

ДИАГНОСТИКА ИНФИЦИРОВАНИЯ ВИРУСОМ ГЕРПЕСА 6 ТИПА

© Полунина А.В.

Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет. 194100, Санкт-Петербург, ул. Литовская, д. 2.

Резюме. Вирус герпеса 6-го типа повсеместно распространен. В течение всей жизни человека, у 90% населения планеты Земли, вирус можно обнаружить в мононуклеарах плазмы крови. Однако идентификация вируса (его форм, таких как — активная, латентная формы вирусной инфекции и хВГЧ-6) в XXI веке все еще активно изучается. В России на данный момент проводится мало исследований и эта проблема не освящается, что приводит врачей к затруднению при постановке диагноза и к лабораторной гипердиагностике, и к полипрагмазии.

Ключевые слова: вирус герпеса человека 6-го типа, диагностика, инфекция, хромосомно-интегрированная форма вируса герпеса 6-го типа, внезапная экзантема.

DIAGNOSTICS OF INFECTION BY HERPESVIRUS 6 TYPE

© Polunina A.V.

St. Petersburg State Pediatric Medical University. 2, Litovskaya St., St. Petersburg, 194100, Russia

Summary. Human herpes virus type 6 is ubiquitous virus, in 90% of the world's population, the virus can be detected in blood plasma mononuclear cells, throughout the life of a person. However, the identification of the virus (its forms, such as — active, latent forms of viral infection and chromosomally integrated human herpesvirus 6) in the 21st century is still being actively studied. In Russia at the moment, little research is being done and this problem is not sanctified, which leads doctors to find difficulty in diagnosing and laboratory hyperdiagnosis, and polypharmacy.

Keywords: human herpes virus type 6, diagnostics, infection, chromosomally integrated form, sudden exanthema.

Вирус герпеса 6 типа (ВГЧ-6) — двуцепочечный ДНК содержащий вирус, относящийся к семейству β -герпесвирусов, роду Розеоловирусов, который также включает вирусы герпеса человека 7 и 8 типов (ВГЧ-6 и 8), имеет 2 серологических типа — вирус герпеса человека тип 6А (Human betaherpesvirus 6A) [Human herpesvirus 6A (HHV-6A)] и Вирус герпеса человека тип 6В (Human betaherpesvirus 6B) [syn. Human herpesvirus 6B (HHV-6B)]. ВГЧ-6А чаще встречаются у пациентов с нейровоспалительными заболеваниями, такими как рассеянный склероз, также вирус герпеса 6В связывают с синдромом хронической усталости. [1,2]. ВГЧ-6В при первом попадании в организм человека является причиной распространенной детской болезни «детская розеола» (также известная как внезапная экзантема или шестая болезнь), также вызывает фебрильные судороги у детей и энцефалиты. [3]. Вирус герпеса типа 6 имеет биологическое и генетическое сродство с цитомегаловирусом.

ВГЧ-6 впервые был обнаружен в 1986 г. у взрослых больных с лимфопролиферативными

заболеваниями и зараженных вирусом иммунодефицита человека (ВИЧ) [4], впоследствии было обнаружено, что вирус имеет тропность к В-лимфоцитам, вследствие чего он и был назван — человеческий В-лимфотропный вирус (HBLV) [5]. В 1988 году было доказано, что данный тип вируса является этиологическим фактором внезапной экзантемы — розеола или 6-я болезнь [6]. Совсем недавно Международный комитет по таксономии вирусов (ICTV) признал варианты HHV-6 двумя различными вирусами [7].

Первоначальные исследования показали, что ВГЧ 6 в первую очередь поражает В-лимфоциты. Однако более позднее обнаружено, что ВГЧ-6 избирательно заражает и реплицируется в Т-лимфоцитах, отдает предпочтение CD4 + Т-клеткам [8–11]. Вирус герпеса 6-го типа А и вирус герпеса 6-го типа В реплицируются в Т-клетках, однако вирусы различаются своими рецепторами. Основным рецептором вируса ВГЧ-6А является CD46-рецептор, который обнаружен на всех зародышевых клетках человека. [12]. Основным рецептором ВГЧ-6В является CD134, член надсемейства

фактора некроза опухолей (TNF), который присутствует у Т-клеток. [13].

Основной путь передачи вируса — через слюну. Более 90% населения планеты серопозитивны к вирусу герпеса 6 типа. У большинства взрослых людей вирус герпеса 6 типа можно обнаружить в периферических мононуклеарах крови в течение всей жизни [12]. В Лусаке, столица Замбии, в регионе Африки к югу от Сахары, распространенность ВГЧ-6А первоначально составляла 85% здоровых детей и 57% детей с клиникой в возрасте шести или восьми лет [14]. Тем не менее недавнее крупномасштабное исследование, проведенное в том же регионе Замбии, показало, что распространенность ВГЧ-6А составляет менее 1%, а распространенность HHV-6В составляет приблизительно 20% госпитализированных детей в возрасте до двух лет [15]. В Соединенных Штатах, Японии и регионах Европы именно ВГЧ-6В является преобладающей причиной детских инфекций, вызываемые ВГЧ-6. [16, 17] В этих регионах возникает внезапная экзантема у детей до двух лет, этиологическим фактором обнаружен ВГЧ-6В. [18] Так же причиной внезапной экзантемы у детей может быть вирус герпеса 7 типа [19, 20].

Вирус герпеса 6 типа представлен в виде двуцепочечной ДНК. Размер генома вирусов ВГЧ-6А или ВГЧ-6В колеблется от 159 до 162 кб и состоит из нескольких отдельных областей (рис. 1) [21, 22, 23]. Геном ВГЧ-6 состоит из уникальной центральной части (U ~ 145 кб), которую окружают одинаковые прямые повторы ([direct repeats — DR- DR R и DR L] ~ 9 кб), которые заключены в рас1 и рас2 последовательности, участвующие в расщеплении и упаковке генома ВГЧ-6 [21, 22, 23, 24]. Рядом с рас1 и рас2 последовательностями находятся четыре области, которые содержат теломерподобные последовательности. Последовательности гексануклеотидных теломеров ВГЧ-6 (TTAGGG) идентичны последовательностям теломера человека (TRS — telomere-repeat-like sequences) и могут встречаться как идеальные повторы теломеров в тандеме или в виде несовершенных повторов, которые прерываются переменным числом других нуклеотидов. В среднем на левом конце вирусного генома насчитывается примерно 50–60 теломерных повторов [23, 24, 25]. В геномах HHV-6А и HHV-6В также содержатся основные повторяющиеся элементы, расположенные вблизи правого конца уникальной области длины: R1, R2 и R3, а HHV-6В имеет дополнительный повторяющийся элемент R0, расположенный на стыке DR L и уникального сегмента [24, 25].

Как все герпесвирусы, ВГЧ-6 создает пожизненную латентность, в которой вирусный геном сохраняется и распространяется на дочерние клетки без инфицирования вирусом; при этом экспрессия вирусных генов ограничена. Предполагаемым местом локализации латентной вирусной инфекции является популяция моноцитов / макрофагов. Однако *in vitro* латентная инфекция была найдена в клетках-предшественниках костного мозга [26] и Т-клетках [27, 28], как для ВГЧ-6А, так и для ВГЧ-6В. Латентная инфекция, вызванная вирусом герпеса 6-го типа, была впервые обнаружена в мононуклеарах периферической крови пациентов (РВМС) и описана как ковалентная связь между ДНК ВГЧ-6 и высокомолекулярной клеточной ДНК. Арбакл и др. продемонстрировали, что ВГЧ-6А, так и ВГЧ-6В преимущественно превращаются в латентную инфекцию путем интеграции в теломеры хромосом хозяина, и во время существования в форме латентной инфекции отсутствуют свободные формы вируса в инфицированной клетке [29, 30] Интеграция ВГЧ-6 не зависит от места и может потенциально возникать в области теломер любой хромосомы хозяина любой инфицированной ВГЧ-6 клетки. Интеграция *in vitro* была показана в различных клеточных сериях, включая Т-клетки JNanp и Molt3, и серию клеток эмбриональной почки человека HEK293T [29, 30].

Сообщалось о хромосомном интегрированном ВГЧ-6 как *in vivo*, так и *in vitro*, и интеграция в гаметы может привести к наследованию ВГЧ-6 [30, 31, 32, 33]. Это состояние называется хромосомно-интегрированным в ситуации, когда его геном интегрирован в теломеру хромосомы клетки хозяина. Как известно теломеры — это концевые части ДНК, представляющие собой многократно повторяющуюся последовательность TTAGGG. Теломеры защищают хромосомы от укорочения при делении, им отводят роль биологических часов организма [34]. Хромосомно интегрированный ВГЧ-6 встречается примерно у 1% населения мира и считается основным способом врожденной передачи ВГЧ-6 [35]. Унаследованный вирусный геном передается последующим поколениям менделевским способом, и все хВГЧ-6-положительные индивидуумы содержат одну копию вирусного генома в каждой зародышевой клетке. В результате у этих людей наблюдается стойкая высокая вирусная нагрузка (1×10^6 – 1×10^7 копий/мл) в цельной крови, и волосные фолликулы, лейкоциты и другие образцы также будут вирус-положительными [36, 37, 38, 39].

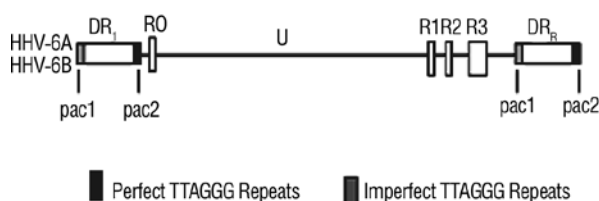


Рис. 1

В 2015 году исследование Annie Gravel, Isabelle Dubuc, Guillaume Morissette и др. показало взаимосвязь между хиВГЧ-6 и стенокардией. Распространенность стенокардии в три раза выше у субъектов хиВГЧ-6⁺ относительно хиВГЧ-6⁻. Проводился анализ ДНК и длина теломера у 19 597 участников в возрасте от 40 до 69 лет с помощью количественной ПЦР, выкопировка медицинских записей, анализ гематологических, биохимических показателей и учет антропометрических данных, и также анализ длины теломеров между субъектами хиВГЧ-6⁺ и хиВГЧ-6⁻. Распространенность хиВГЧ-6 составляла 0,58%. Двусторонняя логистическая регрессия с коррекцией Холма–Бонферрони была использована для определения эффектов хиВГЧ-6, пола и их влияния на заболевание. Из 50 заболеваний, частота стенокардии значительно повышена (3,3×) у лиц с хиВГЧ-6⁺, по сравнению с субъектами хиВГЧ-6⁻ ($P = 0,017$; 95% ДИ, 1,73–6,35). При поправке на потенциальные мешающие факторы (возраст, индекс массы тела, процентное содержание жира в организме и систолическое артериальное давление) распространенность стенокардии оставалась в три раза выше у субъектов хиВГЧ-6⁺ ($P = 0,015$, 95% ДИ, 1,23–7,15). Анализ длины теломер между хиВГЧ-6⁺ без стенокардии, хиВГЧ-6⁻ со стенокардией и хиВГЧ-6⁺ со стенокардией указывает на то, что хиВГЧ-6⁺ со стенокардией имеют более короткие теломеры, чем возрастные объекты хиВГЧ-6⁻ ($P = 0,006$) [40].

В настоящее время в России проводится мало исследований на тему дифференциальной диагностики вируса герпеса 6-го типа — идентификации активной, латентной вирусной инфекции и хиВГЧ-6. Это мешает врачам, инфекционистам в особенности, избежать неправильной постановки диагноза и полипрагмазии.

В 2017 году было опубликовано исследование группы ученых — Masaru Ihira, Akiko Urashima, Hiroki Miura и др., подтверждающих в очередной раз актуальность правильной дифференциальной диагностики вируса герпеса 6-го типа. Для идентификации/различия активной и скрытой вирусной инфекции и хиВГЧ-6 использовалась обратная

транскрипционная полимеразная цепная реакция (RT-PCR) в реальном времени. В этом исследовании был разработан метод ПЦР в реальном времени для выявления специфичных для ВГЧ-6А транскриптов и оценки его надежности для анализа клинических образцов. Для разработки специфичных анализов (ПЦР в реальном времени) для ВГЧ-6А были выбраны три разных класса транскрипции гена (немедленный: U90, ранний: U12 и поздний: U100). Для определения специфичности и чувствительности анализа использовали данные последовательностей плазмидных ДНК, содержащих целевые последовательности, а также мРНК извлеченные из клеток, инфицированных ВГЧ-6А. Мононуклеары периферической крови, собранные у пациентов с первичной или реактивированной инфекцией ВГЧ-6В, и одного пациента с хиВГЧ-6 тяжелым комбинированным иммунодефицитом, с реактивацией ВГЧ-6А, использовали для оценки надежности анализа. Специфичные для ВГЧ-6А лабораторные анализы: ПЦР в режиме реального времени, усиливали плазмиды, содержащие целевые последовательности в концентрациях от 10 до 1×10^6 копий за реакцию. Коэффициент вариации внутри испытания составлял менее 5%. Три класса транскриптов гена ВГЧ-6А не были обнаружены ни в одном из образцов ВГЧ-6В, выделенных у пациентов. У пациента с хиВГЧ-6 тяжелым комбинированным иммунодефицитом в образцах мононуклеаров во время виремии были обнаружены высокие числа копий транскриптов ВГЧ-6А U12 и U100. Таким образом, была доказана высокая чувствительность ПЦР в реальном времени, нацеленной на три класса транскриптов гена ВГЧ-6А. Этот метод должен быть полезен для дифференциальной диагностики активной инфекции ВГЧ-6А от латентной инфекции или хромосомно-интегрированного ВГЧ-6А.

В 2014 году группа французских исследователей — Céline Bressollette-Bodin, Thi Van Ha Nguyen и др. опубликовала результаты исследования, в котором были найдены молекулярные инструменты для выявления и количественного определения транскриптов ВГЧ-6, которые могут использоваться в клинической практике. Для количественной оценки немедленной U90 и поздних мРНК U100 были разработаны две одношаговые обратные транскриптазы для количественной ПЦР диагностики в режиме реального времени. Нагрузку вирусной мРНК сравнивали с нагрузкой вирусной ДНК во время заражения *in vitro* и в образцах крови, собранных у пациентов, получивших

пересадку стволовых клеток. Клетки МТ4 культивировали при 37 °С в 5% CO₂ в среде RPMI-1640 (Sigma Aldrich), в качестве дополнения — 10% эмбриональная телячья сыворотка, пенициллин 10³ ед/мл, колимицин 2500 ед/мл и стрептомицин 10 мг/мл. Клетки МТ4 инфицировали штаммом HHV-6B HST при 0,01 разновидности инфекции (moi) и собирали через 0, 2, 6, 24 ч и до 8 дней после инфицирования. Зараженные клетки, собранные через 8 дней после инфицирования, также использовались в качестве положительного контроля (МТ4 HST) для проверки. Все ДНК и РНК очищали, используя соответственно набор крови и ткани DNeasy и RNeasy Minikit (Qiagen, Courtaboeuf, France). Во время экстракции РНК остаточную ДНК удаляли с использованием набора Qiagen. Шестьдесят образцов крови были собраны у шестнадцати пациентов с трансплантацией гемопоэтических стволовых клеток в течение недели после обнаружения инфекции ВГЧ-6, определяемой по меньшей мере одной ДНК-нагрузкой ВГЧ-6 > 1000 копий/мл цельной крови или двумя последовательными положительными нагрузками ДНК [41]. Проводился лизис эритроцитов, лейкоциты хранили в буфере RLT (Qiagen) при -70 °С. Все ДНК и РНК очищали от клеточных лизатов. Во время экстракции РНК остаточную ДНК удаляли с использованием Qiagen. Анализы проводили с использованием Rotorgene 6000® (Corbett Life Science, Австралия). Для клинического примера вирусные нагрузки выражали как количество копий на мл. В результате было доказано, что измерение вирусной нагрузки ДНК в периферической крови в настоящее время является самым мощным и эффективным методом диагностики активной инфекции ВГЧ-6 [42].

Однако некоторые вирусные характеристики могут ухудшить точность этого теста. Во-первых, необходимо определить порог ДНК, после которого определяется активная инфекция, т.е. наличие реплицирующего вируса можно отличить от задержки ВГЧ-6 в мононуклеарах периферической крови. Такой порог еще не определен. Более того, присутствие хВГЧ-6, хотя и нечастое, вызывает неправильное истолкование высокой вирусной нагрузки, поскольку в этом случае абсолютное число копий ДНК в крови и/или мононуклеарах периферической крови всегда очень велико. ДНК-квантификация в плазме была предложена как информативный маркер активной инфекции. Однако она отражает активность (наличие) инфицированных клеток, а не новое производство вирусов [43, 44].

Таким образом, наиболее перспективным маркером для оценки репликации ВГЧ-6 является обнаружение специфических вирусных транскриптов на разных этапах цикла размножения. Такой подход не только позволит дифференцировать латентную инфекцию, ВГЧ-6 и реплицирующийся вирус, но также поможет исследовать размножение ВГЧ-6 *in vitro*. В исследовании было разработано 2 теста ПЦР в реальном времени для мониторинга вирусной транскрипции. Вирусные гены были выбраны на основе нескольких данных, описывающих картину транскрипции ВГЧ-6 [45]. Ген *U89-90* кодирует белок IE1, и его транскрипция начинается на самых ранних стадиях инфекции [46]. Ген *U100* кодирует комплекс белков оболочки gp 82-105, который является частью вирусного комплекса, который связывается с клеточным рецептором CD46 [47]. Его транскрипция начинается на ранней стадии в непривязанной форме, и соединенный транскрипт производится позднее. Праймеры были разработаны для охвата двух экзонов. Поскольку в процессе активной инфекции могут быть обнаружены как соединенные, так и нерасщепленные транскрипты [48], были разработаны участки, которые гибридизуются в кодирующей последовательности. Тем не менее, разделение/выбор между ними может быть выполнен с помощью гелеобразования. Систематическая ДНК-обработка во время очистки РНК позволила устранить остаточную геномную ДНК. Два транскрипта также были выбраны, потому что они продуцируются в большом количестве во время инфекционного цикла. Успешное обнаружение транскриптов U100 уже было описано в периферической крови активно инфицированных пациентов при первичном инфицировании [49]. Показано, что среди немедленных генов экспрессия U90 мРНК более выражена, чем U16/17 в инфицированных мононуклеарах периферической крови.

ВЫВОДЫ

Вирус герпеса 6 типа может быть обнаружен в плазме крови только ненадолго во время первоначальной инфекции или ее острой реактивации. В большинстве случаев реактивация происходит у пациентов с трансплантацией, принимающих иммунодепрессанты или у людей с иммунными дефицитами. Обнаружение ДНК ВГЧ-6 в плазме может обозначать наличие активной инфекции у пациента. Из всех вышеприведенных исследований можно сделать вывод, что самым эффективным и информативным методом оценки острой вирусной инфекции является количественная ПЦР

диагностика в режиме реального времени плазмы крови. При использовании метода ИФА-диагностики вируса герпеса 6-го типа необходимо помнить о широком и повсеместном заражении людей этим вирусом. К 2 годам практически каждый житель планеты выработал антитела к вирусу герпеса 6-го типа, и при использовании серологических тестов большее значение имеет количественная оценка антител к вирусу. При возникновении вопроса выбора между ПЦР-диагностикой и ИФА-диагностикой вируса герпеса важна клиническая оценка картины заболевания, анамнеза пациента и жалоб.

ЛИТЕРАТУРА

- Alvarez-Lafuente R1, García-Montojo M, De las Heras V, Bartolomé M, Arroyo R.
- Clinical parameters and HHV-6 active replication in relapsing-remitting multiple sclerosis patients. *J Clin Virol.* 2006 Dec;37 Suppl 1:S24-6. <http://www.hhv-6foundation.org/overview.html>.
- Yoshikawa T. Human herpesvirus 6 infection in hematopoietic stem cell transplant patients. (англ.) // *British journal of haematology.* — 2004. Vol. 124, no. 4. P. 421–432. PMID 14984492.
- Caserta M. T., McDermott M. P., Dewhurst S., Schnabel K., Carnahan J. A., Gilbert L., Lathan G., Lofthus G. K., Hall C. B. Human herpesvirus 6 (HHV6) DNA persistence and reactivation in healthy children // *J Pediatr.* 2004; 145 (4): 478–484.
- Principles and practice of pediatric infectious diseases edited by Sarah S. Long, Larry K. Pickering, Charles G. Prober Churchill Livingstone Inc. 1997, p. 1821.
- Yamanishi K., Okuno T., Shiraki K. et al. Identification of human herpesvirus-6 as a causal agent for exanthem subitum. *Lancet* 1988; 1: 1065—1067.
- Ablashi, D.; Agut, H.; Alvarez-Lafuente, R.; Кларк, Д.А. Dewhurst, S.; DiLuca, D.; Flamand, L.; Frenkel, N.; Gallo, R.; Gompels, UA; и другие. Классификация HHV-6A и HHV-6B как отдельных вирусов. *Архив педиатрии Виол.* 2014, 159, 863–870.
- Takahashi, K.; Sonoda, S.; Higashi, K.; Kondo, T.; Takahashi, H.; Takahashi, M.; Yamanishi, K. Predominant CD4 T-lymphocyte tropism of human herpesvirus 6-related virus. *J. Virol.* 1989, 63, 3161–3163.
- Salahuddin, S.Z.; Ablashi, D.V.; Markham, P.D.; Josephs, S.F.; Sturzenegger, S.; Kaplan, M.; Halligan, G.; Biberfeld, P.; Wong-Staal, F.; Kramarsky, B.; et al. Isolation of a new virus, HBLV, in patients with lymphoproliferative disorders. *Science* 1986, 234, 596–601.
- Lusso, P.; Malnati, M.; De Maria, A.; Balotta, C.; DeRocco, S.E.; Markham, P.D.; Gallo, R.C. Productive infection of CD4+ and CD8+ mature human T cell populations and clones by human herpesvirus 6. Transcriptional down-regulation of CD3. *J. Immunol.* 1991, 147, 685–691.
- Lusso, P.; Markham, P.D.; Tschachler, E.; di Marzo Veronese, F.; Salahuddin, S.Z.; Ablashi, D.V.; Pahwa, S.; Krohn, K.; Gallo, R.C. In vitro cellular tropism of human B-lymphotropic virus (human herpesvirus-6). *J. Exp. Med.* 1988, 167, 1659–1670.
- Liszewski, M.K.; Post, T.W.; Atkinson, J.P. Membrane cofactor protein (MCP or CD46): Newest member of the regulators of complement activation gene cluster. *Annu. Rev. Immunol.* 1991, 9, 431–455.
- Tang, H.; Serada, S.; Kawabata, A.; Ota, M.; Hayashi, E.; Naka, T.; Yamanishi, K.; Mori, Y. CD134 is a cellular receptor specific for human herpesvirus-6B entry. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 2013,
- Bates, M.; Monze, M.; Bima, H.; Kapambwe, M.; Clark, D.; Kasolo, F.C.; Gompels, U.A. Predominant human herpesvirus 6 variant a infant infections in an HIV-1 endemic region of sub-Saharan Africa. *J. Med. Virol.* 2009, 81, 779–789.
- Tembo, J.; Kabwe, M.; Chilukutu, L.; Chilufya, M.; Mwaanza, N.; Chabala, C.; Zumla, A.; Bates, M. Prevalence and risk factors for betaherpesvirus DNAemia in children >3 weeks and <2 years of age admitted to a large referral hospital in sub-saharan africa. *Clin. Infect. Dis.* 2015, 60, 423–431.
- Wang, F.Z.; Dahl, H.; Ljungman, P.; Linde, A. Lymphoproliferative responses to human herpesvirus-6 variant a and variant b in healthy adults. *J. Med. Virol.* 1999, 57, 134–139.
- Jayavasu, C.; Balachandra, K.; Wongchuree, S.; Kositanont, U.; Warachit, P. The latency rate of human herpesvirus 6 (HHV6) in positive and negative human immunodeficiency virus (HIV) infection of intravenous drug users (IVDU). *Asian Pac. J. Allergy Immunol.* 1997, 15, 29–33.
- Yamanishi, K.; Okuno, T.; Shiraki, K.; Takahashi, M.; Kondo, T.; Asano, Y.; Kurata, T. Identification of human herpesvirus-6 as a causal agent for exanthem subitum. *Lancet* 1988, 1, 1065–1067.
- Tanaka, K.; Kondo, T.; Torigoe, S.; Okada, S.; Mukai, T.; Yamanishi, K. Human herpesvirus 7: Another causal agent for roseola (exanthem subitum). *J. Pediatr* 1994, 125, 1–5.
- Torigoe, S.; Kumamoto, T.; Koide, W.; Taya, K.; Yamanishi, K. Clinical manifestations associated with human herpesvirus 7 infection. *Arch Dis Child* 1995, 72, 518–519.
- Isegawa, Y.; Mukai, T.; Nakano, K.; Kagawa, M.; Chen, J.; Mori, Y.; Sunagawa, T.; Kawanishi, K.; Sashihara, J.; Hata, A.; et al. Comparison of the complete DNA sequences of human herpesvirus 6 variants A and B. *J. Virol.* 1999, 73, 8053–8063.
- Gompels, U.A.; Macaulay, H.A. Characterization of human telomeric repeat sequences from human herpesvirus 6 and relationship to replication. *J. Gen. Virol.* 1995, 76 Pt 2, 451–458.
- Dominguez, G.; Dambaugh, T.R.; Stamey, F.R.; Dewhurst, S.; Inoue, N.; Pellett, P.E. Human herpesvirus 6B genome sequence: Coding content and comparison with human herpesvirus 6A. *J. Virol.* 1999, 73, 8040–8052.
- Thomson, B.J.; Dewhurst, S.; Gray, D. Structure and heterogeneity of the a sequences of human herpesvirus 6 strain variants U1102 and Z29 and identification of human telomeric repeat sequences at the genomic termini. *J. Virol.* 1994, 68, 3007–3014.
- Gravel, A.; Hall, C.B.; Flamand, L. Sequence analysis of transplacentally acquired human herpesvirus 6 DNA is consistent with transmission of a chromosomally integrated reactivated virus. *J. Infect. Dis.* 2013, 207, 1585–1589.
- Luppi, M.; Barozzi, P.; Morris, C.; Maiorana, A.; Garber, R.; Bonacorsi, G.; Donelli, A.; Marasca, R.; Tabilio, A.; Torelli, G. Human herpesvirus 6 latently infects early bone marrow progenitors in vivo. *J. Virol.* 1999, 73, 754–759.
- Arbuckle, J.H.; Medveczky, M.M.; Luka, J.; Hadley, S.H.; Luegmayer, A.; Ablashi, D.; Lund, T.C.; Tolar, J.; De Meirleir, K.; Montoya, J.G.; et al. The latent human herpesvirus-6A genome specifically integrates in telomeres

- of human chromosomes in vivo and in vitro. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 2010, 107, 5563–5568.
28. Arbuckle, J.H.; Pantry, S.N.; Medveczky, M.M.; Prichett, J.; Loomis, K.S.; Ablashi, D.; Medveczky, P.G. Mapping the telomere integrated genome of human herpesvirus 6A and 6B. *Virology* 2013, 442, 3–11.
 29. Arbuckle, J.H.; Medveczky, M.M.; Luka, J.; Hadley, S.H.; Luegmayer, A.; Ablashi, D.; Lund, T.C.; Tolar, J.; De Meirleir, K.; Montoya, J.G.; et al. The latent human herpesvirus-6A genome specifically integrates in telomeres of human chromosomes in vivo and in vitro. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 2010, 107, 5563–5568.
 30. Arbuckle, J.H.; Pantry, S.N.; Medveczky, M.M.; Prichett, J.; Loomis, K.S.; Ablashi, D.; Medveczky, P.G. Mapping the telomere integrated genome of human herpesvirus 6A and 6B. *Virology* 2013, 442, 3–11.
 31. Tanaka-Taya, K.; Sashihara, J.; Kurahashi, H.; Amo, K.; Miyagawa, H.; Kondo, K.; Okada, S.; Yamanishi, K. Human herpesvirus 6 (HHV-6) is transmitted from parent to child in an integrated form and characterization of cases with chromosomally integrated HHV-6 DNA. *J. Med. Virol.* 2004, 73, 465–473.
 32. Hall, C.B.; Caserta, M.T.; Schnabel, K.; Shelley, L.M.; Marino, A.S.; Carnahan, J.A.; Yoo, C.; Lofthus, G.K.; McDermott, M.P. Chromosomal integration of human herpesvirus 6 is the major mode of congenital human herpesvirus 6 infection. *Pediatrics* 2008, 122, 513–520.
 33. Daibata, M.; Taguchi, T.; Nemoto, Y.; Taguchi, H.; Miyoshi, I. Inheritance of chromosomally integrated human herpesvirus 6 DNA. *Blood* 1999, 94, 1545–1549.
 34. Никольский М.А., Голубцова В.С. Хромосомно-интегрированный вирус герпеса человека 6 типа. *Инфекция и иммунитет* 2015, Т. 5, № 1, с. 7–14
 35. Leong, H.N.; Tuke, P.W.; Tedder, R.S.; Khanom, A.B.; Eglin, R.P.; Atkinson, C.E.; Ward, K.N.; Griffiths, P.D.; Clark, D.A. The prevalence of chromosomally integrated human herpesvirus 6 genomes in the blood of UK blood donors. *J. Med. Virol.* 2007, 79, 45–51.
 36. Ljungman, P.; Wang, F.Z.; Clark, D.A.; Emery, V.C.; Remberger, M.; Ringden, O.; Linde, A. High levels of human herpesvirus 6 DNA in peripheral blood leukocytes are correlated to platelet engraftment and disease in allogeneic stem cell transplant patients. *Br. J. Haematol.* 2000, 111, 774–781.
 37. Clark, D.A.; Nacheva, E.P.; Leong, H.N.; Brazma, D.; Li, Y.T.; Tsao, E.H.; Buyck, H.C.; Atkinson, C.E.; Lawson, H.M.; Potter, M.N.; et al. Transmission of integrated human herpesvirus 6 through stem cell transplantation: Implications for laboratory diagnosis. *J. Infect. Dis.* 2006, 193, 912–916.
 38. Ward, K.N.; Leong, H.N.; Nacheva, E.P.; Howard, J.; Atkinson, C.E.; Davies, N.W.; Griffiths, P.D.; Clark, D.A. Human herpesvirus 6 chromosomal integration in immunocompetent patients results in high levels of viral DNA in blood, sera, and hair follicles. *J. Clin. Microbiol.* 2006, 44, 1571–1574.
 39. Caserta, M.T.; Hall, C.B.; Schnabel, K.; Lofthus, G.; Marino, A.; Shelley, L.; Yoo, C.; Carnahan, J.; Anderson, L.; Wang, H. Diagnostic assays for active infection with human herpesvirus 6 (HHV-6). *J. Clin. Virol.* 2010, 48, 55–57.
 40. Gravel A1, Dubuc I1, Morissette G1, Sedlak RH2, Jerome KR3, Flamand L4. Inherited chromosomally integrated human herpesvirus 6 as a predisposing risk factor for the development of angina pectoris. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2015 Jun 30;112(26):8058–63. doi: 10.1073/pnas.1502741112. Epub 2015 Jun 15.
 41. Chevallier, P.; Hebia-Fellah, I.; Planche, L.; Guillaume, T.; Bressollette-Bodin, C.; Coste-Burel, M. et al. Human herpesvirus 6 infection is a hallmark of cord blood transplant in adults and may participate to delayed engraftment: a comparison with matched unrelated donors as stem cell source. *Bone Marrow Transplant.* 2010; 45: 1204–1211.
 42. Agut, H. Deciphering the clinical impact of acute human herpesvirus 6 (HHV-6) infections. *J Clin Virol.* 2011; 52: 164–171.
 43. Caserta, M.T., Hall, C.B., Schnabel, K., Lofthus, G., Marino, A., Shelley, L. et al. Diagnostic assays for active infection with human herpesvirus 6 (HHV-6). *J Clin Virol.* 2010; 48: 55–57.
 44. Achour, A., Boutolleau, D., Gautheret-Dejean, A., and Agut, H. Is human herpesvirus-6 DNA in plasma the right marker for active infection?. *J Infect Dis.* 2006; 194: 1795–1796 (author reply 1796/1797).
 45. Mirandola, P., Menegazzi, P., Merighi, S., Ravaioli, T., Casai, E., and Di Luca, D. Temporal mapping of transcripts in herpesvirus 6 variants. *J Virol.* 1998; 72: 3837–3844.
 46. Tsao, E.H., Kellam, P., Sin, C.S.Y., Rasaiyaah, J., Griffiths, P.D., and Clark, D.A. Microarray-based determination of the lytic cascade of human herpesvirus 6B. *J Gen Virol.* 2009; 90: 2581–2591.
 47. Mori, Y., Akkapaiboon, P., Yang, X., and Yamanishi, K. The human herpesvirus 6 U100 gene product is the third component of the gH-gL glycoprotein complex on the viral envelope. *J Virol.* 2003; 77: 2452–2458.
 48. Andre-Garnier, E., Robillard, N., Costa-Mattioli, M., Besse, B. Billaudel, S., and Imbert-Marcille, B-M. A one-step RT-PCR and a flow cytometry method as two specific tools for direct evaluation of human herpesvirus-6 replication. *J Virol Methods.* 2003; 108: 213–222.
 49. Norton, R.A., Caserta, M.T., Hall, C.B., Schnabel, K., Hocknell, P., and Dewhurst, S. Detection of human herpesvirus 6 by reverse transcription-PCR. *J Clin Microbiol.* 1999; 37: 3672–3675.