DOI: 10.32364/2587-6821-2020-4-3-148-154

Современные представления о вирусе Эпштейна — Барр и его роли в развитии злокачественных процессов

Д.А. Хланта¹, Н.А. Хланта¹, Т.Г. Федоскова², Т.И. Гришина¹, Г.А. Филатова¹, Ю.Е. Лутковская¹, В.Н. Ларина¹

¹ФГБОУ ВО МГМСУ им. А.И. Евдокимова Минздрава России, Москва, Россия

²ФГБУ «ГНЦ Институт иммунологии» ФМБА России, Москва, Россия

РЕЗЮМЕ

Вирус Эпштейна — Барр (ВЭБ), относящийся к семейству герпес-вирусов (герпес 4-го типа), является первым вирусом, связь которого со злокачественными новообразованиями удалось доказать. ВЭБ способен поддерживать латентную инфекцию в организме человека, когда число вирусных копий небольшое и клетка не подвергается разрушению, с периодической реактивацией в течение всей жизни с момента инфицирования. В настоящее время признана ключевая и решающая роль ВЭБ в развитии множества заболеваний, таких как лимфома Ходжкина, лимфома Беркитта, карцинома желудка, носоглотки, агрессивный лейкоз. Ввиду отсутствия у многих таких заболеваний клинических проявлений на ранних их стадиях становится очевидной неэффективность стандартных методов диагностики у большинства пациентов.

Все чаще врачи многих специальностей, в т. ч. вирусологи, иммунологи, онкологи, инфекционисты, сталкиваются с развитием ассоциированного с вирусом онкологического процесса без выраженного иммунодефицита, что влечет углубленные исследования ВЭБ на молекулярном уровне. В настоящее время множество исследований проводится по поводу изучения маркеров и многих других показателей для осуществления ранней диагностики предракового процесса, в т. ч. в инфицированном ВЭБ организме.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: вирус Эпштейна — Барр, лимфома Ходжкина, лимфома Беркитта, карцинома желудка, карцинома носоглотки, диффузная В-клеточная крупноклеточная лимфома, агрессивный НК-клеточный лейкоз.

ДЛЯ ЦИТИРОВАНИЯ: Хланта Д.А., Хланта Н.А., Федоскова Т.Г. и др. Современные представления о вирусе Эпштейна — Барр и его роли в развитии злокачественных процессов. РМЖ. Медицинское обозрение. 2020;4(3):148–154. DOI: 10.32364/2587-6821-2020-4-3-148-154.

Epstein-Barr virus and its role in malignancies: state-of-the-art

D.A. Khlanta¹, N.A. Khlanta¹, T.G. Fedoskova², T.I. Grishina¹, G.A. Filatova¹, Yu.E. Lutkovskaya¹, V.N. Larina¹

¹A.I. Evdokimov Moscow University of Medicine and Dentistry, Moscow, Russian Federation

²NRC Institute of Immunology of the Russian Federal Medical Biological Agency, Moscow, Russian Federation

ABSTRACT

Epstein-Barr virus (EBV) belonging to a family of herpesviruses (human herpesvirus 4) is the first virus that has been linked to the development of malignancies. EBV persists as a latent infection characterized by low viral copy number without cell destruction and periodically reactivates throughout the life since the infection. Currently, the crucial role of EBV in the development of multiple diseases (i.e., Hodgkin lymphoma, Burkitt lymphoma, gastric carcinoma, nasopharyngeal carcinoma, aggressive NK-cell lymphoma etc.) is generally accepted. Many of these disorders are characterized by the lack of early signs. As a result, it is clear that standard diagnostic tools are ineffective in a majority of these patients.

Many healthcare professionals (e.g., virologists, immunologists, oncologists, infectious disease specialists etc.) increasingly face virus-associated cancers without significant immunodeficiency. This phenomenon entails in-depth molecular studies on EBV. A myriad of studies on diagnostic markers and other parameters to facilitate early diagnosis of precancerous conditions (including those that occur in EBV-infected individuals) are currently underway.

KEYWORDS: Epstein-Barr virus, Hodgkin lymphoma, Burkitt lymphoma, gastric carcinoma, nasopharyngeal carcinoma, diffuse large B-cell lymphoma, aggressive NK-cell lymphoma.

FOR CITATION: Khlanta D.A., Khlanta N.A., Fedoskova T.G. et al. Epstein-Barr virus and its role in malignancies: state-of-the-art. Russian Medical Inquiry. 2020;4(3):148–154. DOI: 10.32364/2587-6821-2020-4-3-148-154.

ВВЕДЕНИЕ

Вирус Эпштейна — Барр (ВЭБ) — ДНК-содержащий герпес-вирус, на поверхности оболочки которого располагается гликопротеиновый комплекс, предназначенный для прикрепления и проникновения через мембрану В-лимфоцитов (несут на своей поверхности рецепторы CD21) [1].

Первичное инфицирование ВЭБ, происходящее в детском возрасте, протекает бессимптомно, у взрослых же оно сопровождается развитием инфекционного мононуклеоза (ИМ). Первичная репликация происходит в эпителии слизистых и лимфоидных образований ротоглотки. После перенесенной первичной инфекции ВЭБ пожизненно персистирует в миндалинах, лимфатических узлах (ЛУ) и В-лимфоцитах [1].

Инфицирование ВЭБ

Процесс инфицирования на молекулярном уровне происходит при связывании оболочечного гликопротеида вируса gp350/220 с CD21 рецептором В-лимфоцита. Рецептор комплемента 2 типа (CR2), также находящийся на поверхности зрелого В-лимфоцита, образует комплекс с CD19 и CD81. Подобный комплекс CR2-CD19-CD81 называют В-лимфоцитарным корецепторным комплексом, поскольку CR2 прикрепляется к антигену (АГ), взаимодействуя с компонентом комплемента C3d (либо iC3d или C3dg), когда мембранный иммуноглобулин IgM связывается с АГ. Формирование комплекса на В-лимфоците приводит к значительному усилению ответа на АГ. На моделях *in vitro* эпителиально-клеточная инфекция предполагает интегрин-связывание через gH/gL димер вирусной оболочки, в то время как В-клеточный ответ инициируется через gp350, связывающийся с рецептором комплемента CR2 (CD21), и еще один гликопротеин gp42, связывающийся с HLA класса II [2]. Жизненный цикл ВЭБ состоит из 2 фаз: продуктивной, приводящей к лизису клетки-хозяина, и латентной, когда число вирусных копий небольшое и клетка не подвергается разрушению [3]. В ядре клетки-хозяина ДНК ВЭБ формирует кольцевую структуру — эписому, остающуюся в цитоплазме зараженного В-лимфоцита, или встраивается в геном, вызывая хромосомные нарушения; вследствие этих процессов происходит трансформация В-лимфоцитов в лимфобластные клеточные линии [4]. В В-клетках памяти экспрессия гена вируса ограничена некодирующей вирусной РНК (EBER, EBV-encoded small RNA) и правосторонне направленным BamA-транскриптом РНК (BART, Bam-HI A rightward transcript). Данный тип латенции обозначается как латенция 0 типа. Латенция I типа отличается дополнительной экспрессией ядерного АГ 1 типа (EBNA-1, EBV-nuclear antigen-1), а также экспрессией кодируемых ВЭБ РНК (EBER-1, EBER-2, BART). Латенция типа II характеризуется экспрессией вышеупомянутых EBER, BART и EBNA-1 и латентных мембранных белков (latent membrane protein, LMP) LMP-1, -2A, -2B. III тип характеризуется экспрессией EBNA-1, -2, -3, -4, -6, LMP-1, -2A, -2B, РНК EBER и BART. Типы латенции I и II представлены соответственно лимфомой Беркитта (ЛБ) EBNA1⁺ и лимфомой Ходжкина (ЛХ) EBNA1⁺, LMP1⁺, LMP2⁺. Данные типы следует рассматривать как крайние концы спектра, содержащего промежуточные формы. Например, в некоторых ВЭБ-положительных опухолях экспрессируется EBNA1⁺ и только один из LMP (как правило, LMP2), в то время как в других оба LMP экспрессируются, но только во фракции опухолевых клеток. Такие опухоли определяются как латенция II, хотя они очень далеки от определяющего профиля ЛХ. Для подобных промежуточных форм [4] используется термин «латенция I/II».

Цитотоксические Т-лимфоциты и натуральные киллеры (NK-клетки) ограничивают первичную инфекцию и держат пул «бессмертных» ВЭБ-инфицированных В-лимфоцитов под контролем, т. е. экспрессия белков, обладающих трансформирующими свойствами, и белков литического цикла в латентно инфицированных клетках находится под контролем лимфоцитов, активированных ВЭБ. Однако небольшой пул ВЭБ-инфицированных клеток может расширяться, т. е. экспрессия развернутого онкогенного потенциала возможна только при недостаточном ответе иммунной системы. Даже притом что и клетки

памяти, и наивные клетки предстают равно инфицированными *in vitro*, эти циркулирующие клетки с латенцией 0 типа лежат исключительно внутри пула В-клеток памяти. В связи с этим возникло несколько теорий селективной колонизации ВЭБ. Существует предположение о том, что наивные клетки, как и клетки памяти, становятся инфицированными *in vitro*, но только клетки памяти способны совершить переход к латенции 0, однако доказательства этого еще не найдены.

Современные данные свидетельствуют о том, что орофарингеальные В-клетки могут являться исходной мишенью, приводя к появлению локальных очагов трансформированных ВЭБ В-клеток (через латенцию III типа) в лимфоидных тканях. Клетки эпителия слизистой оболочки могут получать вирус напрямую от связанной с вирусом В-клетки или от трансформированных В-клеток, «переключенных» в литический цикл. Некоторые другие трансформированные вирусом В-клетки способны подавлять экспрессию АГ вирусом, останавливать пролиферацию и вступать в пул В-клеток памяти. Возможные пути осуществления этого процесса — через герминативный центр (germinal center — GC). Периодическая реактивация латентно инфицированных В-клеток памяти в литический цикл, возможно, индуцирована триггерами дифференцировки плазматических клеток, создаются вирионы, которые затем, через тесный контакт «клетка — клетка» инициируют новые латентные В-клетки или основывают новые очаги репликации вируса в клетках [5–7].

АГ-стимулированные наивные В-клетки, переходящие к клональной экспансии в виде центробластов, претерпевают соматическую мутацию и производят популяцию centroцитов, являющихся началом ряда различных последовательностей. Этот повторяющийся процесс подразумевает многократный переход centroцит/центробласт. Большинство centroцитов погибают в результате апоптоза, кроме тех, что экспрессируют Ig с повышенным аффинитетом к исходному АГ (путем захвата АГ с поверхности фолликулярных дендритных клеток и привлечения АГ-специфических Т-клеток). Затем centroциты, дифференцируясь в клетки памяти, покидают GC. Клетки памяти могут быть рекрутированы обратно в GC или же напрямую отправлены на становление плазмócитами для повторного взаимодействия с АГ. ВЭБ-ассоциированные лимфопролиферативные нарушения и В-клеточные лимфомы содержат генотипические и/или фенотипические маркеры, указывающие на их происхождение из предшественников [8].

ВЭБ обладает как оппортунистическими, так и онкогенными свойствами, имея специфические АГ: капсидный (VCA), ядерный (EBNA), ранние (диффузный EAD и локализованный EAR), мембранный [9].

В ходе эволюции ВЭБ приобрел уникальный набор латентных генов «growth-transforming», экспрессия которых позволяет вирусу стимулировать пролиферацию своей основной клетки-мишени — В-лимфоцита [5]. ВЭБ — этиологический фактор 2 предраковых лимфопролиферативных заболеваний (ВЭБ-ассоциированные и Т/NK-ассоциированные лимфопролиферативные нарушения) и до 9 отдельных опухолей человека (ЛБ, ЛХ, назофарингеальная карцинома, карцинома носоглотки (КН) и пр.). Таким образом, ВЭБ является причиной развития около 200 000 новых случаев онкологического процесса в мире каждый год [4].

ВЭБ-АССОЦИИРОВАННЫЕ ЛИМФОПРОЛИФЕРАТИВНЫЕ ЗАБОЛЕВАНИЯ

Прямым доказательством онкогенности ВЭБ является наличие ВЭБ-ассоциированных лимфопролиферативных заболеваний, возникающих у реципиентов трансплантата костного мозга и органов в течение первого года после трансплантации, когда Т-клеточная супрессия наиболее сильна, а также в группе детей, рожденных с первичным иммунодефицитом. Особенность данной группы заболеваний состоит в том, что, во-первых, генотипирование Ig показало, что некоторые очаги имеют происхождение из В-наивных клеток, в то время как большинство из них (как и другие лимфомы) являются производными В-клеток памяти; во-вторых, некоторые очаги могут быть олигоклональными, и развивающиеся у одного и того же пациента множественные очаги могут быть клонально не связаны [10]. Очаги ВЭБ-ассоциированных лимфопролиферативных заболеваний имеют латенцию типа III, экспрессируя полный спектр латентных белков ВЭБ (LMP).

Лимфома Ходжкина

Обнаружение гигантских клеток Рида — Березовского — Штернберга и их одноклеточных предшественников, клеток Ходжкина в биоптате — решающий критерий диагноза. ЛХ делится на 4 гистологических типа: вариант с нодулярным склерозом, смешанно-клеточный, лимфогистиоцитарный и вариант с подавлением лимфоидной ткани. Чаще всего ВЭБ вызывает классическую ЛХ смешанно-клеточного подтипа. Клетки Рида — Березовского — Штернберга в 40% случаев являются ВЭБ-положительными и имеют II тип латенции. Микродиссекция и генотипирование Ig клеток Рида — Березовского — Штернберга подвели к выводу, что ЛХ — моноклональная опухоль пост-GC В-клеток, несущих гипермутированные, функционально поврежденные последовательности Ig [11].

Лимфома БЕРКИТТА

Практически все случаи высокого уровня распространенности «эндемичной» (Африка, Папуа — Новая Гвинея) формы ЛБ являются ВЭБ-положительными. Вместе с началом эпидемии СПИДа появилась новая форма ЛБ — СПИД-ЛБ, достигающая заболеваемости, превышающей «эндемичную» форму ЛБ. В 40% таких форм обнаруживается связь с ВЭБ. До сих пор не ясно, в какой степени воздействие ВИЧ изменило и без того высокую частоту эндемичной ЛБ среди населения Экваториальной Африки [11].

Генотипически ЛБ имеет гипермутационные Ig-последовательности, несущие хромосомные транслокации, приводящие к мутации гена *c-MYC* (транслокация затрагивает участок 8-й хромосомы, содержащей ген *MYC*). Мутации гена *MYC* приводят к нарушению регуляции активности множества генов, в т. ч. отвечающих за пролиферацию клеток. Недавний геномный анализ спорадических ЛБ выявил частые мутации в генах *TCF3* (transcription factor 3, фактор транскрипции 3), *ID3* (inhibitor of DNA binding 3, ингибитор связывания ДНК 3), *CCND3* (cyclin D3, циклин D3), влияющих на прогрессию клеточного цикла [12].

Диффузная В-клеточная крупноклеточная лимфома

Этот тип опухоли является наиболее распространенным типом неходжкинской лимфомы (составляет 5%) высокой степени злокачественности у взрослых. Опухолевые клетки представляют собой В-клетки с атипией и поли-

морфизмом, с размерами ядра, в 2 раза превышающими нормальный размер ядра. Они располагаются диффузно, но могут быть обнаружены среди зрелых В-лимфоцитов или формировать очаговые скопления.

Диффузная В-клеточная крупноклеточная лимфома (ДВКЛ) — гетерогенная группа опухолей, включающая 2 подтипа: нодальную ДВКЛ (с первичным поражением ЛУ) и экстранодальную (с первичным поражением любого органа, кроме ЛУ), оба этих подтипа подразумевают мутацию гена Ig. В результате исследований выявлено, что в случае возникновения заболевания у пожилых людей проявляется III тип латенции [13], аналогичный ВЭБ-ассоциированным лимфопролиферативным заболеваниям. Это доказывает положение, что опухолевый рост является следствием снижения ВЭБ-специфического Т-клеточного надзора, частью снижения компетентности Т-клеток, наступающего с возрастом. ВЭБ-ассоциированные ДВКЛ у молодых пациентов сопровождаются проявлением латенции II типа, предполагающей более сложный путь развития опухолевого процесса. То есть если клеточные генетические изменения при латенции III типа делают некоторые аспекты пути «рост — трансформация» ВЭБ чрезмерными, клетки способны переключаться на более ограниченную экспрессию АГ ВЭБ и, соответственно, будут иметь конкурентное преимущество за счет уклонения от вирус-специфического надзора.

Лимфомы Т/НК-клеточного происхождения

Данные лимфомы включают в себя 3 предопухолевых лимфопролиферативных поражения, системную форму хронического активного ВЭБ, а также 2 кожные формы, одна из которых характеризуется сверхчувствительностью к ультрафиолетовому спектру лучей солнечного света (Hydroa vacciniforme, гидроа вакциниформная), и тяжелую аллергию на укус москита. Кроме того, данные лимфомы включают в себя системную Т-клеточную лимфому детского возраста, агрессивный НК-лейкоз и т. д. Распространены данные заболевания в Японии, у выходцев из Восточной Азии. Несмотря на отчетливую расовую предрасположенность, до сих пор не установлено генетической связи, а также каких-либо местных сопутствующих факторов [4]. Чаще всего заболевания дебютируют гемофагоцитарным лимфогистиоцитозом, включают в себя лихорадку, связанную с «цитокиновым штормом», что в данном случае отражает острое высвобождение цитокинов из самих инфицированных Т/НК-клеток [14]. Экспрессия LMP1 является ключевым драйвером через NF-κB-опосредованную активацию провоспалительного ответа, запрограммированного в Т/НК-клетках.

ХРОНИЧЕСКИЙ АКТИВНЫЙ ВЭБ, СИСТЕМНАЯ ФОРМА

Генетический профиль данного заболевания демонстрирует латенцию I и II типов, иногда с присутствием LMP1, LMP2 (изоформа LMP2B) [15]. При секвестрировании генома ВЭБ в инфицированных вирусом клетках пациентов с системной формой хронического активного ВЭБ были выявлены частые одноточечные мутации, ряд внутригенных делеций, асимметрично распределенных по всему вирусному геному. Также секвестрирование показало, что многие предраковые лимфопролиферативные поражения были моноклональными. Кроме того, эти клоны уже несли соматические мутации, имея большое влияние,

в т. ч. на РНК хеликазу DDX3X [16]. Это указывает на предопухолевую природу данного заболевания с уже существующими мутациями ВЭБ и клеточных генов.

HYDROA VACCINIFORME-ПОДОБНОЕ ЛИМФОПРОЛИФЕРАТИВНОЕ ЗАБОЛЕВАНИЕ

Характеризуется повреждением кожи в ответ на ультрафиолетовое излучение, происходящим в детском возрасте, не имеющим системных симптомов, ремиттирующим спонтанно после подросткового периода. Однако оно может прогрессировать, особенно в восточноазиатской и южноамериканской популяциях — у 21% развивается Hydroa vacciniforme-подобное лимфопролиферативное заболевание. Опухолевые клетки имеют CD8⁺ Т или NK-клеточное происхождение, в редких случаях CD4⁺ тип латенции I или II с экспрессией LMP1. Планируется изучение этиологических факторов развития заболевания, в т. ч. анализ иммунологической дисфункции или генетического фона.

СИСТЕМНАЯ ВЭБ-ПОЛОЖИТЕЛЬНАЯ Т-КЛЕТОЧНАЯ ЛИМФОМА ДЕТСКОГО ВОЗРАСТА

Данное заболевание характеризуется развитием клональной пролиферации ВЭБ-положительных CD4⁺ или CD8⁺ Т-клеток с активированным цитотоксическим фенотипом. Заболевание осложняется коагулопатией, сепсисом и полиорганной недостаточностью. Пациенты обычно умирают в течение нескольких дней после установления диагноза. Профиль латенции — I/II, с обнаружением LMP1 [17].

АГРЕССИВНЫЙ НК-ЛЕЙКОЗ

Новообразование, встречающееся у молодых людей, проявляется в виде лихорадки, панцитопении, гепатоспленомегалии, часто осложняется гемофагоцитарным лимфогистиоцитозом. Течение фульминантное, с полиорганной недостаточностью и синдромом диссеминированного внутрисосудистого свертывания, летальный исход — менее чем через 2 мес. Большинство агрессивных НК-лейкозов ассоциированы с латенцией типа I/II. Опухолевые клетки имеют множественные кариотипические аномалии с частыми хромосомными приростами и потерями и общей делецией на хромосоме 6q21–25. Недавний генетический анализ данного заболевания выявил диапазон мутаций, влияющих на сигнальный путь JAK/STAT и DDX3 [18].

ОБЩНОСТЬ ВЭБ-АССОЦИИРОВАННЫХ Т/НК КЛЕТОЧНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ

В связи с обнаружением причастности ВЭБ к Т/НК-клеточным опухолям подняты два важных вопроса: каков путь проникновения вируса в эти клетки-мишени и как часто озлокачествление происходит при обычной инфекции ВЭБ? На первый вопрос ответило исследование, определившее понятие «вирусологический синапс» — этот путь впервые был замечен в системе HTLV1 (Human T-lymphotropic virus, Т-лимфотропный вирус человека) [19]. Он включает в себя вирионы, движущиеся через межклеточные мостики, образующиеся, когда иммунная эффекторная клетка (в данном контексте либо Т-, либо НК-клетка) «цепляет» свою инфицированную мишень. Но доказательства расширения своего серотипа ВЭБ, таким образом, нет, и геномный анализ таких случаев показывает, что обе инфицированные популяции имеют общие соматические мутации, что указывает на общее происхождение последних. Это говорит о том, что ВЭБ инфицирует предшественника Т/НК-кле-

ток, а не зрелые дифференцированные формы. Эти данные проливают свет на исследования о том, как CD21, рецептор ВЭБ на В-клетках, временно экспрессируется на челюстных тимоцитах до их приверженности к линии Т- или НК-клеток [20, 21]. Предполагалось, что ВЭБ получал доступ к Т/НК-клеткам лишь в редких случаях, но ряд новых исследований говорят об обратном. Первое исследование доказало, что ВЭБ способен инфицировать как Т-, так и В-клетки и *in vitro*, и *in vivo*. Также ВЭБ-положительные Т-клетки обнаруживались в крови детей, перенесших инфекционный процесс, ассоциированный с ВЭБ [22]. Второе исследование основано на детальном рассмотрении тонзиллярных срезов у пациентов с острым ИМ. Наряду с доминирующей В-клеточной инфильтрацией существует небольшое число EBER⁺ латентно инфицированных Т-клеток, являющихся в основном представителями подмножества CD8⁺, и даже несколько редких EBER⁺ НК-клеток [23]. Однако в рамках данного исследования все пациенты были европейцами, и их резидентные штаммы вируса были идентифицированы как тип 1, доминирующий в европейской популяции. Недавние исследования доказали, что штаммы ВЭБ, обнаруженные при Т/НК-заболеваниях, в основном относятся к типу 1 [16].

ОПУХОЛИ НЕЛИМФОИДНОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ КАРЦИНОМА НОСОГЛОТКИ

Связь КН и ВЭБ была обнаружена случайно в 1966 г. и стала первым доказательством того, что онкогенный потенциал вируса не был ограничен системой В-клеток. Независимо от географической распространенности и уровня заболеваемости, все случаи недифференцированных КН во всем мире связаны с ВЭБ, причем вирусный геном присутствует в каждой злокачественной клетке. Геномные исследования по несемейным случаям выявили несколько аллельных детерминант восприимчивости, наиболее высоких в пределах HLA класса I. Недавние исследования связи курения (определения уровня сывороточного котинина) с 4 серологическими маркерами ВЭБ (VCA-IgA, Zta, EBNA1, LMP1) в здоровой популяции показали, что уровень котинина коррелирует с уровнем серологических маркеров в эндемичных районах [24]. Экспрессия вирусных генов в опухолевых клетках лучше всего подходит под определение латенции I и II типов, т. е. все опухоли экспрессируют EBNA1, некодирующие EBER, miR-BART, а также LMP2 [25]. Последний, по данным исследований *in vitro*, является мощным стимулятором роста эпителиальных клеток [26]. Исследование клеточных культур показало, что нормальные линии клеток носоглотки не могут быть инфицированы ВЭБ, сверхэкспрессия циклина D способствует сохранению вирусного генома и установлению латенции типа II [27]. Этот вывод подразумевает, что предопухолевые изменения в эпителии носоглотки, вызванные воздействием ингаляционных твердых частиц канцерогенов, создают пул клеток-мишеней, которые теперь могут поддерживать латентную инфекцию. Недавние исследования доказали, что чувствительность и специфичность ДНК ВЭБ в плазме крови при скрининге КН составляют 98,6%, что является исключительно полезным, поскольку I стадия КН протекает в основном бессимптомно [28]. Недавнее исследование, использующее уровень ДНК ВЭБ в плазме до лечения и статус CNN (cervical node necrosis, некроз шейных лимфатических узлов) для

оценки прогноза пациентов с КН, показывает, что одним из источников ВЭБ ДНК в плазме крови является гибель клеток опухоли [29]. То есть ВЭБ ДНК плазмы до лечения отражает общую опухолевую нагрузку КН и выраженно коррелирует с классификацией TNM и стадией процесса. CNN — мощный негативный прогностический фактор в отношении КН, который может указывать на гипоксию опухоли и служить причиной выделения большого количества ВЭБ ДНК. Отсюда ВЭБ ДНК достоверно коррелирует с CNN: чем больше опухоль, тем более вероятно, что в анализах будет высокий уровень ВЭБ ДНК и CNN [29]. КН экспонирует латенцию II с экспрессией EBNA1, LMP1, LMP2, EBER, BARF1, miR-BART. EBNA1 способствует пролиферации клеток путем транскрипционной регуляции клеточных генов (рецептор интерлейкина-6) и разрушения ядерных телец промиелоцитарной лейкемии в клетках опухоли [30]. EBNA1 конкурирует с p53 за связывание с убиквитин-специфической протеазой 7, которая может стабилизировать p53, удаляя сигнал деградации полиубиквитина p53. Таким образом, присутствие EBNA1 в клетках КН подавляет накопление p53 в ответ на повреждение ДНК.

LMP1 — ключевой ВЭБ-кодируемый онкопротеин, способный модулировать сигнальные цепи в клетках опухоли. LMP-экспрессирующие эпителиальные клетки обладают свойством к ускоренному самообновлению и проявляют раковый стволовой фенотип, являющийся активатором транскрипционного фактора NF-κB. Домен активации зоны C (STAR1) активирует каноническую и неканоническую сигнализацию NF-κB [31]. Подтверждено, что STAR2 является более сильным активатором NF-κB, чем STAR1, и ответственен за 80% общей NF-κB-активности, ассоциированной с LMP1 [32]. Недавно приведенная гипотеза патогенеза КН утверждает, что LMP1 способствует накоплению генетических и эпигенетических изменений, а в дальнейшем соматические генетические события могут замещать NF-κB-активирующую роль LMP1 при прогрессировании КН [33]. LMP1 участвует в ингибировании ключевых опухолевых супрессоров (p53, RASS-F1A), вследствие чего развивается резистентность опухолевых клеток к апоптозу [34]. Недавние исследования показали, что подавление экспрессии LMP1 и LMP2A снижало экспрессию раковых стволовых клеток в популяции ВЭБ-ассоциированных КН [35].

EBER — ВЭБ кодирует 2 неполиаденилированные двухцепочечные РНК — EBER1 и EBER2. EBER может противостоять интерферон-индуцированному и FAS-опосредованному апоптозу в эпителиальных клетках, блокируя фосфорилирование протеинкиназы-R [36].

BART, incRNA и miR-BART. Считается, что РНК BART регулируют рост клеток КН, модулируя экспрессию генов хозяина. Все miR-BART составляют около 38% от общего количества микроРНК в опухолях КН [37]. Недавно проведенное исследование показало, что miR-BART потенцировали рост опухоли *in vivo* инфицированных ВЭБ клеток КН [38]. miR-BART участвуют в поддержании вирусной латентности, способствуют выживанию и метастазированию [33]. miR-BART способствуют уклонению от иммунного надзора за счет подавления экспрессии HLA класса I-связанной цепи В для распознавания иммунных клеток и подавления транскрипционного активатора интерферона γ. Важно, что miR-BART специфичны для ВЭБ-ассоциированных КН и могут стать подспорьем в диагностике и лечении КН на раннем этапе [39].

КАРЦИНОМА ЖЕЛУДКА

Карцинома желудка (КЖ) — крупная злокачественная опухоль, затрагивающая популяции по всему миру. Как и в случае с КН, все злокачественные клетки в пределах отдельной опухоли являются ВЭБ-положительными и несут один геном моноклонального вируса. Это является доказательством того, что опухоль развилась из одной ВЭБ-инфицированной клетки-предшественницы, а не случайно инфицировалась после утверждения злокачественности. 75% данных опухолей, вероятно, связаны с перенесенной или существующей инфекцией *Helicobacter pylori*, связь с которой еще прочнее в отношении дистальных отделов желудка [40]. Экспрессия вирусных генов дает основания предположить латенцию I типа, а в тех 50% случаев, когда обнаруживается транскрипция LMP2, — промежуточную латенцию I/II [41]. Опухоль имеет меньше грубых хромосомных aberrаций и более низкие показатели соматической мутации, хотя отдельные гены типа *ARID1A* (кодирует субъединицу комплекса ремоделирования хроматина SWI/SNF) и *PI3KCA* (кодирует ключевой регулятор сигнального пути PI3K/Akt) являются одними из немногих, демонстрирующих относительно частую мутацию [42]. ВЭБ-ассоциированные КЖ имеют более благоприятный прогноз в отличие от других этиопатогенетических вариантов карциномы, что вызывает интерес у научного сообщества [43]. Иммунная инвазия ВЭБ в КЖ считается потенциальным биомаркером для ответа пациентов на иммунотерапию и, по-видимому, имеет клинические преимущества [44].

Недавние исследования, посвященные отличиям между ВЭБ-ассоциированной КЖ и ВЭБ-негативной КЖ, указывают на изменения в метаболизме углерода, аминокислот, триацилглицерина в ВЭБ-ассоциированной КЖ по сравнению с ВЭБ-негативной КЖ [45]. Хотя ВЭБ-ассоциированная КЖ менее агрессивна, чем другие подтипы, ВЭБ перепрограммирует метаболизм КЖ через aberrантную экспрессию липидов и полярных метаболитов [46].

Результаты общегеномных ассоциативных исследований и эпидемиологических данных показали, что HLA класса I имеет влияние на риск развития опухоли. Один из распространенных в европеоидной популяции аллелей HLA-A*0201 обладает протективным воздействием в отношении ВЭБ-ассоциированной ЛХ, в то время как другой аллель, HLA-A*0101, напротив, связан с повышенным риском, причем этот эффект наиболее выражен у лиц, гомозиготных по аллелям HLA-A. Среди азиатской популяции распространен HLA-A*1101, являющийся защитным от КН, в то время как общий гаплотип HLA-A*0207, HLA-B*4601 этот риск увеличивает. Полиморфизм HLA I имеет на данный момент самую сильную ассоциацию с восприимчивостью КН в общегеномных исследованиях [47].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В связи с высокой распространенностью ВЭБ среди всех мировых популяций и важной ролью этого вируса в развитии злокачественных опухолей инфекционного генеза определяющими факторами в борьбе с данными заболеваниями являются ранняя диагностика и прогностические показатели инфицированных вирусом пациентов. Изучение маркеров и других показателей

ВЭБ-инфекции для максимально раннего диагностирования предракового процесса являются приоритетными в современной медицине. Так как многие ВЭБ-ассоциированные новообразования клинически не проявляют себя на ранних стадиях развития процесса, то на первый план выступает неэффективность стандартных методов диагностики у большинства пациентов. В дальнейшем необходима разработка более совершенных методов исследования предраковых процессов в ВЭБ-инфицированном организме.

Литература/References

1. Шубелко Р.В., Зуйкова И.Н., Шульженко А.Е. Герпес-вирусные инфекции человека: клинические особенности и возможности терапии. РМЖ. 2018;8(1):39–45.
[Shubelko R.V., Zuykova I.N., Shulzhenko A.E. Human herpesviruses infections: clinical features and opportunities of therapy. RMJ. 2018;8(1):39–45 (in Russ.).]
2. Hutt-Fletcher L.M. The Long and Complicated Relationship between Epstein-Barr Virus and Epithelial Cells. Journal of virol. 2016;91(1):e01677–16. DOI: 10.1128/JVI.01677-16.
3. Van den Bosch C. A Role for RNA Viruses in the Pathogenesis of Burkitt's Lymphoma: The Need for Reappraisal. Adv Hematol. 2012;2012:494758. DOI: 10.1155/2012/494758.
4. Shannon-Lowe C., Rickinson A. The Global Landscape of EBV-Associated Tumors. Front. Oncol. 2019;9:713. DOI: 10.3389/fonc.2019.00713.
5. Kimura H., Cohen J.I. Chronic Active Epstein-Barr Virus Disease. Front. Immunol. 2017; 8:1867. DOI: 10.3389/fimmu.2017.01867.
6. Thorley-Lawson D.A. EBV Persistence — Introducing the Virus. Curr Top Microbiol Immunol. 2015;390(Pt 1):151–209. DOI: 10.1007/978-3-319-22822-8_8.
7. Rickinson A.B. Co-infections, inflammation and oncogenesis: future directions for EBV research. Semin Cancer Biol. 2014;26:99–115. DOI: 10.1016/j.semcancer.2014.04.004.
8. Basso K., Dalla-Favera R. Germinal centres and B cell lymphomagenesis. Nat Rev Immunol. 2015;15(3):172–184. DOI: 10.1038/nri3814.
9. Gewurz B.E., Moulton E., Bessnow A. et al. Epstein-Barr Virus Infection and Posttransplant Lymphoproliferative Disease. In book: Principles and Practice of Transplant Infectious Diseases; 2019:643–666. DOI: 10.1007/978-1-4939-9034-4_38.
10. Morscio J., Finalet Ferreira J., Vander Borgh S. et al. Identification of distinct subgroups of EBV-positive post-transplant diffuse large B-cell lymphoma. Mod Pathol. 2017;30(3):370–381. DOI:10.1038/modpathol.2016.199.
11. Carbone A., Cesarman E., Spina M. et al. HIV-associated lymphomas and gamma herpesviruses. Blood. 2009;113(6):1213–1224. DOI: 10.1182/blood-2008-09-180315.
12. Schmitz R., Ceribelli M., Pittaluga S. et al. Oncogenic mechanisms in Burkitt lymphoma. Cold Spring Harb Perspect Med. 2014;4: a014282. DOI: 10.1101/cshperspect.a014282.
13. Ковригина А.М. ВЭБ-позитивные лимфопролиферативные заболевания: новая концепция, дифференциальная диагностика (обзор литературы и собственные наблюдения). Клиническая онкогематология. 2018;11(4):326–337. DOI: 10.21320/2500-2139-2018-11-4-326-337.
[Kovrigina A.M. EBV-Positive Lymphoproliferative Diseases: A New Concept and Differential Diagnosis (Literature Review and Case Reports). Klinicheskaya onkogematologiya. 2018;11(4):326–337 (in Russ.).] DOI: 10.21320/2500-2139-2018-11-4-326-337.
14. Marsh R.A. Epstein-Barr Virus and Hemophagocytic Lymphohistiocytosis. Front. Immunol. 2018;8:1902. DOI: 10.3389/fimmu.2017.01902.
15. Fox C.P., Haigh T.A., Taylor G.S. et al. A novel latent membrane 2 transcript expressed in Epstein-Barr virus-positive NK- and T-cell lymphoproliferative disease encodes a target for cellular immunotherapy. Blood. 2010;116(19):3695–3704. DOI: 10.1182/blood-2010-06-292268.
16. Okuno Y., Murata T., Sato Y. et al. Defective Epstein-Barr virus in chronic active infection and haematological malignancy [published correction appears in Nat Microbiol. 2019 Jan 30]. Nat Microbiol. 2019;4(3):404–413. DOI: 10.1038/s41564-018-0334-0.
17. Dojcinov S.D., Fend F., Quintanilla-Martinez L. EBV-Positive Lymphoproliferations of B- T- and NK-Cell Derivation in Non-Immunocompromised Hosts. Pathogens. 2018;7(1):28. DOI: 10.3390/pathogens7010028.
18. Ishida F. Aggressive NK-Cell Leukemia. Front. Pediatr. 2018;6:292. DOI: 10.3389/fped.2018.00292.
19. Nakamura H., Shimizu T., Kawakami A. Role of Viral Infections in the Pathogenesis of Sjögren's Syndrome: Different Characteristics of Epstein-Barr Virus and HTLV-1. J. Clin. Med. 2020;9(5):1459. DOI: 10.3390/jcm9051459.
20. Kimura H., Fujiwara S. Overview of EBV-Associated T/NK-Cell Lymphoproliferative Diseases. Front Pediatr. 2019;6:417. DOI: 10.3389/fped.2018.00417.
21. Smith N.A., Coleman C.B., Gewurz B.E., Rochford R. CD21 (Complement Receptor 2) is the receptor for Epstein-Barr virus entry into T cells. J Virol. 2020;94(11): e00428–e00420. DOI: 10.1128/JVI.00428-20.
22. Coleman C.B., Lang J., Sweet L.A. et al. Epstein-Barr Virus Type 2 Infects T Cells and Induces B Cell Lymphomagenesis in Humanized Mice. J Virol. 2018;92(21): e00813–18. DOI:10.1128/JVI.00813–18.
23. Barros M.H.M., Vera-Lozada G., Segges P. et al. Revisiting the Tissue Microenvironment of Infectious Mononucleosis: Identification of EBV Infection in T Cells and Deep Characterization of Immune Profiles. Front Immunol. 2019;10:146. DOI: 10.3389/fimmu.2019.00146.
24. Yang Q.-Y., He Y.-Q., Xue W.-Q. et al. Association Between Serum Cotinine Level and Serological Markers of Epstein-Barr Virus in Healthy Subjects in South China Where Nasopharyngeal Carcinoma Is Endemic. Front. Oncol. 2019;9:865. DOI: 10.3389/fonc.2019.00865.
25. Tsang C.M., Tsao S.W. The role of Epstein-Barr virus infection in the pathogenesis of nasopharyngeal carcinoma. Virol Sin. 2015;30(2):107–121. DOI: 10.1007/s12250-015-3592-5.
26. Fotheringham J.A., Coalson N.E., Raab-Traub N. Epstein-Barr virus latent membrane protein-2A induces ITAM/Syk- and Akt-dependent epithelial migration through alphav-integrin membrane translocation. J Virol. 2012;86:10308–10320. DOI: 10.1128/JVI.00853-12.
27. Tsang C.M., Yip Y.L., Lo K.W. et al. Cyclin D1 overexpression supports stable EBV infection in nasopharyngeal epithelial cells. Proc Natl Acad Sci USA. 2012;109(50): E3473–E3482. DOI: 10.1073/pnas.1202637109.
28. Chan K.C.A., Woo J.K.S., King A. et al. Analysis of Plasma Epstein-Barr Virus DNA to Screen for Nasopharyngeal Cancer. N Engl J Med. 2017;377(6):513–522. DOI: 10.1056/NEJMoa1701717.
29. Du Y.-Y., Luo D.-H., Sun X.-S. et al. Combining pretreatment plasma Epstein-Barr virus DNA level and cervical node necrosis improves prognostic stratification in patients with nasopharyngeal carcinoma: A cohort study. Cancer Med. 2019;8(16):6841–6852. DOI: 10.1002/cam4.2481.
30. Frappier L. Contributions of Epstein-Barr nuclear antigen 1 (EBNA1) to cell immortalization and survival. Viruses. 2012;4(9):1537–1547. DOI: 10.3390/v4091537.
31. Kieser A., Sterz K.R. The latent membrane protein 1 (LMP1) Curr. Top. Microbiol. Immunol. 2015;391:119–149. DOI: 10.1007/978-3-319-22834-1_4.
32. Смирнова К.В., Дидук С.В., Сеньута Н.Б., Гурцевич В.Э. Молекулярно-биологические свойства гена LMP1 вируса Эпштейна — Барр: структура, функции и полиморфизм. Вопросы вирусологии. 2015;60(3):5–13.
[Smirnova K.V., Diduk S.V., Senyuta N.B., Gurtsevich V.E. Molecular biological properties of the Epstein-Barr virus LMP1 gene: structure, functions and polymorphism. Voprosy virusologii. 2015;60(3):5–13 (in Russ.).]
33. Tsang C.M., Lui V.W.Y., Bruce J.P. et al. Translational genomics of nasopharyngeal cancer. Semin Cancer Biol. 2020;61:84–100. DOI: 10.1016/j.semcancer.2019.09.006.
34. Li L., Li W., Xiao L. et al. Viral oncoprotein LMP1 disrupts p53-induced cell cycle arrest and apoptosis through modulating K63-linked ubiquitination of p53. Cell Cycle. 2012;11(12):2327–2336. DOI: 10.4161/cc.20771.
35. Yang C., Yang G., Huang T. et al. EB-virus latent membrane protein 1 potentiates the stemness of nasopharyngeal carcinoma via preferential activation of PI3K/AKT pathway by a positive feedback loop. Oncogene. 2016;35:3419–3431. DOI: 10.1038/onc.2015.402.
36. Nanbo A. Epstein-Barr Virus Exploits the Secretory Pathway to Release Virions. Microorganisms. 2020;8(5):729. DOI: 10.3390/microorganisms8050729.

37. Lung R.W., Hau P.M., Yu K.H. et al. EBV-encoded miRNAs target ATM-mediated response in nasopharyngeal carcinoma. *J Pathol.* 2018;244(4):394–407. DOI: 10.1002/path.5018.
38. Qiu J., Smith P., Leahy L., Thorley-Lawson D.A. The Epstein-Barr virus encoded BART miRNAs potentiate tumor growth *in vivo*. *PLoS Pathog.* 2015;11(1): e1004561. DOI: 10.1371/journal.ppat.1004561.
39. Zhang X., Ye Y., Fu M. et al. Implication of viral microRNAs in the genesis and diagnosis of Epstein-Barr virus-associated tumors (Review). *Future Oncol.* 2019;18(4):3433–3442. DOI: 10.3892/ol.2019.10713.
40. De Martel C., Forman D., Plummer M. Gastric cancer: epidemiology and risk factors. *Gastroenterol Clin North Am.* 2013;42:219–240. DOI: 10.1016/j.gtc.2013.01.003.
41. Ribeiro J., Oliveira C., Malta M., Sousa H. Epstein-Barr virus gene expression and latency pattern in gastric carcinomas: a systematic review. *Future Oncol.* 2017;13(6):567–579. DOI: 10.2217/fon-2016-0475.
42. Wang K., Kan J., Yuen S.T. et al. Exome sequencing identifies frequent mutation of ARID1A in molecular subtypes of gastric cancer. *Nat Genet.* 2011;43(12):1219–1223. DOI: 10.1038/ng.982.

43. Kohlruess M., Grosser B., Krenauer M. et al. Prognostic implication of molecular subtypes and response to neoadjuvant chemotherapy in 760 gastric carcinomas: role of Epstein-Barr virus infection and high- and low-microsatellite instability. *J Pathol Clin Res.* 2019;5(4):227–239. DOI: 10.1002/cjp.2137.
44. Naseem M., Barzi A., Brezden-Masley C. et al. Outlooks on Epstein-Barr virus associated gastric cancer. *Cancer Treat. Rev.* 2018;66:15–22. DOI: 10.1016/j.ctrv.2018.03.006.
45. Yoon S.J., Kim J.Y., Long N.P. et al. Comprehensive Multi-Omics Analysis Reveals Aberrant Metabolism of Epstein-Barr-Virus-Associated Gastric Carcinoma. *Cells.* 2019;8(10):1220. DOI: 10.3390/cells8101220.
46. Beloribi-Djefalia S., Vasseur S., Guillaumond F. Lipid metabolic reprogramming in cancer cells. *Oncogenesis.* 2016;5(1): e189. DOI: 10.1038/oncsis.2015.49.
47. 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. DOI: 10.3389/fonc.2013.00299.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ:

Хланта Даяна Арсеновна — студентка 6 курса лечебно-го факультета, ФГБОУ ВО МГМСУ им. А.И. Евдокимова Минздрава России, 127473, Россия, г. Москва, ул. Делегатская, д. 20, стр. 1; ORCID iD 0000-0002-9106-5277.

Хланта Николай Андреевич — студент 6 курса лечебно-го факультета, ФГБОУ ВО МГМСУ им. А.И. Евдокимова Минздрава России, 127473, Россия, г. Москва, ул. Делегатская, д. 20, стр. 1; ORCID iD 0000-0003-4691-3414.

Федоскова Татьяна Германовна — д.м.н., ведущий научный сотрудник ФГБУ «ГНЦ Институт иммунологии» ФМБА России, ФГБУ «ГНЦ Институт иммунологии» ФМБА России, 115478, Россия, г. Москва, Каширское шоссе, д.24, корп. 2; ORCID iD 0000-0003-1456-3923.

Гришина Татьяна Ивановна — д.м.н., профессор кафедры клинической аллергологии и иммунологии, ФГБОУ ВО МГМСУ им. А.И. Евдокимова Минздрава России, 127473, Россия, г. Москва, ул. Делегатская, д. 20, стр. 1; ORCID iD 0000-0001-8762-5289.

Филатова Гульнара Ахмятовна — к.м.н., доцент кафедры клинической аллергологии и иммунологии, ФГБОУ ВО МГМСУ им. А.И. Евдокимова Минздрава России, 127473, Россия, г. Москва, ул. Делегатская, д. 20, стр. 1; ORCID iD 0000-0003-4242-0356.

Лутковская Юлия Евгеньевна — к.м.н., доцент кафедры клинической аллергологии и иммунологии, ФГБОУ ВО МГМСУ им. А.И. Евдокимова Минздрава России, 127473, Россия, г. Москва, ул. Делегатская, д. 20, стр. 1; ORCID iD 0000-0001-8167-9681.

Ларина Варвара Николаевна — к.м.н., доцент кафедры клинической аллергологии и иммунологии, ФГБОУ ВО МГМСУ им. А.И. Евдокимова Минздрава России, 127473, Россия, г. Москва, ул. Делегатская, д. 20, стр. 1; ORCID iD 0000-0001-7440-1577.

Контактная информация: Филатова Гульнара Ахмятовна, e-mail: gulfil1509@yandex.ru. **Прозрачность финансовой деятельности:** никто из авторов не имеет финансовой заинтересованности в представленных материалах или методах. **Конфликт интересов отсутствует.** Статья поступила 21.05.2020, поступила после рецензирования 15.06.2020, принята в печать 29.06.2020.

ABOUT THE AUTHORS:

Dayana A. Khlanta — student of 6th course of the Medical Faculty, A.I. Evdokimov Moscow University of Medicine and Dentistry, 20/1, Delegatskaya str., Moscow, 127473, Russian Federation; ORCID iD 0000-0002-9106-5277.

Nikolay A. Khlanta — student of 6th course of the Medical Faculty, A.I. Evdokimov Moscow University of Medicine and Dentistry, 20/1, Delegatskaya str., Moscow, 127473, Russian Federation; ORCID iD 0000-0003-4691-3414.

Tat'yana G. Fedoskova — Dr. of Sci. (Med.), Leading Researcher, NRC Institute of Immunology of the Russian Federal Medical Biological Agency, 24, Kashirskoe road, Moscow, 115478, Russian Federation; ORCID iD 0000-0003-1456-3923.

Tat'yana I. Grishina — Dr. of Sci. (Med.), Professor of the Department of Clinical Allergy and Immunology, A.I. Evdokimov Moscow University of Medicine and Dentistry, 20/1, Delegatskaya str., Moscow, 127473, Russian Federation; ORCID iD 0000-0001-8762-5289.

Gul'nara A. Filatova — Cand. of Sci. (Med.), Associate Professor of the Department of Clinical Allergy and Immunology, A.I. Evdokimov Moscow University of Medicine and Dentistry, 20/1, Delegatskaya str., Moscow, 127473, Russian Federation; ORCID iD 0000-0003-4242-0356.

Yuliya E. Lutkovskaya — Cand. of Sci. (Med.), Associate Professor of the Department of Clinical Allergy and Immunology, A.I. Evdokimov Moscow University of Medicine and Dentistry, 20/1, Delegatskaya str., Moscow, 127473, Russian Federation; ORCID iD 0000-0001-8167-9681.

Varvara N. Larina — Cand. of Sci. (Med.), Associate Professor of the Department of Clinical Allergy and Immunology, A.I. Evdokimov Moscow University of Medicine and Dentistry, 20/1, Delegatskaya str., Moscow, 127473, Russian Federation; ORCID iD 0000-0001-7440-1577.

Contact information: Gul'nara A. Filatova, e-mail: gulfil1509@yandex.ru. **Financial Disclosure:** no authors have a financial or property interest in any material or method mentioned. There is no conflict of interests. Received 21.05.2020, revised 15.06.2020, accepted 29.06.2020.