной частицы (gp350 и gp42), которые опосредуют связывание с рецепторами EBV, обнаруженными на В-клетках CD21 и MHC класса II соответственно. EBNA2 действует как активатор транскрипции, включая клеточные и вирусные гены, необходимые для роста клеток. Было показано, что один очевидный контрпример этому, где EBNA2 приводит к подавлению клеточного фактора СИТА (который вызывает экспрессию MHC класса II), является следствием активации EBNA2 соседнего клеточного гена DEX1 с последующей реорганизацией клеточный хроматин косвенно приводит к подавлению СИТА. Гены EBNA3 также контролируют экспрессию клеточных генов, но имеют более сложные механизмы действия, которые включают репрессию или активацию многих клеточных генов. Самое известное биологическое различие между EBV типа 1 и типа 2 заключается в том, что штаммы типа 1 лучше трансформируют В-клетки в LCL, чем штаммы типа 2

. Замена EBNA2 штамма типа 2 на EBNA2 типа 1 достаточна для преобразования активности трансформации В-клеток штамма типа 2 в активность штамма типа 1. Хотя аминокислотные последовательности EBNA2 типа 1 и типа 2 идентичны только примерно на 50%, ключевой фактор, определяющий превосходную способность EBNA2 типа 1 поддерживать рост LCL, был картирован в нескольких аминокислотах в трансактивационном домене. Эти аминокислоты контролируют взаимодействие с клеточным белком BS69 (также называемым ZMYND11), который в норме имеет тенденцию ингибировать трансактивацию функции EBNA2. Существует дополнительный сайт связывания BS69 в EBNA2 типа 2, который, следовательно, более эффективно ингибируется BS69, чем EBNA2 типа 1. Функция EBNA2 также регулируется CDK1- и PLK1-зависимым фосфорилированием в С-концевой части белка, вблизи трансактивационного домена. Аминокислоты EBNA2, которые фосфорилируются CDK1 и PLK1, сохраняются в EBNA2 типа 1 и типа 2, но в настоящее время неизвестно, может ли дифференциальное связывание BS69 модулировать фосфорилирование EBNA2.

Хотя гомологичная рекомбинация, по-видимому, происходит в большинстве частей вирусного генома, обнаруживаемая, когда клетки инфицированы двумя или более штаммами EBV, локусы EBNA2 и EBNA3 сохраняют свою идентичность типа 1 или типа 2 у встречающихся в природе штаммов. Считается, что это связано с тем, что последовательности EBNA2 и EBNA3 достаточно различаются между двумя типами, чтобы предотвратить гомологичную рекомбинацию в этих генах. Интересно, что межтипичные рекомбинанты (например, вирус с EBNA2 типа 2 и EBNA3 типа 1) встречаются редко, предполагая, что может также существовать некоторая функциональная совместимость, необходимая для взаимодействия между белками EBNA2 и EBNA3 одного и того же типа, которые отбирают такие рекомбинанты. Это может согласовываться с белками EBNA2 и EBNA3, которые оба связаны с ДНК посредством их взаимодействия с RBPJ (также называемым CBF1). Анализ иммунопреципитации хроматина (ChIP) показал, что они часто связываются со многими из одних и тех же локусов генов в геноме человека.

ВЭБ типа 1 встречается гораздо чаще, чем тип 2, в большинстве частей мира, но в некоторых частях Центральной Африки (например, в Кении) распространенность ВЭБ типа 1 и типа 2 примерно одинакова. Также известно, что некоторые другие тропические регионы мира имеют значительные уровни EBV типа 2, например, Папуа-Новая Гвинея. Как возникли и диверсифицировались типы, неизвестно, но, учитывая его широкое распространение в тропиках, возможно, что ВЭБ типа 2 нашел некоторое историческое селективное преимущество в иммунном состоянии людей,

которые хронически подвержены инфекциям, например, эндемической малярии. или другие тропические болезни. Известно, что штаммы ВЭБ типа 1 эффективно трансформируют покоящиеся В-клетки, но не экзогенно активированные В-клетки. Активность ВЭБ 2 типа в этом сравнении еще не исследовалась. Хотя самая высокая заболеваемость ВЭБ 2-го типа наблюдается у чернокожих африканцев, этническая принадлежность не является определяющим фактором, определяющим типоспецифическую инфекцию: при опросе студентов университетов в Лондоне было обнаружено несколько явных примеров того, что белые британцы выделяют ВЭБ 2-го типа.

Индукция цикла литического репликации инициируется активацией экспрессии гена BZLF1 ВЭБ через его промотор Zp. Белок BZLF1 (также называемый в некоторых публикациях Zta или ZEBRA) является фактором транскрипции. Он включает ранние гены литического цикла ВЭБ, продукты которых опосредуют репликацию вирусной ДНК, что затем позволяет производить новые вирусные частицы. Наиболее эффективным и физиологически значимым механизмом индукции литического цикла EBV из латентного периода является передача сигнала от В-клеточного рецептора (BCR). Этот процесс можно легко активировать в клеточной культуре путем перекрестного связывания BCR на клеточной поверхности некоторых клеточных линий лимфомы Беркитта с использованием подходящего изотип-специфического антитела, например, в клеточной линии лимфомы Аката-Беркитта (которая содержит EBV), который активируется трансдукцией сигнала BCR. Этот полиморфизм V3 присутствует во всех штаммах EBV типа 2 и примерно в 50% штаммов EBV типа 1, включая Akata EBV. LCL, содержащие EBV типа 2, также имеют более высокую экспрессию NF-AT, поэтому все это приводит к тому, что LCL EBV типа 2 имеют более спонтанную литическую репликацию EBV, чем LCL EBV типа 1. Выделение ДНК EBV в слюне не было обнаружено выше у людей с SNP V3 EBV типа 1, но возможно, что SNP V3 может повышать уровни EBV (или экспрессию гена литического цикла EBV) *in vivo*, в некоторых случаях. места в теле.

Вакцинация: В прошлом в большинстве попыток иммунизации против EBV использовались иммуногенные части поверхностного гликопротеина gp350 EBV, поскольку антитела к gp350 могут нейтрализовать инфекцию в клеточной культуре. Важное раннее клиническое испытание вакцины gp350 на здоровых EBV-негативных людях включало иммунизацию половины группы, в то время как остальные получали плацебо. За здоровьем участников следили в течение 19 месяцев, наблюдая за результатами, пока люди вели свою обычную жизнь и общались. В иммунизированной группе снизилась частота инфекционного мононуклеоза, но не было снижения бессимптомной ВЭБ-инфекции. В

настоящее время признано, что антитела к gH/gL и gp42 также могут нейтрализовать инфекцию. Поэтому разрабатываются новые клинические испытания с использованием улучшенных составов gp350 наряду с некоторыми из этих дополнительных гликопротеинов.

Вывод: Улучшенное секвенирование ДНК ВЭБ непосредственно из клинических образцов с использованием метода гибридного обогащения позволило лучше понять изменчивость генома вируса, а также делеции и полиморфизмы, связанные с некоторыми заболеваниями, вызванными ВЭБ. Это помогает сосредоточить исследования на вирусных генах, которые важны для болезней, и механизмов этих болезней. В принципе, ПЦР для выявления делеций генома ВЭБ можно использовать для мониторинга нагрузки болезни (например, при некоторых НКТ-лимфомах), но разные делеции в каждом случае снижают удобство этого подхода. Чтобы связь между изменчивостью последовательности и заболеванием была убедительной, необходимы как эпидемиологическая связь, так и механизм.

Используемая литература

1. Джаясурия С., де Сильва Т.И., Нджи-Джобе Дж., Саньян С., Лиз А.М., Белл А.И., Маколей К.А., Янчун П., Лонг Х.М., Донг Т. и др. Ранние вирусологические и иммунологические события при бессимптомной инфекции вирусом Эпштейна-Барр у африканских детей. *PLoS Патог.* 2015 г.; 11 :e1004746. doi: 10.1371/journal.ppat.1004746.
2. Hadinoto V., Shapiro M., Sun CC, Thorley-Lawson DA Динамика выделения EBV указывает на центральную роль эпителиальных клеток в усилении вирусной активности. *PLoS Патог.* 2009 г.; 5 :e1000496. doi: 10.1371/journal.ppat.1000496
3. Фаррелл П.Дж. Вирус Эпштейна-Барр и рак. *Анну. Преподобный Патол.* 2019; 14 : 29–53. doi: 10.1146/annurev-pathmechdis-012418-013023.