

Характеристика хантавирусов – возбудителей зоонозных геморрагических лихорадок

А.А. Ишмухаметов^{1,2}, Т.К. Дзагурова¹, В.Г. Морозов³, С.С. Курашова¹,
М.В. Баловнева¹, С.Е. Соцкова¹, Е.А. Ткаченко^{1,2} (evgeniytkach@mail.ru)

¹ ФГБНУ «Федеральный научный центр исследований и разработки иммунобиологических препаратов им. М.П.Чумакова РАН», ФАНО России, Москва
² ФГАОУ ВО «Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России 3000 «Гепатолог», Самара

Резюме

Геморрагическая лихорадка с почечным синдромом (ГЛПС) на протяжении уже многих лет представляет значительную проблему для здравоохранения многих стран Евразийского континента. В 70-80х были обнаружены вирусы, вызывающие ГЛПС, которые вместе с другими близко родственными, но не патогенными для человека вирусами, составили новый род *Hantavirus* семейства *Bunyaviridae*. В результате изучения вспышки тяжелого заболевания на юго-западе США в 1993 г., было показано, что возбудителем заболевания также является хантавирус. Болезнь впоследствии получила название хантавирусный пульмональный синдром (ХПС). В настоящее время установлено широкое распространение хантавирусов, носителями которых в природе являются различные виды грызунов. Хантавирусы вызывают хроническую бессимптомную инфекцию у грызунов и передаются человеку аэрогенным путём через экскреты инфицированных животных. Долгое время исследования хантавирусов были ограничены их высокой патогенностью, отсутствием лабораторной модели инфекции на животных и низким уровнем размножения вируса в клеточных культурах. За последние годы, благодаря стремительному прогрессу в разработке и применении молекулярно-биологических методов, были достигнуты значительные успехи в исследованиях хантавирусов. В настоящем обзоре представлены данные, касающиеся изучения различных аспектов экологии, молекулярной биологии, морфологии, патогенеза, диагностики и других характеристик хантавирусов.

Ключевые слова: хантавирус, ГЛПС, ХПС

Characteristics of Hantaviruses as Causative Agents of the Zoonotic Hemorrhagic Fevers

A.A. Ishmukhametov^{1,2}, T.K. Dzagurova¹, V.G. Morozov³, S.S. Kurashova¹, M.V. Balovneva¹,
C.E. Sotskova¹, E.A. Tkachenko¹ (evgeniytkach@mail.ru)

¹ Federal State Budget Institution of Science «Chumakov Federal Scientific Center for Research and Development of Immune-and-Biological Products of Russian Academy of Sciences», Moscow

² Federal State Autonomous Educational Institution of Higher Education «I.M. Sechenov First Moscow State Medical University» of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation 3LLC «Hepatolog», Samara

Abstract

Hemorrhagic fever with renal syndrome (HFRS) has been a major concern for public health in different countries of the Euroasian continent for decades. In 1970s the disease was associated with newly discovered viruses that were to become new members (under the genus *Hantavirus*) of the family *Bunyaviridae*. During a deadly outbreak of pulmonary syndrome in the southwestern United States in 1993, it was shown that causative agents of this devastating disease (designated hantavirus cardio-pulmonary syndrome, HCPS) were also hantaviruses. By now hantaviruses are found worldwide and associated with different species of the order *Rodentia*, which are their natural carriers. Hantaviruses persistently infect rodents, however do not cause any disease in them and are transmitted to humans through aerosolized excreta. For a long time studies of hantaviruses were limited by their high pathogenicity, absence of animal model of infection, and poor growth in cell cultures. With the rapid development of molecular biological techniques in last several years substantial progress has been made in various fields of hantavirus research. Different aspects of hantavirus ecology, molecular biology, morphology and pathogenesis, as well as current diagnostic methods and other characteristics of hantaviruses are considered in this review.

Key words: hantavirus, HFRS, HPS

Эпидемиология

История «хантавирусологии» ведет свое начало с 1976 года, когда удалось обнаружить с помощью непрямого метода флуоресцирующих антител (МФА) специфический антиген вируса-возбудителя

ГЛПС в криостатных срезах легочной ткани полевых мышей (*Apodemus agrarius coreae*) [1]. Первый штамм вируса был выделен от полевой мыши, отловленной в эндемичном по ГЛПС районе Южной Кореи, на территории которого протекает река Хан-

таан. Вирусный изолят был закреплён в последовательных пассажах на полевых мышах и затем зарегистрирован как *Hantaan 76-118* в Международном каталоге арбовирусов, как прототипный штамм вируса-возбудителя ГЛПС.

В результате изучения физико-химических, биохимических и морфологических характеристик возбудителя ГЛПС была установлена его таксономическая принадлежность к семейству *Bunyaviridae* в соответствии с современной классификацией вирусов [2]. Новый род этого семейства, названный *Hantavirus*, был образован специально для размещения последующих хантавирусов. С этого времени вместо прежнего названия «вирус ГЛПС» принято употреблять «хантавирус».

В 1993 году на территории США произошла вспышка заболевания, названного «хантавирусный пульмональный синдром» (ХПС). Возбудителем оказался новый хантавирус, первоначально охарактеризованный лишь с помощью молекулярно-биологических методов, а впоследствии изолированный в культуре клеток VERO-E6 и получивший название *Sin Nombre* [3]. Позднее в других штатах из различных природных носителей были выделены хантавирусы *Black Creek Canal*, *New York* и *Bayou*, также вызывающие у людей сходное по патогенезу заболевание [4].

К настоящему времени род *Hantavirus* включает 23 зарегистрированных серологически и/или генетически различающихся друг от друга хантавирусов. Кроме того, ещё 30 вирусов рассматриваются как возможно новые хантавирусные виды. К ним относятся не только патогенные для человека хантавирусы, но и вирусы с неустановленной к настоящему времени эпидемиологической значимостью. Вопрос о реальном количестве существующих в природе хантавирусов остается открытым, как и вопрос об эпидемиологической опасности еще не выявленных к настоящему времени хантавирусных генотипов, их природных резервуаров и носителей.

Факт обнаружения хантавирусов отмечен, практически, во всем мире, кроме Антарктического континента. В настоящее время общепринятой является гипотеза, что каждый хантавирус в природных условиях эволюционно ассоциирован с единственным видом мелких млекопитающих [5]. При этом накоплен большой фактический материал, свидетельствующий о том, что основными хозяевами хантавирусов являются не только представители отряда Грызунов (*Rodentia*), как считалось до недавнего времени, но и представители отряда Насекомоядных (*Insectivora*) [6].

Понимание того, что новые хантавирусы, обнаруженные у насекомоядных, в частности у землероек и летучих мышей, более генетически разнообразны, чем хантавирусы, инфицирующие грызунов, наводит на мысль о том, что эволюционная история хантавирусов более древняя и

сложная, чем ранее предполагалось, и что грызуны, возможно, не являлись исходным хозяином для предковых форм хантавирусов [7].

Описаны случаи обнаружения хантавирусов и/или антител у кошек, птиц, телят и других видов [8 – 11], которые, судя по косвенным данным, могут быть лишь случайными хозяевами возбудителя, то есть служить биологическим тупиком инфекции. Однако этот феномен еще требует экспериментального подтверждения.

Возбудителями ГЛПС в странах Евразии являются вирусы *Hantaan*, *Seoul*, *Amur*, *Puumala* и *Dobrava/Belgrade* (4 генотипа), а хантавирусного пульмонального синдрома - вирусы *Sin Nombre*, *Black Creek Canal*, *New York*, *Bayou* в странах Северной Америки и вирусы *Andes*, *Laguna Negra* – в странах Южной Америки. В отличие от ГЛПС в клинической картине ХПС ведущим является поражение легких (интерстициальная пневмония), сопровождающееся, как правило, очень тяжелым течением болезни (отек легких, кардишок), в 40 – 50% случаев заканчивающимся летальным исходом [12].

Морфология и молекулярная биология

Вирионы хантавирусов имеют округлую форму с размером в диаметре от 90 до 130 нм. Липидосодержащая оболочка имеет выступы, сформированные вирионными гликопротеинами; вирусные частицы морфологически однородны [13, 14]. Плавающие плотности вирусных частиц в растворах сахарозы и хлорида цезия составляют 1,16 – 1,17 г/мл и 1,20 – 1,21 г/мл соответственно [15].

Хантавирусы инактивируются растворителями липидов и термообработкой при температуре 50 °С; они стабильны лишь в нейтральной среде при значениях pH не ниже 5 и не выше 8 [15].

Геном хантавирусов представляет собой сегментированную одноцепочечную негативную РНК. Три сегмента генома: – большой (L), средний (M) и малый (S) – соответственно кодируют вирусную РНК-зависимую РНК-полимеразу L, поверхностные гликопротеины G_N и G_C и нуклеокапсидный белок N [16 – 18]. Каждый из геномных сегментов имеет единственную функционирующую открытую рамку трансляции (ОРТ). Вирусы других родов семейства *Bunyaviridae* имеют дополнительную ОРТ в составе M-сегмента, предшествующую последовательности первого гликопротеина и кодирующую неструктурный белок NS, а также амбиполярную (ambisense) ОРТ в составе S-сегмента, кодирующую другой неструктурный белок. В составе S-сегмента хантавирусов (кроме *Hantaan*, *Seoul* и *Belgrade/Dobrava*) имеется еще одна потенциальная ОРТ той же полярности, что и основная, однако соответствующий ей белок (7-10K) пока не обнаружен.

Вирусные белки L, G1, G2 и N имеют молекулярные массы 200K, 72K, 56K и 45K соответственно. Все три сегмента хантавирусной РНК имеют на 3'-концах одну и ту же характерную короткую по-

следовательность 3'-AUCAUCAUCUG-...-5', отличающую их от других буньявирусов.

Вирион проникает в клетку, прикрепляясь к ее поверхности участками одного или обоих наружных белков (G1 и G2), с последующим эндоцитозом. Для проникновения в клетку патогенные и непатогенные хантавирусы используют различные рецепторы, b3 и b1 интегрин соответственно [19].

Инициация транскрипции у хантавирусов, предположительно, происходит так же, как у вируса гриппа, а именно: эндонуклеаза, входящая в состав полимеразного комплекса вириона расщепляет мРНК зараженной клетки с образованием экпированных фрагментов, действующих впоследствии в качестве праймеров-затравок. Наличие у клеточных мРНК 5'-кэп-фрагментов является необходимым условием для описанного расщепления [20]. Полученные праймеры гетерогенны по нуклеотидным последовательностям и имеют длину 10 – 18 нуклеотидов. Эти неспецифические последовательности были обнаружены на 5'-концах РНК разных буньявирусов, включая хантавирусы. Наличие метилированных кэпов было доказано путем иммуноселекции мРНК с помощью специфических моноклональных антител [21]. Вероятный механизм инициации цепи, получивший название «репраймирование» (prime-and-realign), заключается в следующем. Первичная транскрипция с образованием мРНК инициируется гуанин-терминированным праймером, имеющим клеточное происхождение; синтез геномной РНК вызывается с помощью трифосфорилированного гуанина (ГТФ), комплементарного матричному цитозину в позиции +3. После удлинения цепи на несколько нуклеотидов, синтезируемая цепь переотжигается на предшествующем участке матрицы, благодаря наличию терминальных нуклеотидных повторов, после чего начинается непосредственно транскрипция геномной РНК.

Геномные РНК-сегменты образуют комплексы с N-белком, формируя L-, M- и S-нуклеокапсиды. Предшественник поверхностных гликопротеинов, кодирующийся РНК M-сегмента, расщепляется в процессе синтеза белка (котрансляционно) на гликопротеины G_N и G_C , путем воздействия клеточной сигнальной пептидазы на консервативный аминокислотный мотив WAASA [22]. Было показано [23], что ни G_N , ни G_C не могут покинуть эндоплазматический ретикулум, при условии, что они транслированы независимо друг от друга. Есть и другие данные [21], свидетельствующие, что поверхностные гликопротеины, экспрессированные поодиночке, транспортируются в различные клеточные компартменты: G_N – в комплекс Гольджи, а G_C – в эндоплазматический ретикулум. Оба исследования, однако, сходятся в том, что формирование функционального гликопротеинового комплекса возможно только в комплексе Гольджи, куда G_N и G_C транспортируются только в случае их последовательной трансляции с одного мРНК предшествен-

ника. После гликозилирования вирусные частицы созревают, почкуясь через мембрану комплекса Гольджи и образуя везикулы, которые транспортируются к плазматической мембране с последующим выходом вирионов путем слияния клеточной и везикулярных мембран [24].

Антигенные и генетические связи между различными хантавирусами

Антигенные свойства хантавирусов ассоциированы с эпитопами нуклеокапсидного белка и поверхностных гликопротеинов. При исследовании различных моноклональных антител к вирусу *Puumala* было выявлено, что нуклеокапсидный белок вызывает образование антител, не способных нейтрализовать инфекционную активность, тогда как эпитопы поверхностного гликопротеина, за некоторым исключением, стимулируют образование нейтрализующих, а также гемагглютинирующих антител [25].

Использование моноклональных антител в лабораторной диагностике сделало возможным детально определить антигенные связи между различными хантавирусами [26]. Тем не менее, результаты обследования различных хантавирусных штаммов с помощью данного метода могут быть весьма разноречивы, и безусловное предпочтение при выяснении антигенных взаимоотношений остаётся за реакцией нейтрализации.

В настоящее время на смену выявлению антигенного родства хантавирусов с помощью моноклональных антител пришел анализ генетического и эволюционного родства, проводимый с помощью математической обработки данных (филогенетический анализ) по нуклеотидным последовательностям вирусного генома. При сравнении полученных таким образом данных с результатами реакции нейтрализации по редукции числа бляшек и МФА с использованием моноклональных антител было показано, что они согласуются между собой [27].

До сих пор, однако, не разработаны критерии оценки молекулярно-генетических данных в отношении принадлежности хантавирусов к определенному виду. Международным комитетом по таксономии вирусов были предложены альтернативные критерии для видовой дифференциации хантавирусов, такие как прямое доказательство ассоциации с определенным видом (или подвидом) грызуна-резервуара и носителя; значительная (не менее 7%) степень различий в аминокислотных последовательностях нуклеокапсидного белка; не менее 4-х кратной двухсторонней разницы в опытах перекрёстной нейтрализации вирусов; отсутствие естественной реассортации с другими видами [28]. Необходимо все же помнить, что эти критерии искусственны и не могут строго отражать истинную картину генетического родства хантавирусов.

Репликация хантавирусов, как и других РНК-содержащих вирусов, сопровождается высокой частотой мутаций, вызываемых ошибками копиру-

ния РНК. Характеристики этих ошибок – скорость и частота мутаций. Скорость мутаций (среднее число нуклеотидных замен на один цикл репликации) была определена для вирусов *Hantaan* и *Seoul* – $1,7 \times 10^{-4}$ и $3,3 \times 10^{-4}$ нт/сайт/год, соответственно [29], и для вируса *Puumala* – от $0,7 \times 10^{-7}$ до $2,2 \times 10^{-6}$ нт/сайт/год [30]. Нуклеотидные различия среди хантавирусных видов весьма различны. Так среди штаммов вируса *Puumala* различия по S сегменту могут достигать 27 %, при этом различия по аминокислотным последовательностям не превышают 7,8 %, что, тем не менее, несколько превышает установленную международным комитетом по таксономии вирусов межвидовую разницу.

Явление генетической реассортации как *in vitro*, так и *in vivo*, было описано для вирусов семейства *Bunyaviridae* уже давно. Начиная с 1995 года, подобное явление было обнаружено авторами и у хантавирусов [31]. При этом возможность межвидовой геномной реассортации остается неизвестной.

Фенотипические изменения хантавирусов могут происходить при смене хозяина [32]. Как уже говорилось, в области изучения хантавирусов принята гипотеза о параллельной эволюции хантавирусов и их природных носителей-грызунов. Об этом свидетельствуют результаты филогенетического анализа, проведенного на большом генетическом материале – как хантавирусов, так и грызунов. Филогенетические взаимоотношения среди хантавирусов оказываются симметричными таковым у природных носителей: характер ветвления дендрограмм аналогичен у вирусов и их хозяев.

Предполагается, что эволюция хантавирусов, подобно другим РНК-содержащим вирусам, происходит благодаря двум известным механизмам: генетическому «дрейфу» (накоплению мутаций, а также делеций/вставок) и генетическому «шифту» (реассортации сегментов генома). Хантавирусы обнаруживаются у индивидуальных представителей природных носителей в виде относительно гомогенных (1% нуклеотидных различий) популяций – квазивидов [33]. Такой спектр близкородственных генотипов накапливается благодаря отсутствию механизмов генетической репарации. По-видимому, данный факт является основой быстрой эволюции хантавирусов, как представителей РНК-содержащих вирусов. Адаптация вируса к изменяющимся условиям окружающей среды происходит путем отбора наиболее приспособленного генотипа, который и накапливается в подавляющем большинстве, хотя наряду с главным присутствуют и минорные генотипы [31, 34].

Эпизоотология

У животных, при заражении их хантавирусами возникает бессимптомная инфекция [35], во время которой вирусный антиген может быть обнаружен во многих органах, в основном, в легких. Вирус довольно длительное время экскретируется у жи-

вотных со слюной, фекалиями и мочой. Передача вируса в популяции мышевидных грызунов происходит главным образом воздушно-пылевым путём.

Основным путем заражения людей также является воздушно-пылевой, при котором вирус, содержащийся в биологических выделениях зверьков, в виде аэрозоля попадает через верхние дыхательные пути в легкие человека, где условия для его размножения наиболее благоприятны, и затем с кровью переносится в другие органы и ткани. Заражение возможно также через поврежденную кожу при контакте с экскрементами инфицированных грызунов или со слюной в случае покуса зверьком человека. В странах Евразии не было зарегистрировано ни одного случая передачи инфекции от человека к человеку или внутрибольничного заражения ГЛПС. В то же время в Южной Америке было зафиксировано несколько случаев заражения вирусом Андес медицинского персонала от больных ХПС [36].

При изучении природных популяций рыжей полевки-резервуарного хозяина вируса *Puumala* были определены несколько фаз развития инфекции, маркерами которой служили антитела, антигены и вирусная РНК в легочной ткани грызунов. Первая фаза (первые 2 недели после заражения) характеризуется высокими титрами антигена и наличием РНК в легких (возможно выделение вируса в культуре клеток) и полным отсутствием гуморального иммунного ответа в отношении хантавирусов. Во второй фазе определяются все три маркера инфекции. В третьей фазе отмечается нарастание уровня антител и возможна детекция РНК, однако антиген не обнаруживается. При этом попытки выделить вирус на культуре клеток оказываются безуспешными. Четвертая, последняя, фаза характеризуется наличием антител и невозможностью выявления антигена и РНК в легочной ткани.

Молекулярные аспекты патогенеза

В последние годы были достигнуты значительные успехи в изучении патогенеза хантавирусной инфекции). Так, было показано, что внедрение хантавирусов в клетки эндотелия осуществляется путем взаимодействия вирусных эпитопов с интегринными – клеточными рецепторами, выполняющими важную роль в различных процессах клеточного метаболизма. Патогенные хантавирусы (возбудители как ГЛПС, так и ХПС) и непатогенные взаимодействуют с различными типами интегринов- β_3 и - β_1 соответственно [19, 37]. β_3 -интегрины в избытке находятся на поверхности эпителиальных клеток и тромбоцитов и участвуют в процессах активации и агрегации тромбоцитов, межклеточной адгезии, а также регуляции проницаемости стенки кровеносных капилляров. Первоначально, β_3 -интегрины были описаны, как рецепторы взаимодействия с витронектином – гликопротеином, который находится в крови в виде неактивного комплекса с ингибитором активации плазминогена (PAI-1).

Преинкубация культуры клеток с витронектином блокировала более чем на 70% способность патогенных хантавирусов инфицировать клетки. Белковый комплекс витронектина с PAI-1 является важным компонентом коагуляционной системы и системы комплемента, хотя функции его в деталях не выяснены. Очевидна взаимосвязь между ролью витронектина в регуляции клеточной адгезии и активации каскадов протеолиза сыворотки крови и способностью хантавирусов вызывать тромбоцитопению и повышение проницаемости стенки капилляров, приводящей к геморрагическим проявлениям [38]. Основной мишенью хантавирусов являются эндотелиальные клетки (ЭК), однако деструкция ЭК в тканях умерших от ГЛПС и ХПС отсутствует, несмотря на наличие вирусных частиц и вирусного антигена в клетках эндотелия капилляров легких, селезенки, печени и почек. Таким образом, хантавирусы не вызывают литического разрушения клеток, но нарушают их нормальные функции. Известно, что эндотелий играет определяющую регуляторную роль в ангиогенезе, сосудистой проницаемости, клеточной миграции, тромбозе и воспалении. Помимо участия в функционировании систем комплемента, клетки эндотелия играют важную роль в регуляции иммунного ответа посредством индукции цитокинов, хемокинов и клеточных рецепторов, мобилизирующих иммунные клетки. Результатом обширного исследования [39] уровня транскрипции около 12 тыс. генов человека, проведенного с использованием ДНК-микрочип-технологии, было установлено, что количество копий мРНК, транскрибирующихся со 142 генов эндотелиальных клеток, в три и более раз выше в клетках, инфицированных хантавирусами. Кроме того, было показано, что на ранних стадиях инфекции (1-ый день) непатогенные хантавирусы (*Prospect Hill*) подавляли или индуцировали транскрипцию 67 генов, из которых 24 интерферон-стимулирующих гена были активированы, в то время как патогенные (*Hantaan* и *New York*) воздействовали на транскрипцию только 3 генов. Патогенные хантавирусы в отличие от непатогенных подавляют интерферон на ранней стадии заражения эндотелиальных клеток человека. Хотя патогенные и непатогенные вирусы в равной степени могут проникать в ЭК человека, но в отличие от патогенных, успешно реплицирующихся в течение всего периода наблюдения, репликация непатогенного вируса подавляется к 3 дню после заражения. Механизм резистентности патогенных вирусов к интерферону на поздних стадиях инфекции остается непонятным [61, 62]. Было показано, что помимо степени регуляции интерфероновой реакции, хантавирусы, вероятно, имеют определенные детерминанты вирулентности, которые отвечают за их патогенность для человека [40]. Ранее важное значение в патогенезе тканевых повреждений и развитии острой почечной недостаточности (ОПН) отводилось циркулирующим

иммунным комплексам и другим иммуноопосредованным реакциям. В то же время известно, что ГЛПС не несет черты, характерные классическому аутоиммунному заболеванию даже в случае формирования хронического тубулоинтерстициального нефрита или пиелонефрита [41].

Таким образом, на основании имеющихся к настоящему времени данных, можно утверждать, что решающее значение в патогенезе хантавирусной инфекции человека имеет прямое повреждающее действие вируса на эндотелиальные клетки капилляров (без их разрушения), результатом чего является нарушение проницаемости капилляров, отек, гипоксия, кровотечение, воспалительные реакции различной степени интенсивности, зависящие также от макроорганизма и определяющие течение и исход болезни [42].

Иммунный ответ при хантавирусной инфекции

В ответ на хантавирусную инфекцию формируется, по-видимому, пожизненный иммунитет, поскольку не было сообщений о реинфекции. Считается, что нейтрализующие антитела направлены исключительно против вирусных гликопротеинов и связывают свободно циркулирующие вирусы. Клеточный иммунный ответ индуцируется преимущественно N-белком, и было показано, что он также обладает протективной активностью [43].

Специфические иммуноглобулины класса M против трех структурных белков (N, G_N, G_C) хантавируса у больных ГЛПС появляются в первые дни после начала заболевания и персистируют в крови переболевших, довольно длительно, в отдельных случаях до 18 месяцев [44]. Вскоре после этого появляются иммунные глобулины классов A, E и G [45, 46]. Большая часть IgM, IgA и IgG направлена против аминокислотной части N-белка. Антитела к нуклеокапсидному белку у хантавирусов обладают большой перекрестной реактивностью, особенно среди вирусов, ассоциированных с грызунами одного подсемейства (*Murinae*, *Arvicolinae*, *Sigmodontinae*), что вполне ожидаемо, так как по сиквенсу аминокислот N-белка гомология между вирусами, ассоциированными с грызунами одного подсемейства, достигает 79%.

IgA, являющиеся важной частью иммунитета слизистых, присутствуют, как правило, в остром периоде, однако есть данные, что при инфицировании вирусом *Puumala* их обнаруживали в крови спустя 10 лет после инфекции. Количество антител класса E увеличивается в острую стадию болезни и полагают, что они могут иметь определенное значение в патогенезе хантавирусной инфекции. В то же время никакой зависимости между уровнем IgE и тяжестью течения болезни выявить не удалось. Антитела класса G, в наибольшем количестве присутствующие в крови, появляются вскоре после IgM. Ранний IgG-ответ направлен преимущественно против нуклеокапсидного белка. Высокоавидные антитела к эпитопам гликопротеинового комплекса

появляются позднее, в период ранней реконвалесценции. Доминирующим подклассом иммуноглобулинов против всех трех белков хантавируса во все периоды болезни являются IgG1. Иммуноспецифические IgG2 выявляются у больных хантавирусной инфекцией редко. Т-клеточный ответ активируется

на ранних стадиях ГЛПС и ассоциируется с увеличением числа нейтрофилов, моноцитов, В- и Т-клеток. В ряде работ было отмечено, что у большей части исследовавшихся пациентов, вирусспецифические цитотоксические лимфоциты обнаруживались спустя 6 – 15 лет после заболевания [47, 48].

Литература

- Lee H.W., Lee P.W., Johnson K.M. Isolation of the etiologic agent of Korean hemorrhagic fever. *J Infect Dis.* 1978; 137: 298 – 308.
- Schmaljohn C., Dalrymple J. Analysis of Hantaan virus RNA: evidence for a new genus of Bunyaviridae. *Virology.* 1983; 131: 482 – 491.
- Nichol S.T., Spiropoulou C.F., Morzunov S., Rollin P.E., Ksiazek T.G., Feldmann H, et al. Genetic identification of a hantavirus associated with an outbreak of acute respiratory illness. *Science.* 1993; 262 (5135): 914 – 917.
- Schmaljohn C., Hjelle B. Hantaviruses: a global disease problem. *Emerg Infect Dis.* 1997; 3 (2): 95 – 104.
- Plyusnin A., Morzunov S.P. Virus evolution and genetic diversity of hantaviruses and their rodent hosts. *Curr Top Microbiol Immunol.* 2001; 256: 47 – 75.
- Yashina L., Abramov S., Gutorov V. et al. Seewis virus: phylogeography of a shrew-borne hantavirus in Siberia, Russia. *Vector Borne Zoonotic Dis.* 2010; 10(6):585 – 591.
- Bennett S.N., Gu S.H., Kang H.J., Arai S., Yanagihara R. Reconstructing the evolutionary origins and phylogeography of hantaviruses. *Trends Microbiol.* 2014; 8: 473 – 482.
- Novotny N., Weissenboeck H., Aberle S., Hinterdorfer F. Hantavirus infection in the domestic cat. *JAMA.* 1994; 4: 1100 – 1101.
- Slonova R.A., Tkachenko E.A., Kushnarev E.L., Dzagurova T.K., Astakova T.I. Hantavirus isolation from birds. *Acta virol.* 1992; 36: 493.
- Malecki, T.M., G.P. Jillson, J.P. Thilsted, J. et al. Serologic survey for hantavirus infection in domestic animals and coyotes from New Mexico and northeastern Arizona. *J Am Vet Med Assoc.* 1998; 212 (7): 970 – 973.
- Danes L., Pejcoch M., Bukovjan K., Veleba J., Halackova M. Antibodies against Hantaviruses in game and domestic oxen in the Czech Republic. *Cesk. Epidemiol. Mikrobiol. Imunol.* 1992; 41.(1):.15 – 18.
- Maes P., Clement J., Gavrilovskaya I. Hantaviruses: Immunology, Treatment, and Prevention. *Viral Immunol.* 2004; 17 (4): 481 – 497.
- McCormick J., Palmer E., Sasso D., Kiley M. Morphological identification of the agent of Korean hemorrhagic fever (Hantaan virus) as a members of the Bunyaviridae. *Lancet.* 1982; 3: 765 – 768.
- Battisti A.J., Chu Y.-K., Chipman P.R., Kaufmann B., Jonsson C.B., Rossmann M.G. Structural Studies of Hantaan Virus. *J. Virol.* 2011; 85 (2): 835 – 841.
- Schmaljohn C., Hasty S., Harrison S., Dalrymple J. Characterization of Hantaan virions, the prototype virus of HFRS. *J. Infect. Dis.* 1983; 148: 1005 – 1012.
- Schmaljohn C., Jennings G., Hay J., Dalrymple J. Coding strategy of the S-genome segment of Hantaan virus. *Virology.* 1986; 155: 633 – 643.
- Schmaljohn C., Schmaljohn A., Dalrymple J. Hantaan virus M RNA: Coding strategy, nucleotide sequence, and gene order. *Virology.* 1987; 157: 31 – 39.
- Schmaljohn C. Nucleotide sequence of the L genome segment of Hantaan virus. *Nucleic Acids Res.* 1990; 18: 6728.
- Gavrilovskaya, I.N., M. Shepley, R. Shaw, M.H. Ginsberg, and E.R. Mackow. Beta3 Integrins mediate the cellular entry of hantaviruses that cause respiratory failure. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 1998; 95 (12): 7074 – 7079.
- Garcin D., Lezzi M., Dobbs M., Elliott R.M., Schmaljohn C., Kang C.Y., Kolakofsky D. The 5' ends of Hantaan virus (Bunyaviridae) RNAs suggest a prime-and-realign mechanism for the initiation of RNA synthesis. *Virol.* 1995; 69: 5754 – 5762.
- Pensiero M., Hay J. The Hantaan virus M-segment glycoproteins G1 and G2 can be expressed independently. *J. Virol.* 1992; 66: 1907 – 1914.
- Lober C., Anheier B., Lindow S., Klenk H., Feldmann H. The Hantaan virus glycoprotein precursor is cleaved at the conserved pentapeptide WAASA. *Virology.* 2001; 289:224-229
- Spiropoulou C., Goldsmith C., Shoemaker T. Peters C.J., Compans R. Sin Nombre virus glycoprotein trafficking. *Virology.* 2003; 308: 48 – 63.
- Pettersson R. Protein localization and virus assembly at intracellular membranes. *Curr. Top. Microbiol. Immunol.* 1991; 170: 67 – 106.
- Arikawa J., Yao J.S., Yoshimatsu K., Takashima I., Hashimoto N. Protective role of antigenic sites on the envelope protein of Hantaan virus defined by monoclonal antibodies. *Arch Virol.* 1992; 126 (1 – 4): 271 – 281.
- Dzagurova T.K., Tkachenko E.A., Slonova R.A., Ivanov L.I., Ivanidze E.A., Markeshin S. et al. Antigenic relationships of hantavirus strains analysed by monoclonal antibodies. *Arch Virol.* 1995; 140: 1763 – 1773.
- Bautz E., Zoller L., Darai G. Recent developments in Hantavirus diagnostics and epitope mapping. Abstracts of 3rd Intern. Conf. on HFRS and Hantaviruses. Helsinki, Finland. 1995; 45
- Elliott R.M., Bouloy M., Calisher C.H., Goldbach R., Moyer J.T., Nichol S.T. et al. Virus taxonomy: classification and nomenclature of viruses. 7th report of the International Committee on Taxonomy of Viruses. *Bunyaviridae.* Academic Press, San Diego, Calif. 2000: 599 – 621.
- Song K., Kim S., Choi Y. et al. Molecular phylogeny of Hantaan virus, the prototype virus of HFRS. 3rd Intern. Conf. on HFRS and Hantaviruses, Helsinki. 1995: 48.
- Plyusnin A., Vapalahti O., Ulves K. Sequences of wild Puumala virus genes show a correlation of genetic variation with geographic origin of the strains. *J. Gen. Virol.* 1994; 75: 405 – 409.
- Henderson W., Monroe M., St. Jeor S., Thayer S.C., Rowe W.P., Peters J.E. et al. Naturally occurring Sin Nombre virus genetic reassortants. *Virology.* 1995; 214: 602 – 610.
- Lundkvist A., Hukic M., Horling J., Gilljam M., Nichol S., Niklasson B. Puumala and Dobrava viruses cause hemorrhagic fever with renal syndrome in Bosnia-Herzegovina: evidence of highly cross-neutralizing antibody responses in early patient sera. *J. Med. Virol.* 1997; 53 (1): 51 – 59.
- Plyusnin A., Cheng Y., Lehtsalaiho H., Vaheri A. Quasispecies in wild Tula hantavirus population. *J. Virol.* 1996; 70: 9060 – 9063.
- Razzauti M., Plyusnina A., Sironen T., Henttonen H., Plyusnin A. Analysis of Puumala hantavirus in a bank vole population in northern Finland: evidence for co-circulation of two genetic lineages and frequent reassortment between wild-type strains. *J. Gen. Virol.* 2009; 90: 1923 – 1931.
- Богданова С., Гавриловская И., Бойко В. и др. Персистирующая инфекция, вызванная вирусом ГЛПС у рыжих полевых-природных хозяев вируса. *Микробиол. Журнал.* 1987; 49 (4): 99 – 106.
- Enria D., Padula P., Segura E.L., Pini N., Edelstein A., Riva Posse C. Hantavirus pulmonary syndrome in Argentina. Possibility of person to person transmission. *Medicina (B Aires).* 1996; 56 (6): 709 – 711.
- Gavrilovskaya I.N., Brown E.J., Ginsberg M.H., Mackow E.R.. Cellular entry of hantaviruses which cause hemorrhagic fever with renal syndrome is mediated by beta3 integrins. *J. Virol.* 1999; 73 (5):3951 – 3959.
- Mackow E.R., Gavrilovskaya I.N. Hantavirus regulation of endothelial cell functions. *Thromb. Haemost.* 2009; 102 (6): 1030 – 1034.
- Geimonen E., Neff S., Raymond T., Kocer S.S., Gavrilovskaya I.N., Mackow E.R. Pathogenic and nonpathogenic hantaviruses differentially regulate endothelial cell responses. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2002; 99: 13837 – 13842.
- Gorbunova E., Gavrilovskaya I.N., Mackow E.R. Pathogenic Hantaviruses Andes virus and Hantaan virus induce adherens junction disassembly by directing vascular endothelial cadherin internalization in human endothelial cells. *Virol.* 2010; 84 (14): 7405 – 7411.
- Gavrilovskaya I.N., Gorbunova E.E., Mackow N.A., Mackow E.R. Hantaviruses direct endothelial cell permeability by sensitizing cells to the vascular permeability factor VEGF, while angiopoietin 1 and sphingosine 1-phosphate inhibit hantavirus-directed permeability. *J. Virol.* 2008; 82 (12): 5797 – 5806.
- Vaheri A., Strandin T., Hepojoki J., Sironen T., Henttonen H., M kel S., Mustonen J. Uncovering the mysteries of hantavirus infections. *Microbiology.* 2013; 11: 539 – 550.
- Lundkvist A., Kallio-Kokko H., Sjölander K.B. Lankinen H., Niklasson B., Vaheri A. et al. Characterization of Puumala virus nucleocapsid protein: identification of B-cell epitopes and domains involved in protective immunity. *Virology.* 1996; 216 (2): 397 – 406.
- Maes P, Keyaerts E, Bonnet V et al. Truncated recombinant Dobrava hantavirus nucleocapsid proteins induce strong, long-lasting immune responses in mice. *Intervirology.* 2006; 49 (5): 253 – 260.
- Lundkvist A, Horling J, Niklasson B. The humoral response to Puumala virus infection (nephropathia epidemica) investigated by viral protein specific immunoassays. *Arch. Virol.* 1993; 130 (1 – 2): 121 – 130.
- Alexeyev O.A., Ahlm C., Billheden J., Settergren B., Wadell G., Juto P. Elevated levels of total and Puumala virus-specific immunoglobulin E in the Scandinavian type of hemorrhagic fever with renal syndrome. *Clin Diagn Lab Immunol.* 1994; 1 (3): 269 – 272.
- Van Epps, H.L., Terajima M., Mustonen J., Arstila T.P., Corey E.A., Vaheri A., Ennis F.A. Long-lived memory T lymphocyte responses after hantavirus infection. *J Exp Med.* 2002; 196 (5): 579 – 588

48. Terajima M., Van Epps H.L., Li D., Leporati A.M., Juhlin S.E., Mustonen J., Vaheri A. Generation of recombinant vaccinia viruses expressing Puumala virus proteins and use in isolating cytotoxic T cells specific for Puumala virus. *Virus Res.* 2002; 84 (1 – 2): 67 – 77.

References

1. Lee H.W., Lee P.W., Johnson K.M. Isolation of the etiologic agent of Korean hemorrhagic fever. *J Infect Dis.* 1978; 137: 298 – 308.
2. Schmaljohn C., Dalrymple J. Analysis of Hantaan virus RNA: evidence for a new genus of Bunyviridae. *Virology.* 1983; 131: 482 – 491.
3. Nichol S.T., Spiropoulou C.F., Morzunov S., Rollin P.E., Ksiazek T.G., Feldmann H, et al. Genetic identification of a hantavirus associated with an outbreak of acute respiratory illness. *Science.* 1993; 262 (5135): 914 – 917.
4. Schmaljohn C., Hjelle B. Hantaviruses: a global disease problem. *Emerg Infect Dis.* 1997; 3 (2): 95 – 104.
5. Plyusnin A., Morzunov S.P. Virus evolution and genetic diversity of hantaviruses and their rodent hosts. *Curr Top Microbiol Immunol.* 2001; 256: 47 – 75.
6. Yashina L., Abramov S., Gutorov V. et al. Seewiss virus: phylogeography of a shrew-borne hantavirus in Siberia, Russia. *Vector Borne Zoonotic Dis.* 2010; 10(6):585 – 591.
7. Bennett S.N., Gu S.H., Kang H.J., Arai S., Yanagihara R. Reconstructing the evolutionary origins and phylogeography of hantaviruses. *Trends Microbiol.* 2014; 8: 473 – 482.
8. Novotny N., Weissenboeck H., Aberle S., Hinterdorfer F. Hantavirus infection in the domestic cat. *JAMA.* 1994; 4: 1100 – 1101.
9. Slonova R.A., Tkachenko E.A., Kushnarev E.L., Dzagurova T.K., Astakova T.I. Hantavirus isolation from birds. *Acta virol.* 1992; 36: 493.
10. Malecki T.M., G.P. Jillson, J.P. Thilsted, J. et al. Serologic survey for hantavirus infection in domestic animals and coyotes from New Mexico and northeastern Arizona. *J Am Vet Med Assoc.* 1998; 212 (7): 970 – 973.
11. Danes L., Pejcoch M., Bukovjan K., Veleba J., Halackova M. Antibodies against Hantaviruses in game and domestic oxen in the Czech Republic. *Cesk. Epidemiol. Mikrobiol. Imunol.* 1992; 41(1):15 – 18.
12. Maes P., Clement J., Gavrilovskaya I. Hantaviruses: Immunology, Treatment, and Prevention. *Viral. Immunol.* 2004; 17 (4): 481 – 497.
13. McCormick J., Palmer E., Sasso D., Kiley M. Morphological identification of the agent of Korean hemorrhagic fever (Hantaan virus) as a members of the Bunyviridae. *Lancet.* 1982; 3: 765 – 768.
14. Battisti A.J., Chu Y.-K., Chipman P.R., Kaufmann B., Jonsson C.B., Rossmann M.G. Structural Studies of Hantaan Virus. *J. Virol.* 2011; 85 (2): 835 – 841.
15. Schmaljohn C., Hasty S., Harrison S., Dalrymple J. Characterization of Hantaan virions, the prototype virus of HFRS. *J. Infect. Dis.* 1983; 148: 1005 – 1012.
16. Schmaljohn C., Jennings G., Hay J., Dalrymple J. Coding strategy of the S-genome segment of Hantaan virus. *Virology.* 1986; 155: 633 – 643.
17. Schmaljohn C., Schmaljohn A., Dalrymple J. Hantaan virus M RNA: Coding strategy, nucleotide sequence, and gene order. *Virology.* 1987; 157: 31 – 39.
18. Schmaljohn C. Nucleotide sequence of the L genome segment of Hantaan virus. *Nucleic Acids Res.* 1990; 18: 6728.
19. Gavrilovskaya, I.N., M. Shepley, R. Shaw, M.H. Ginsberg, and E.R. Mackow. Beta3 Integrins mediate the cellular entry of hantaviruses that cause respiratory failure. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 1998; 95 (12): 7074 – 7079.
20. Garcin D., Lezzi M., Dobbs M., Elliott R.M., Schmaljohn C., Kang C.Y., Kolakofsky D. The 5' ends of Hantaan virus (Bunyviridae) RNAs suggest a prime-and-realign mechanism for the initiation of RNA synthesis. *Viol.* 1995; 69: 5754 – 5762.
21. Pensiero M., Hay J. The Hantaan virus M-segment glycoproteins G1 and G2 can be expressed independently. *J. Virol.* 1992; 66: 1907 – 1914.
22. Lober C., Anheier B., Lindow S., Klenk H., Feldmann H. The Hantaan virus glycoprotein precursor is cleaved at the conserved pentapeptide WAASA. *Virology.* 2001; 289:224-229
23. Spiropoulou C., Goldsmith C., Shoemaker T. Peters C.J., Compans R. Sin Nombre virus glycoprotein trafficking. *Virology.* 2003; 308: 48 – 63.
24. Pettersson R. Protein localization and virus assembly at intracellular membranes. *Curr. Top. Microbiol. Immunol.* 1991; 170: 67 – 106.
25. Arikawa J., Yao J.S., Yoshimatsu K., Takashima I., Hashimoto N. Protective role of antigenic sites on the envelope protein of Hantaan virus defined by monoclonal antibodies. *Arch Virol.* 1992; 126 (1 – 4): 271 – 281.
26. Dzagurova T.K., Tkachenko E.A., Slonova R.A., Ivanov L.I., Ivanidze E.A., Markeshin S. et al. Antigenic relationships of hantavirus strains analysed by monoclonal antibodies. *Arch Virol.* 1995; 140: 1763 – 1773.
27. Bautz E., Zoller L., Darai G. Recent developments in Hantavirus diagnostics and epitope mapping. *Abstracts of 3rd Intern. Conf. on HFRS and Hantaviruses.* Helsinki, Finland. 1995; 45
28. Elliott R.M., Bouloy M., Calisher C.H., Goldbach R., Moyer J.T., Nichol S.T. et al. Virus taxonomy: classification and nomenclature of viruses. 7th report of the International Committee on Taxonomy of Viruses. *Bunyviridae.* Academic Press, San Diego, Calif. 2000: 599 – 621.
29. Song K., Kim S., Choi Y. et al. Molecular phylogeny of Hantaan virus, the prototype virus of HFRS. 3rd Intern. Conf. on HFRS and Hantaviruses, Helsinki. 1995: 48.
30. Plyusnin A., Vapalahti O., Ulfves K. Sequences of wild Puumala virus genes show a correlation of genetic variation with geographic origin of the strains. *J. Gen. Virol.* 1994; 75: 405 – 409.
31. Henderson W., Monroe M., St. Jeor S., Thayer S.C., Rowe W.P., Peters J.E. et al. Naturally occurring Sin Nombre virus genetic reassortants. *Virology.* 1995; 214: 602 – 610.
32. Lundkvist A., Hukic M., Horling J., Gilljam M., Nichol S., Niklasson B. Puumala and Dobrava viruses cause hemorrhagic fever with renal syndrome in Bosnia-Herzegovina: evidence of highly cross-neutralizing antibody responses in early patient sera. *J. Med. Virol.* 1997; 53 (1): 51 – 59.
33. Plyusnin A., Cheng Y., Lehtvaslaihho H., Vaheri A. Quasispecies in wild Tula hantavirus population. *J. Virol.* 1996; 70: 9060 – 9063.
34. Razzauti M., Plysunina A., Sironen T., Henttonen H., Plyusnin A. Analysis of Puumala hantavirus in a bank vole population in northern Finland: evidence for co-circulation of two genetic lineages and frequent reassortment between wild-type strains. *J. Gen. Virol.* 2009; 90: 1923 – 1931.
35. Bogdanova C., Gavrilovskaya I.N., Boyko V. et al. Persestiruyuchay infection, caused by HFRS virus in bank voles – natural house of virus. *Mikrobiol. Zhurnal [Microbiology Journal].* 1987; 49 (4): 99 – 106 (in Russia).
36. Enria D., Padula P., Segura E.L., Pini N., Edelstein A., Riva Posse C. Hantavirus pulmonary syndrome in Argentina. Possibility of person to person transmission. *Medicina (B Aires).* 1996; 56 (6): 709 – 711.
37. Gavrilovskaya I.N., Brown E.J., Ginsberg M.H., Mackow E.R.. Cellular entry of hantaviruses which cause hemorrhagic fever with renal syndrome is mediated by beta3 integrins. *J. Virol.* 1999; 73 (5):3951 – 3959.
38. Mackow E.R., Gavrilovskaya I.N. Hantavirus regulation of endothelial cell functions. *Thromb. Haemost.* 2009; 102 (6): 1030 – 1034.
39. Geimonen E., Neff S., Raymond T., Kocer S.S., Gavrilovskaya I.N., Mackow E.R. Pathogenic and nonpathogenic hantaviruses differentially regulate endothelial cell responses. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2002; 99: 13837 – 13842.
40. Gorbunova E., Gavrilovskaya I.N., Mackow E.R. Pathogenic Hantaviruses Andes virus and Hantaan virus induce adherens junction disassembly by directing vascular endothelial cadherin internalization in human endothelial cells. *Virol.* 2010; 84 (14): 7405 – 7411.
41. Gavrilovskaya I.N., Gorbunova E.E., Mackow N.A., Mackow E.R. Hantaviruses direct endothelial cell permeability by sensitizing cells to the vascular permeability factor VEGF, while angiotensin II and sphingosine 1-phosphate inhibit hantavirus-directed permeability. *J. Virol.* 2008; 82 (12): 5797 – 5806.
42. Vaheri A., Strandin T., Hepojoki J., Sironen T., Henttonen H., M kel S., Mustonen J. Uncovering the mysteries of hantavirus infections. *Microbiology.* 2013; 11: 539 – 550.
43. Lundkvist A., Kallio-Kokko H., Sjolander K.B. Lankinen H., Niklasson B., Vaheri A. et al. Characterization of Puumala virus nucleocapsid protein: identification of B-cell epitopes and domains involved in protective immunity. *Virology.* 1996; 216 (2): 397 – 406.
44. Maes P., Keyaerts E., Bonnet V. et al. Truncated recombinant Dobrava hantavirus nucleocapsid proteins induce strong, long-lasting immune responses in mice. *Intervirology.* 2006; 49 (5): 253 – 260.
45. Lundkvist A., Horling J., Niklasson B. The humoral response to Puumala virus infection (nephropathia epidemica) investigated by viral protein specific immunoassays. *Arch. Virol.* 1993; 130 (1 – 2): 121 – 130.
46. Alexeyev O.A., Ahlm C., Billheden J., Settergren B., Wadell G., Juto P. Elevated levels of total and Puumala virus-specific immunoglobulin E in the Scandinavian type of hemorrhagic fever with renal syndrome. *Clin Diagn Lab Immunol.* 1994; 1 (3): 269 – 272.
47. Van Epps, H.L., Terajima M., Mustonen J., Arstila T.P., Corey E.A., Vaheri A., Ennis F.A. Long-lived memory T lymphocyte responses after hantavirus infection. *J Exp Med.* 2002; 196 (5): 579 – 588
48. Terajima M., Van Epps H.L., Li D., Leporati A.M., Juhlin S.E., Mustonen J., Vaheri A. Generation of recombinant vaccinia viruses expressing Puumala virus proteins and use in isolating cytotoxic T cells specific for Puumala virus. *Virus Res.* 2002; 84 (1 – 2): 67 – 77.