

Российская академия наук. Уральское отделение
Институт иммунологии и физиологии
МАУ «Клинико-диагностический центр»

Ю. Г. Лагерева
Я. Б. Бейкин
В. А. Черешнев

**Иммунологические аспекты
энтеровирусной инфекции
центральной нервной системы**

Монография

Екатеринбург
2018

УДК 578.835.1:612.017

ББК 52.63:52.7

Л14

Лагерева, Ю. Г.

Л14 Иммунологические аспекты энтеровирусной инфекции центральной нервной системы : монография / Ю. Г. Лагерева, Я. Б. Бейкин, В. А. Черешнев. — Екатеринбург : Издательство «УралЭкоЦентр», 2018. — 190, [2] с.

ISBN 978-5-89649-066-1

В монографии изложены современные представления о реакциях врожденного и адаптивного иммунитета, участвующих в противовирусной защите при энтеровирусной инфекции, в том числе в пределах центральной нервной системы, а также о разнообразии контрмеханизмов, используемых энтеровирусами для противодействия иммунному ответу хозяина. Авторы обобщают результаты собственных многолетних исследований, а также обширные литературные данные. Книга предназначена для широкого круга специалистов: вирусологов, иммунологов, инфекционистов, эпидемиологов, врачей других специальностей.

УДК 578.835.1:612.017

ББК 52.63:52.7

Авторы:

Ю. Г. Лагерева — д-р биол. наук, ст. науч. сотрудник ФГБУН «Институт иммунологии и физиологии» УрО РАН, зав. лабораторией клинической иммунологии МАУ «Клинико-диагностический центр»

Я. Б. Бейкин — д-р мед. наук, проф., заслуженный врач РФ, зав. лабораторией иммунопатофизиологии ФГБУН «Институт иммунологии и физиологии» УрО РАН, главный врач МАУ «Клинико-диагностический центр»

В. А. Черешнев — д-р мед. наук, проф., академик РАН, науч. рук. ФГБУН «Институт иммунологии и физиологии» УрО РАН

Рецензент:

И. И. Долгушин — д-р мед. наук, проф., академик РАН, заслуженный деятель науки РФ, зав. кафедрой микробиологии, вирусологии, иммунологии и клинико-лабораторной диагностики ФГБОУ ВО ЮГМУ Минздрава России

ISBN 978-5-89649-066-1

© Лагерева Ю. Г., Бейкин Я. Б.,
Черешнев В. А., 2018

Актуальность изучения энтеровирусной инфекции обусловлена высоким удельным весом данной патологии в структуре инфекционных заболеваний нервной системы. Несмотря на то, что в подавляющем большинстве случаев инфицирование протекает бессимптомно или в лихорадочной форме без специфических симптомов, у части пациентов развиваются клинические формы, сопровождающиеся поражением центральной нервной системы, в том числе с развитием хронического прогрессирующего течения и возможностью летальных исходов. Разнообразие клинических форм энтеровирусных инфекций связано как с циркуляцией различных серотипов вируса, так и с особенностями иммунологической реактивности хозяина, в свою очередь зависящими от его возраста, пола, HLA-полиморфизма и т. д. Помимо механизмов врожденного иммунитета в противовирусном иммунном ответе и иммунопатологических реакциях, вносящих вклад в патогенез менингитов вирусной этиологии, особую роль играют адаптивные иммунологические реакции, осуществляемые различными эффекторными субпопуляциями Т-лимфоцитов. Своевременная и эффективная индукция врожденного и адаптивного иммунного ответа ограничивает диссеминацию вирусов во вторичные органы-мишени. Кроме того, Т-лимфоциты в цереброспинальной жидкости отвечают за иммунологический надзор в субарахноидальном пространстве и реализацию локального адаптивного иммунного ответа в пределах центральной нервной системы.

В монографии обобщены современные представления об участии механизмов врожденного и адаптивного иммунного ответа при энтеровирусных инфекциях. Дана характеристика паттерн-распознающих

рецепторов, являющихся основными сенсорами энтеровирусов и индуцирующих реакции врожденного иммунитета. Подробно описаны механизмы, используемые энтеровирусами для противодействия этим реакциям, в том числе манипулирование экспрессией микроРНК и использование феномена аутофагии для репликации и распространения в организме хозяина.

Несомненный интерес представляют результаты собственных исследований авторов, посвященных изучению возрастных и ассоциированных с полом особенностей иммунного ответа на энтеровирусы. В результате проведенного анализа иммуногенетических ассоциаций аллельных вариантов генов HLA I (HLA-A, B, Cw) и II класса (DRB1, DQA1, DQB1) с развитием энтеровирусных менингитов выявлен гаплотип-провокатор HLA-DRB1*01;DQA1*01:01;DQB1*05:01, с высокой степенью вероятности связанный с чувствительностью к энтеровирусной инфекции с серозным менингитом. Впервые с помощью метода внутриклеточного окрашивания цитокинов и проточноцитометрического анализа цереброспинальной жидкости определены субпопуляции Т-эффекторов, участвующих в контроле энтеровирусной инфекции центральной нервной системы: CD4⁺Т-эффекторы/клетки памяти Th1- и Th2-типа, а также CD8⁺ эффекторные Т-лимфоциты/клетки памяти Tc1-типа и CD8⁺ T_{EMRA}. Полученные результаты вносят важный вклад в изучение иммунологических детерминант чувствительности к нейроинфекциям с позиций возрастных, ассоциированных с полом и полиморфизмом HLA особенностей иммунного ответа.

Материалы монографии могут быть использованы в преподавании иммунологии, биологии, вирусологии, нормальной и патологической физиологии в учебном процессе медицинских и биологических вузов, в программах послевузовского и дополнительного профессионального образования (клинической ординатуре, аспирантуре, циклах тематического усовершенствования) врачей.

Доктор медицинских наук, профессор, академик РАН,
заслуженный деятель науки РФ, заведующий кафедрой
микробиологии, вирусологии, иммунологии
и клинико-лабораторной диагностики
ФГБОУ ВО ЮГМУ Минздрава России

И. И. Долгушин

Оглавление

Введение.....	8
1. Молекулярная структура и таксономия энтеровирусов.....	10
1.1. Молекулярная структура.....	10
1.2. Антигенная структура и таксономия.....	14
1.3. Квазивиды энтеровирусов.....	18
Список цитируемой литературы.....	19
2. Энтеровирусы в центральной нервной системе.....	22
2.1. Неврологические заболевания, вызываемые нейротропными энтеровирусами.....	22
2.2. Энтеровирусная инвазия центральной нервной системы.....	25
2.2.1. Пути проникновения энтеровирусов в центральную нервную систему.....	25
2.2.2. Тропизм энтеровирусов.....	27
2.2.3. Клетки центральной нервной системы, чувствительные к нейротропным энтеровирусам.....	28
2.2.4. Рецепторы, используемые нейротропными энтеровирусами.....	31
2.3. Энтеровирусы и апоптоз.....	33
Список цитируемой литературы.....	35

3. Врожденный иммунный ответ на энтеровирусную инфекцию	46
3.1. Механизмы распознавания энтеровирусов с участием паттерн-распознающих рецепторов и индукция синтеза интерферонов.....	46
3.2. Механизмы, позволяющие энтеровирусам избегать врожденного иммунного ответа хозяина	54
3.2.1. Интерференция с PRR-распознаванием	56
3.2.2. Интерференция с адаптерными и эффекторными молекулами сигнальных путей врожденного иммунитета.....	58
3.3. MicroRNA и энтеровирусные инфекции.....	61
3.3.1. Клеточные miRNA хозяина и патогенез энтеровирусных инфекций	62
3.3.2. MiRNA хозяина и жизненный цикл энтеровирусов.....	69
3.4. Роль аутофагии при энтеровирусной инфекции.....	70
3.4.1. Энтеровирусы и аутофагия	74
3.4.2. Регуляция механизмов аутофагии энтеровирусами	79
3.4.3. Перспективы исследования аутофагии при энтеровирусных инфекциях.....	82
3.5. Участие естественных киллеров в противовирусном иммунитете при энтеровирусной инфекции.....	84
Список цитируемой литературы.....	85
4. Адаптивный иммунный ответ при энтеровирусной инфекции	106
4.1. Т-клеточный ответ на энтеровирусы	110
4.2. Гуморальный ответ на энтеровирусную инфекцию..	114
4.3. Адаптивный иммунный ответ при инфицировании отдельными видами энтеровирусов.....	116
Список цитируемой литературы.....	118

5. Ассоциированные с полом и возрастом особенности иммунного ответа на энтеровирусы	123
5.1. Ассоциированные с полом особенности иммунного ответа при энтеровирусной инфекции с серозным менингитом	123
5.2. Возрастные особенности иммунного ответа при энтеровирусной инфекции с серозным менингитом.....	130
Список цитируемой литературы.....	136
6. Иммуногенетические ассоциации при энтеровирусных менингитах	143
6.1. Связь полиморфизма HLA с чувствительностью к энтеровирусным менингитам	145
6.2. Особенности иммунного ответа у пациентов с гаплотипом HLA-DR1;DQ5	152
Список цитируемой литературы.....	161
7. Особенности локального иммунного ответа в центральной нервной системе при энтеровирусных менингитах	162
Список цитируемой литературы.....	166
8. Персистенция энтеровирусов	170
Список цитируемой литературы.....	174
9. Современные подходы к терапии энтеровирусных инфекций	178
Список цитируемой литературы.....	182
Заключение	185
Список сокращений	187

Введение

В соответствии с действующей классификацией энтеровирусы (EV) принадлежат к семейству пикорнавирусов (Picornaviridae). Род Enterovirus включает 12 видов, пять из которых инфицируют только животных (EV E–J). Остальные семь видов EV (EV A–D и риновирусы A–C) вызывают заболевания человека и объединяют сотни серотипов, в том числе три серотипа полиовируса (PV), вирусы Коксаки (Coxsackieviruses — CV) A и B (CVA и CVB), вирусы ECHO (Echoviruses — ECHOV), нумерованные EV и риновирусы (Human rhinovirus — HRV). Чаще всего энтеровирусные инфекции (ЭВИ) протекают бессимптомно (около 50–80%) или характеризуются мягким клиническим течением. Однако инфицирование EV также может приводить к развитию перикардитов, миокардитов, респираторных инфекций, панкреатита, фульминантного сепсиса новорожденных и т. д. EV могут вызывать ряд хронических заболеваний, например хронический миокардит и сахарный диабет 1-го типа.

Некоторые EV являются нейротропными и способны инфицировать клетки нервной системы, приводя к развитию энцефалитов, менингоэнцефалитов, менингитов, параличей, атаксии и т. д. Среди них самым известным является PV — возбудитель полиомиелита. Вакцинация от полиомиелита успешно решает проблемы возникновения полиовирус-ассоциированных заболеваний во всем мире, при этом нельзя не отметить тенденцию к увеличению числа вялых параличей, возникаю-

щих при инфицировании неполиомиелитными энтеровирусами (НПЭВ). В частности, полиоподобные параличи могут возникать на фоне инфекции EV71, EV68 и т. д. Кроме того, НПЭВ — одна из наиболее частых причин развития серозного (асептического) менингита у детей и взрослых.

В отличие от заболеваний, вызываемых PV, неврологические нарушения, возникающие в результате НПЭВ-инфекций, чаще носят транзиторный характер. Однако последние исследования обращают внимание на то, что они могут манифестировать в течение длительного периода после перенесенной первичной НПЭВ-инфекции и связаны с повышенным риском заболеваний, сопровождающихся дефицитом внимания и гиперактивностью, нарушением когнитивных функций, увеличением риска развития шизофрении и т. д. Между тем тонкие механизмы патогенеза поражения центральной нервной системы (ЦНС) EV по-прежнему остаются малоизученными. Не до конца понятны механизмы вирусной инвазии ЦНС, весьма ограниченны представления о том, какие клетки в пределах ЦНС инфицируются EV, и об отдаленных последствиях ЭВИ ЦНС, особенно в условиях персистенции возбудителя. При этом клиническая манифестация заболевания, его течение и исход зависят не только от антигенных свойств вируса, но и определяются особенностями иммунологической реактивности хозяина, в свою очередь зависящими от его возраста, пола, HLA-полиморфизма и т. д.

Изучение механизмов врожденного и адаптивного иммунитета, участвующих в противовирусной защите при ЭВИ, в том числе в пределах ЦНС, а также механизмов, позволяющих EV избегать иммунного ответа хозяина, является приоритетной задачей в области изучения EV, с которой связаны перспективы в развитии специфической терапии и профилактики этих заболеваний.

1. Молекулярная структура и таксономия энтеровирусов

1.1. Молекулярная структура

EV представляют собой небольшие частицы, около 30 nm диаметром, с позитивной одноцепочечной RNA, окруженной лишенным оболочки симметричным белковым капсидом, имеющим форму икосаэдра. Геном составляет приблизительно 30 % общей массы вириона. Все EV имеют плотность около 1,34 g/ml в хлориде цезия и коэффициент седиментации 156 S. Вирусный капсид состоит из 60 одинаковых субъединиц-протомеров из копий четырех капсидных белков VP1, VP2, VP3 и VP4. Поверхность вириона образуют VP1, VP2, VP3, каждый из которых содержит около 250 аминокислот. Внутренняя поверхность образована более мелким и менее структурированным белком VP4 (70 аминокислот), контактирующим с аминокислотными терминальными доменами VP1 и VP2. Ядерная структура VP1–VP3 топологически идентична, каждый имеет восьмицепочечную антипараллельную β -складчатую структуру. Основные структурные различия VP1, VP2 и VP3 касаются конформационной структуры и размера петель, а также последовательности N- и C-терминальных доменов. Антигенные свойства вируса зависят от структуры петель, а N-терминальные домены определяют их стабильность. Трехмерная структура белков капсида

некоторых EV была определена с помощью методов X-ray кристаллографии и криоэлектронной микроскопии [Hendry, 1999; Hogle, 1985; Hogle, 1989; Muskelbauer, 1995]. Поверхность EV имеет звездоподобные выступы с пятиосевой симметрией, окруженные каналом глубиной 2,4 nm и шириной 1,2–3,0 nm (каньоном) и другими углублениями, имеющими трехмерную симметрию. Каньон представляет собой место соединения вируса с рецептором. Липидный фактор расположен в гидрофобном кармане на дне каньона. В ходе взаимодействия вируса с рецептором липидный фактор перемещается до наступления конформационных изменений капсида. Гидрофобный карман может быть использован в качестве мишени для противовирусных препаратов, которые будут препятствовать конформационным перестройкам, приводящим к разведению вируса и высвобождению вирусной RNA [Rossmann, 2002].

Геном EV представлен позитивной одноцепочечной RNA размером приблизительно 7500 nt. Она обладает инфекционными свойствами, поскольку функционирует как mRNA и непосредственно транслируется в полипротеин сар-независимым способом на рибосомах клетки хозяина. RNA-геном ковалентно связан 5'-концом с вирусным белком Vpg (22 аминокислоты длиной) и имеет полиаденилированный 3'-конец (polyA). Геном моногенный, с 5'-нетранслируемым регионом (UTR) (около 10 % генома в районе 742 и 750 nt), с единственной открытой рамкой считывания (ORF), кодирует полипротеин размером 250 kDa и 3'-UTR (около 1 % генома, между 70 и 100 nt). Вторичная структура 5'-UTR генома имеет tRNA-подобную структуру. Он играет роль в инициации синтеза негативной одноцепочечной RNA и IRES (internal ribosomal entry site), который участвует в сар-независимой трансляции вирусной RNA. Вторичная структура 3'-UTR, участвующего в репликации RNA, имеет чрезвычайно консервативное строение. 3'-polyA-конец играет важную роль, определяя инфекционные свойства вируса [Hellen, 1995].

Взаимодействие клеточных рецепторов с аминокислотными остатками на дне каньона приводит к перемещению аминокислотных остатков на поверхности протомеров и дна каньона. Эти конформационные изменения сопровождаются экстернализацией VP4 и N-конца капсидного белка VP1. Внедрение экстернализованных белков в мембрану связывает вирусную частицу с клеточной мембраной рецептор-независимым способом. Таким образом возникают поры и каналы в клеточной мембране, через которые вирусная RNA может проникнуть в цитоплазму клетки хозяина. Показано, что PV проникает в клетки с использованием энергия-, актин- и тирозинкиназа-зависимого эндоцитоза. Этот процесс сопровождается связанной с низкой pH экспозицией гидрофобных остатков в ранних эндоцитарных везикулах [Thorley, 2010]. В цитоплазме инфицированных клеток фосфодиэстераза отрезает Vpg до начала трансляции вирусной RNA. Клеточные ферменты используются также для трансляции RNA в полипротеин. 40S-рибосомальная субъединица ассоциирована с IRES и сканирует RNA в поисках иницирующего кодона AUG, 60S-рибосомальная субъединица связывается с комплексом, и происходит наращивание транслируемого полипротеина. Расщепление эукариотического иницирующего трансляцию фактора (eIF4G) вирусной 2A-протеазой приводит к ингибированию сар-зависимой инициации трансляции. Вирусный полипротеин расщепляется с участием вирусных протеаз (2A, 3C и 3D) на три промежуточных фрагмента P1, P2 и P3. Протеаза 2A отрезает структурный белок P1 от неструктурных белков P2 и P3. Протеаза 3CD разрезает P1 на VP0, VP3 и VP1. Расщепление VP0 на VP4 и VP2 происходит во время созревания вируса и связано с инкапсидацией RNA. Предшественники неструктурных белков P2 и P3 разрезаются 3C/3CD-протеазами на 2A, 2B, 2C, 3A, 3B (Vpg), 3C и 3D. Вирусные 2A- и 3C-протеазы участвуют в ингибировании синтеза клеточной RNA. 3D является RNA-зависимой RNA-полимеразой, необ-

ходимой для синтеза вирусной RNA, а 2B-C, 3A-B белки играют разнообразные роли в размножении вируса.

Репликация вируса включает транскрипцию позитивной одноцепочечной RNA в комплементарную RNA, которая используется как матрица для синтеза множества новых одноцепочечных позитивных цепей. Процесс начинается с уридилирования VPg и синтеза комплементарной негативной одноцепочечной RNA за счет транскрипции поли(A) с участием RNA-зависимой RNA-полимеразы 3D. Репликация происходит в цитоплазме клетки хозяина с участием розетковидных мембранных структур, имеющих ЭПР-происхождение, которые образуют каркас для сборки репликационного комплекса и предохраняют RNA от нуклеаз. В синтезе вирусной RNA принимают участие и другие клеточные и вирусные факторы: клеточные RNA-связывающие белки, вирусные белки 2A, 2B, 2C, 3AB, 3C и 3CD. RNA-зависимая RNA-полимераза допускает ошибки при считывании, что приводит к стремительному накоплению мутаций в ходе репликации. Синтезированные новые позитивные RNA-цепи могут участвовать в инкапсидации или служить основой для белковой трансляции. Время, необходимое для одного репликационного цикла, варьирует от 5 до 10 часов и зависит от серотипа вируса, pH и температуры. При сборке вирусной частицы самым ранним компонентом является 5S-протомер, который включает по одной копии каждого белка VP0, VP3 и VP1. Протомер является предшественником 14S-пентамера, который состоит из (VP0-VP3-VP1)₅. 12 пентамеров, объединяясь, образуют 75S-прокапсид (пустой капсид) (VP0-VP3-VP1)₆₀. После внедрения вновь синтезированной вирусной RNA в прокапсид формируется провирион 150S, не обладающий инфекционными свойствами. Расщепление VP0 на VP4 и VP2 приводит к конверсии провириона в вирион. В инфицированных клетках позитивный одноцепочечный геном амплифицируется через негативный геном до 50 000 копий на клетку, однако только

0,1–2% из них становятся инфекционным вирусом. Вирусы высвобождаются из клетки хозяина путем ее лизиса. Морфологические изменения, наблюдаемые в инфицированных EV клетках, включают цитопатический эффект, конденсацию хроматина, пролиферацию мембранных везикул, изменение проницаемости мембраны, потерю внутриклеточных компонентов, сморщивание клетки [Racaniello, 2006].

1.2. Антигенная структура и таксономия

Пикорнавирусы представляют собой простейшие RNA-содержащие вирусы, имеющие высокоструктурированный капсид. Тем не менее, несмотря на ограниченное количество генетического материала и структурную жесткость, эволюция пикорнавирусов привела к появлению огромного количества существенно отличающихся друг от друга представителей этого семейства. Это разнообразие с антигенной точки зрения категоризируется как серотип. Принадлежность к определенному серотипу коррелирует с иммунным ответом хозяина, используемыми рецепторами и, в меньшей степени, спектром клинических проявлений заболевания. Такое соответствие, однако, имело лишь частичное отношение к первичной классификации энтеровирусов на PV, CVA или CVB и ECHOV, основанной на их биологической активности и индуцируемых заболеваниях: поражение ЦНС человека с развитием вялых параличей (PV); вялые параличи у новорожденных мышей, поражение ЦНС человека и герпангина (CVA); спастические параличи у новорожденных мышей и заболевания с поражением ЦНС и сердца у человека (CVB); отсутствие заболеваний у мышей и (первоначально) у человека (ECHOV). В каждой из этих групп изоляты отличались по своим антигенным характеристикам.

Первичная классификация утратила свое значение после выделения вирусов, серологически идентичных известным ECHOV, которые индуцировали заболевания человека и животных. Это и другие несоответствия привели к появлению новых серотипов EV, начиная с EV68. Группировка по антигенным характеристикам становилась все более сложной по мере увеличения количества описанных серотипов вирусов. Тем не менее серотип по-прежнему остается отражением наиболее важных физических и иммунологических свойств, которые позволяют различать разные EV. Однако, несмотря на важнейшее значение антигенных свойств, появление молекулярных методов типирования привело к появлению новой, ныне действующей классификационной системы, которая подразделяет все разнообразие представителей рода EV на виды на основании их геномной организации и биологических свойств. Человеческие EV подразделяются на четыре вида: EV-A, EV-B, EV-C и EV-D. В этой системе представители одного вида имеют более чем 70%-ную аминокислотную идентичность полипротеина, более чем 60%-ную идентичность P1, более чем 70%-ную аминокислотную идентичность неструктурных белков 2C и 3CD, имеют общее ограниченное число рецепторов в организме хозяина, количество естественных хозяев, базовую конфигурацию генома (G+C), которая отличается не более чем на 2,5%, значительную степень сходства протеолитического процессинга, репликации, инкапсидации и генетической рекомбинации.

Из кодирующих капсидные белки генов P1-регион характеризуется приемлемой корреляцией между структурной последовательностью и традиционной дефиницией серотипа. Это утверждение верно и в отношении ряда других капсидных белков, за исключением VP4; последовательность VP4 никогда не коррелирует с серотипом и не может быть использована для его идентификации. Определение нуклеотидной

последовательности VP1 может служить альтернативой референсным антиген-специфическим методам типирования EV-серотипов, основанным на нейтрализационных тестах. Идентичность нуклеотидной последовательности VP1 не менее 75 % (85 % аминокислотной идентичности) изолята и прототипного штамма серотипа позволяет предполагать, что изолят серотипически идентичен прототипу (учитывая, что ближайший прототип совпадает менее чем на 70 %). При этом не существует никакой взаимосвязи между серотипом и последовательностью геномных сегментов некапсидного региона по причине высокой частоты рекомбинаций. К примеру, секвенирование позволило установить, что филогенетическое древо, выстроенное на основе сиквенса различных геномных регионов представителей EV-C и PV, не совпадает в случае типирования капсидных и некапсидных регионов [Brown, 2003]. Полученные результаты свидетельствуют о том, что возможна рекомбинация регионов, кодирующих неструктурные белки PV и других EV-C, что приводит к образованию серотипов, имеющих селективное преимущество и приобретающих доминантные свойства. Частота рекомбинаций в некапсидном регионе поддерживает идею о том, что серотип определяется капсидным регионом, в то время как между серотипом изолята и другими фенотипическими свойствами, которые не связаны с капсидными белками, существует лишь ограниченная связь. Результаты данного исследования подтверждают и то, что филогенетические кластеры прототипных штаммов могут меняться в зависимости от анализируемых неструктурных регионов. Рекомбинация неструктурных белков также была описана у прототипных представителей EV-A и EV-B с другими представителями тех же видов. Анализ множества изолятов различных EV-B-серотипов показал относительно высокую частоту интерсеротипических рекомбинаций некодирующих регионов. Секвенирование позволило также установить, что 5'-UTR

EV формирует два кластера: вирусы EV-C и EV-D образуют кластер I, в то время как EV-A и EV-B — кластер II [Brown, 2003; Нууріа, 1997]. Кроме того, показано значительное сходство между человеческими риновирусами и EV, что привело к пересмотру классификации риновирусов как членов трех разных видов в пределах рода Enterovirus. Кроме генетического родства различные серотипы EV могут обладать и общими антигенными свойствами. Например, PV1 и PV2 имеют общий антиген. Такие же общие антигены есть у CVA3 и A8, A16 и EV71, A24 и EV70, а также у ECHO6 и 30, 12 и 29. При разрушении вирионов нагреванием, особенно в присутствии детергента, становятся доступными неповерхностные антигены, общие для многих EV. Очень важными являются исследования, направленные на идентификацию мишеней для нейтрализации EV моноклональными антителами [Hogle, 1989]. Существуют также малоизученные антигенные сайты, не связанные с нейтрализующим иммунным ответом, но тем не менее определяющие серотип. Антисыворотка к отдельным EV в основном обладает типоспецифическими свойствами и может быть использована для определения серотипа в нейтрализующем тесте. Нейтрализующие антитела к PV также являются типоспецифическими, за исключением минорной кросс-реактивности между PV1 и PV2. Разрушенные вирионы индуцируют образование антител, реагирующих с множеством EV. Антитела с такой широкой реактивностью не обладают нейтрализующими свойствами. Несмотря на фиксируемые *in vitro* отличия антигенных свойств у различных штаммов в пределах серотипа, их значение при естественном инфицировании различающимися штаммами не изучено. Несколько PV, изолированных в ходе вспышки, при сравнении с референсными вакцинными штаммами демонстрировали отличающиеся антигенные свойства [Guo, 1987; Nuovilainen, 1988]. Однако во всех случаях стандартная иммунизация обеспечивала защиту и контроль этих штаммов

[Bothig, 1990]. Кроме того, несмотря на глобальную кампанию по вакцинации не было зафиксировано появление мутантов, резистентных к нейтрализации. Натуральные антигенные варианты были зафиксированы с использованием панели моноклональных антител у некоторых НПЭВ [Hartig, 1986].

1.3. Квазивиды энтеровирусов

Важнейшим фактором инвазии EV ЦНС является образование квазивидов или генотипических вариантов вирусных популяций в связи с мутациями, накапливающимися во время репликации вируса. Они возникают в результате низкого качества работы RNA-зависимой RNA-полимеразы, допускающей появление по меньшей мере одного неверного нуклеотида на одну дупликацию генома [Ward, 1992; Ward, 1988]. Разнообразие вирусов может повышаться и под действием других факторов, действующих во время репликации вирусов. К примеру, последние исследования *in vitro* свидетельствуют о том, что при относительно высоком качестве репликации последующие события также могут вносить вклад в появление ошибок вирусного генома [Freistadt, 2007]. Вне зависимости от частоты мутаций присутствие смеси вирусных вариантов или скопления квазивидов может приводить к распространению EV в ЦНС.

PV-изолят (G64S) обладает высокой точностью вирусной полимеразы и сниженным образованием квазивидов [Vignuzzi, 2006], а также обладает меньшей нейровирулентностью по сравнению с диким типом вируса, при этом инвазия ЦНС не наступает до тех пор, пока изолят не вносится в комбинации с квазивидами. Эти интригующие результаты демонстрируют кооперацию между вариантами вируса в пределах вирусной популяции, необходимую для инвазии ЦНС и раз-

вития нейрпатологии. Кооперация между вирусными генотипами может приводить и к нарушению формирования иммунного ответа одновременно с поражением ЦНС. Эффект генетического «бутылочного горлышка» также наблюдается в отношении вирусных вариантов, проникающих в ЦНС. После того, как первые вирусы попадают в ЦНС, инициируется иммунный ответ, который блокирует проникновение других вариантов [Pfeiffer, 2006]. Модель «сгоревшего моста» может объяснить редкую трансмиссию PV в ЦНС, которая происходит только в 1–2% случаев [Gromeier, 1998]. К барьерам, ограничивающим нейровирулентность, помимо «сгоревшего моста» относится индукция врожденного иммунного ответа и неэффективность нейронного вирусного транспорта [Kuss, 2008; Lancaster, 2010]. Таким образом, проникновение EV в ЦНС является результатом сложного процесса, включающего взаимодействие не только вируса и организма хозяина, но и вирусных вариантов в популяции квазивидов между собой.

Список цитируемой литературы

1. Bothig B., Danes L., Dittmann S. Immunogenicity of oral poliomyelitis vaccine (OPV) against variants of wild poliovirus type 3. *Bull World Health Organ* 1990, 68 (5), 597–600.
2. Brown B., Oberste M. S., Maher K., Pallansch M. A. Complete genomic sequencing shows that polioviruses and members of human enterovirus species C are closely related in the noncapsid coding region. *J. Virol. Aug.* 2003, 77 (16), 8973–8984.
3. Freistadt M. S., Vaccaro J. A., Eberle K. E. Biochemical characterization of the fidelity of poliovirus RNA dependent RNA replication in a positive-stranded RNA polymerase. *Viol. J.* 2007, 4, 44.
4. Gromeier M., Wimmer E. Mechanism of injury-provoked poliomyelitis. *J. Virol.* 1998, 72, 5056–5060.

5. Guo R., Tang E. H., Wang H. Preliminary studies on antigenic variation of poliovirus using neutralizing monoclonal antibodies. *J. Gen. Virol.* 1987, 68 (Pt 4), 989–994.
6. Hartig P. C., Webb S. R. Coxsackievirus B4 heterogeneity: effect of passage on neutralization and mortality. *Acta Virologica.* 1986, 30 (6), 475–486.
7. Hellen C. U. T., Wimmer E. Enterovirus Structure and assembly. In: Rotbart, H. A. (Ed.) *Human enterovirus infections*, American Society for Microbiology, Washington, 1995, 155–175.
8. Hendry E., Hatanaka H., Fry E., Smyth M., Tate J., Stanway G., Santti J., Maaronen M., Hyypia N., Stuart D. The crystal structure of coxsackievirus A9: new insights into the uncoating mechanism of enteroviruses. *Structure.* 1999, 7, 1527–1538.
9. Hogle J. M., Chow M., Filman D. J. The three-dimensional structure of poliovirus at 2.9 Å resolution. *Science.* 1985, 1358–1365.
10. Hogle J. M., Filman D. J. Poliovirus: three-dimensional structure of a viral antigen. *Adv. Vet. Sci. Comp. Med.* 1989, 33, 65–91.
11. Hogle J. M., Filman D. J. The antigenic structure of poliovirus. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London — Series B: Biological Sciences.* 1989, 323 (1217), 467–478.
12. Huovilainen A., Kinnunen L., Ferguson M., Hovi T. Antigenic variation among 173 strains of type 3 poliovirus isolated in Finland during the 1984 to 1985 outbreak. *J. Gen. Virol.* 1988, 69 (Pt 8), 1941–1948.
13. Hyypiä T., Hovi T., Knowles N. J., Stanway G. Classification of enteroviruses based on molecular and biological properties. *J. Gen. Virol.* 1997, 78 (Pt 1), 1–11.
14. Kuss S. K., Etheredge C. A., Pfeiffer J. K. Multiple host barriers restrict poliovirus trafficking in mice. *PLoS Pathog.* 2008, 4 (6), e1000082.
15. Lancaster K. Z., Pfeiffer J. K. Limited trafficking of a neurotropic virus through inefficient retrograde axonal transport and the type I interferon response. *PLoS Pathog.* 2010, 6 (3), e1000791.
16. Muckelbauer J. K., Kremer M., Minor I., Diana G., Dutko F. J., Groarke J., Pevear D. C., Rossmann M. G. The structure of coxsackievirus B3 at 3.5 Å resolution. *Structure.* 1995, 3, 653–667.
17. Pfeiffer J. K., Kirkegaard K. Bottleneck-mediated quasispecies restriction during spread of an RNA virus from inoculation site to brain. *Proc. Natl Acad. Sci. USA.* 2006, 103 (14), 5520–5525.

18. Racaniello V. R. Picornaviridae: the viruses and their replication. In: Knipe D. M., Howley P. M., Griffin D. E., Lamb R. A., Maetin M. A., Roizman B., Straus S. E. (Eds.). *Fields Virology*, 5th ed., Lippincott, Williams & Wilkins, Philadelphia, 2006, 795–838.
19. Rossmann M. G., He Y., Kuhn R. J. Picornavirus-receptor interactions. *Trends Microbiol.* 2002 Jul, 10 (7), 324–331.
20. Thorley J. A., McKeating J. A., Rappoport J. Z. Mechanisms of viral entry: sneaking in the front door. *Protoplasma.* 2010, 244, 15–24.
21. Vignuzzi M., Stone J. K., Arnold J. J., Cameron C. E., Andino R. Quasispecies diversity determines pathogenesis through cooperative interactions in a viral population. *Nature.* 2006, 439, 344–348.
22. Ward C. D., Flanagan J. B. Determination of the poliovirus RNA polymerase error frequency at eight sites in the viral genome. *J. Virol.* 1992, 66 (6), 3784–3793.
23. Ward C. D., Stokes M. A., Flanagan J. B. Direct measurement of the poliovirus RNA polymerase error frequency in vitro. *J. Virol.* 1988, 62 (2), 558–562.

2. Энтеровирусы в центральной нервной системе

2.1. Неврологические заболевания, вызываемые нейротропными энтеровирусами

Отдельные представители патогенных для человека EV обладают способностью вызывать инфекцию ЦНС, включая развитие асептического менингита, энцефалита, параличей и атаксии [Gear, 1984]. Асептические менингиты представляют собой воспаление менингеальных оболочек, ассоциированное с лихорадкой, головной болью, светобоязнью и развитием менингеальных симптомов в отсутствии признаков вовлечения в патологический процесс паренхимы мозга. EV являются наиболее частой причиной развития асептических менингитов и у детей, и у взрослых. Их выделяют в 85–95 % случаев, когда удается культивировать вызвавший заболевание вирус. Помимо CV и ECHOV к развитию асептического менингита также может привести инфицирование PV и EV71 [Berlin, 1993]. Подозрение на энтеровирусную природу менингита чаще возникает в летне-осенний период в связи с фекально-оральным путем передачи возбудителя [Johnson, 1998]. С неврологическими нарушениями при энтеровирусных менингитах могут быть ассоциированы и такие симптомы, как сыпь, которые имеют значение для диагности-

ки и идентификации отдельных серотипов EV [Johnson, 1998]. Например, сыпь чаще всего сопровождается ЦНС-инфекцией, вызванную CVA5, CVA9 и CVA16, а также ECHO4, ECHO6, ECHO9 и ECHO16. Сыпь, возникающая при менингитах, вызванных ECHO9, может носить петехиальный характер, напоминая наблюдаемую при менингококкцемии.

Развитие энцефалита происходит в случае вовлечения в патологический процесс паренхимы мозга и связано с нарушением сознания, очаговой неврологической симптоматикой и судорогами.

Причиной EV-энцефалита могут стать CV, PV и EV71 [Sin, 2015; Wang, 2015; Jennings, 1949]. Несмотря на то, что энцефалиты редко развиваются при ЭВИ, EV71 является одним из наиболее часто обнаруживаемых EV, выделяемых от пациентов с вирусными энцефалитами [Wang, 2015].

CV-инфекции ассоциированы также с развитием менингоэнцефалитов, характеризующихся воспалительной реакцией менингеальной оболочки и паренхимы мозга [Bissel, 2014]. Помимо CV, вирусы EV71 и ECHO9 также могут стать причиной энтеровирусного менингоэнцефалита [Ryu, 2010; Dathanarayana, 2015].

PV-инфекция приводит к развитию полиомиелита. Полиоподобные параличи могут возникать и на фоне инфекции EV71 и EV68 [Meinick, 1984; Greninger, 2015; Chen, 2001; Crone, 2015]. Несмотря на то, что вакцинация от полиомиелита успешно решает проблемы возникновения полиовирус-ассоциированных заболеваний во всем мире, нельзя не отметить тенденцию увеличения числа вялых параличей, возникающих при инфицировании НПЭВ. Острые вялые параличи (AFP) часто наблюдаются у инфицированных EV71 пациентов [Liu, 2000]. Связь инфекции EV71 с развитием AFP продемонстрирована в целом ряде исследований [Chumakov, 1979; Shindarov, 1979; Hu, 2015]. В 2014 году в Северной Америке из образцов, полученных от инфицированных пациентов с AFP, был

выделен EV68 [Ayscue, 2014; Messacar, 2015]. Однако связь между EV68 и AFP до конца не установлена. Последние исследования свидетельствуют, что новый EV, названный C105, мог стать причиной эпидемии AFP в 2014 году [Horner, 2015]. Более того, CV и ECHOV также были выделены от пациентов с AFP, хотя частота этих находок была относительно низкой [Kim, 2014].

Известны случаи острой церебральной атаки у детей, инфицированных различными EV, включая PV, ECHO6 и ECHO9, CVA2 и CVA9 [Johnson, 1998]. К другим нечасто регистрируемым клиническим симптомам относятся острая гемиплегия, двигательные расстройства и синдром Гийена — Барре (GBS) [Johnson, 1998]. GBS — воспалительное заболевание ЦНС, типичным признаком которого является острая демиелинизирующая полирадикулонейропатия, развивающаяся через несколько дней после респираторного или желудочно-кишечного заболевания. GBS может стать причиной AFP и тем самым вносит вклад в развитие EV71-ассоциированных AFP [McMinn, 2001]. У части пациентов, перенесших острую полиовирусную инфекцию, развивается постполиомиелит (PPS) — неврологическая патология, характеризующаяся мышечной слабостью и атрофией [Dalakas, 1986; Cosgrove, 1987]. В отличие от PV неврологические нарушения, возникающие в результате НПЭВ-инфекций, чаще носят острый и транзиторный характер. Однако последние исследования все чаще обращают внимание на то, что неврологические нарушения могут манифестировать в течение длительного периода после перенесенной первичной НПЭВ-инфекции. Например, Chou et al. [Chou, 2015] было продемонстрировано, что ЭВИ может быть связана с повышенным риском заболевания, сопровождающегося дефицитом внимания и гиперактивностью (ADHD). У пациентов, перенесших инфекцию EV71, часто наблюдали ADHD и нарушение когнитивных функций [Gau, 2008; Chang, 2007]. Более того, CV-инфекция в дет-

ском возрасте может увеличивать риск развития шизофрении [Euscher, 2001]. Тем не менее неопровержимых доказательств того, что регистрируемые неврологические и поведенческие нарушения связаны с предшествующей или персистирующей ЭВИ, нет.

2.2. Энтеровирусная инвазия центральной нервной системы

2.2.1. Пути проникновения энтеровирусов в центральную нервную систему

Общим свойством нейротропных EV является их способность проникать из мест первичного инфицирования в ЦНС. Вирусы первоначально реплицируются в желудочно-кишечном тракте (ЖКТ) и затем диссеминируют в другие органы/ткани. Понимание того, как EV попадают в ЦНС, имеет принципиальное значение для создания общей концепции патогенеза и разработки стратегий, направленных на снижение частоты неврологических осложнений. Однако, несмотря на многочисленные исследования, проводимые с целью изучения EV-инвазии ЦНС, многие вопросы по-прежнему остаются нерешенными.

Наиболее интенсивно изучались пути проникновения в ЦНС PV. Существуют две основные модели полиовирусной инвазии ЦНС, обе включают вирус или выход вируса в кровь после репликации в лимфатической ткани в ЖКТ. Одна гипотеза предполагает прямое перемещение вируса через гематоэнцефалический барьер (ГЭБ) hPVR-независимым путем (hPVR — человеческий PV-рецептор) [Yang, 1997]. Возможно, проникновение через ГЭБ происходит на ранних этапах PV-инфекции, что нарушает целостность ГЭБ и позволяет

следующим поколениям вирусов проникать в ЦНС независимо от экспрессии рецепторов.

Вторая модель предполагает распространение PV по мышечной ткани в ЦНС вдоль нервных окончаний [Ren, 1992]. Этот путь распространения вируса подробно описан Gromeier и Wimmer как ретроградный аксональный транспорт вируса из пораженной мышечной ткани в ЦНС [Gromeier, 1998]. Поскольку поражение мышечной ткани приводит к неврологическим поражениям при PV-инфекции, модель получила название «провокационный полиомиелит». Первоначально предполагалось, что для ретроградного аксонального транспорта вируса необходима экспрессия hPVR [Ohka, 2004]. Однако ретроградный транспорт осуществляется независимо от hPVR [Ohka, 2009]. Кроме того, показано, что PV способны инфицировать также микроваскулярные эндотелиальные клетки человеческого мозга (НВМЕС). Вирусные частицы, связываясь с рецепторами на НВМЕС, индуцировали фосфорилирование белков, после чего вирус проникал в клетку [Coyne, 2007]. Таким образом, PV используют несколько механизмов инвазии ЦНС. Другие EV, например EV71 и CV, для проникновения в ЦНС также эксплуатируют ретроградную транспортную систему [Chen, 2007].

Альтернативной моделью инвазии EV в ЦНС является использование инфицированных EV иммунных клеток, мигрирующих через ГЭБ («модель троянского коня»). Примечательно, что PV инфицирует моноциты, макрофаги и дендритные клетки PVR-зависимым способом [Freistadt, 1993; Wahid, 2005]. В моноцитах происходит репликация PV, причем нейровирулентные PV размножаются в моноцитах быстрее [Freistadt, 1993; Freistadt, 1996]. Таким образом, моноциты могут выступать в качестве переносчика PV из кровотока в ЦНС [Squires, 1997].

CVB3 и EV71 способны реплицироваться в В-лимфоцитах, Т-лимфоцитах и клетках миелоидной линии [Haddad,

2004; Vuorinen, 1996]. Быстрая инфильтрация нестин⁺-миелоидными клетками неонатальной ЦНС происходит вслед за CVB3-инфекцией [Tabor-Godwin, 2010]. Эти клетки высоко восприимчивы к CVB3 и перемещаются в паренхиму мозга, принимая участие в диссеминации вируса. Продемонстрировано также, что EV71 инфицирует различные типы иммунных клеток, такие как CD14⁺-клетки, дендритные клетки и мононуклеары периферической крови (PBMC). Таким образом, EV71 может использовать их для распространения в различные ткани/органы [Wang, 2013; Lin, 2009; Chen, 2009]. Другие НПЭВ, например ECHOV, также могут инфицировать дендритные клетки [Kramer, 2007].

2.2.2. Тропизм энтеровирусов

Различные EV поражают разные области нервной системы. PV обнаруживают в верхних рогах спинного мозга, которые содержат моторные нейроны, связанные со скелетной мускулатурой [Jubelt, 1980]. Репликация PV в моторных нейронах спинного мозга приводит к развитию полиомиелита [Jubelt, 1980; Arita, 2006]. Области поражения EV71 были зафиксированы в спинном мозге, мозжечке, продолговатом мозге, мосте, стволе мозга и коре в соответствии с клиническими симптомами [Као, 2004]. Поражение нейронов, расположенных в продолговатом мозге, стволе мозга и шейном отделе спинного мозга, связано с формированием нейрогенного отека легких [Baumann, 2007]. Однако не известно, является ли нейрогенный отек легких прямым следствием инфицирования EV71 ствола мозга и продолговатого мозга. В другом примере ECHO1 приводил к некротическим поражениям коры головного мозга трансгенных мышей, экспрессирующих человеческий очень поздний антиген 2 (hVLA2), что приводило к параличам и гибели зараженных животных [Hughes, 2003]. При

инфицировании CVB3 вирус распространяется в различных отделах мозга. Поражения могут быть обнаружены в коре и областях гиппокампа [Wang, 2014]. На модели с использованием внутричерепного инфицирования однодневных мышей было показано, что вирус экспрессируется в структурах сосудистого сплетения и субвентрикулярной области, богатой клетками-предшественниками (NPSC) [Puccini, 2014]. NPSC — это полипотентные клетки, способные дифференцироваться во все типы нервных клеток. CVB-инфекция NPSC может объяснить развитие неврологических дисфункций у плода [Feuer, 2005]. Несмотря на то, что EV68 может вызывать полиоподобный синдром у детей, результаты магнитно-резонансной томографии (МРТ) не выявляют каких-либо поражений серого вещества спинного мозга или ствола мозга [Pastula, 2014].

2.2.3. Клетки центральной нервной системы, чувствительные к нейротропным энтеровирусам

Тропизм на клеточном уровне можно рассматривать как результат взаимодействия трех основных факторов:

- 1) способности вируса инфицировать и реплицироваться в специфических тканях хозяина;
- 2) способности клеток хозяина контролировать вирусную инфекцию;
- 3) способности вируса избегать иммунного ответа хозяина.

На тканевой тропизм PV могут влиять различия в индукции I IFN [Ida-Hosonuma, 2005; Yoshikawa, 2006]. Кроме того, тропизм PV к нейронам определяется внутренним рибосомальным сайтом связывания PV (IRES) [Kauder, 2004], а также он может зависеть от IRES trans-acting Factors (ITAFs), который по-разному экспрессируется различными типами клеток, включая нейроны.

Представления о том, какие типы клеток в пределах ЦНС инфицируются нейротропными НПЭВ, основаны на данных, полученных на экспериментальных животных моделях и аутопсийном материале. В экспериментах на трансгенных мышах было показано, что PV-антигены обнаруживаются в моторных нейронах передних рогов спинного мозга, стволе и продолговатом мозге [Koike, 1991]. Данные, полученные в экспериментах на CVB1, CVB3 и CVB5-инфицированных мышах-сосунках, свидетельствуют о наличии морфологических изменений в продолговатом мозге и некрозе нейронов [Slobodeniuk, 2009]. Yoon et al. [Yoon, 2008] продемонстрировали, что CVB4 инфицирует первичные нейроны крысы. Кроме того, CVB также способен инфицировать первичные нейроны коры головного мозга мышей [Ahn, 2004]. Помимо нейронов, чувствительными к CVB-инфекции являются астроциты [Zeng, 2013]. Результаты иммуногистохимического окрашивания тканей мозга пациентов, умерших от EV71-инфекции, демонстрируют присутствие вирусных антигенов в нейронах [Yan, 2000]. При инфицировании мышей адаптированным EV71 вирусные антигены и RNA обнаруживались в нейронах. Это подтверждает, что нервные клетки чувствительны к EV71-инфекции [Ong, 2008].

Последние исследования свидетельствуют о том, что CVB3 не только инфицирует нейроны, но и обнаруживается в NPSC в мозге [Feuer, 2005]. Кроме того, показано, что CVB3 проходит полный репликационный цикл в NPSC [Tsueng, 2011]. EV71 также способен инфицировать NPSC [Huang, 2014]. Несмотря на то, что CVB3 может инфицировать дифференцированные NPSC, в них наблюдается более низкий уровень репликации вируса и экспрессии вирусных белков [Tsueng, 2011]. Подобные результаты были получены и в отношении EV71, поскольку дифференцированные нейроны и глиальные клетки были менее чувствительны, чем недифференцированные NPSC [Huang, 2014]. Различный уровень репликации вируса может быть связан с разной экспрессией

вирусных рецепторов и/или присутствием специфических факторов, модулирующих вирусный рост. Рецепторы, используемые EV71 и CVB3 для проникновения в NPSC, еще не установлены. Предполагается, что стадия жизненного цикла клетки может влиять на уровень репликации вируса [Feuer, 2002]. CVB3 преимущественно поражает пролиферирующие нервные NPSC, таким образом, активное размножение этих клеток делает их удобной мишенью для вируса. Во-первых, NPSC активно пролиферируют не только в период неонатального развития, но и во взрослом организме. Инфицирование NPSC расширяет тропизм CVB3 в соответствии с тремя направлениями дифференцировки этих клеток: в нейроны, астроциты и олигодендроциты. Во-вторых, NPSC после дифференцировки мигрируют в различные области ЦНС, включая гиппокамп и обонятельную луковицу. Обонятельная луковица может рассматриваться как «запасной выход» для вируса путем антероградного транспорта через обонятельный нейроэпителий. В-третьих, NPSC могут поражаться в ходе их дифференцировки в нейроны. В-четвертых, инфицирование NPSC может представлять собой стратегию CVB3 для развития персистирующей инфекции со спорадической активацией при пролиферации стволовых клеток. Большинство первичных нервных стволовых клеток в основном находятся в неделящемся состоянии. Таким образом, репликация CVB3 в клетках хозяина временно приостанавливается до того времени, когда продукция вирионов может быть выгодна для трансмиссии вируса, возможно, через обонятельный нейроэпителий. Наконец, иммунный ответ в ЦНС лимитирован в связи с ограничением проникновения иммунцитов через ГЭБ.

2.2.4. Рецепторы, используемые нейротропными энтеновирусами

Рецепторы опосредуют проникновение вирусов в клетки хозяина и играют решающую роль, определяя тропизм к тем или иным типам клеток и тканей. Многие рецепторы, используемые EV, уже идентифицированы. CD155, адгезионная молекула, известная как человеческий PV-рецептор (hPVR), участвует в инфицировании клеток PV [Mendelsohn, 1989]. CD155 mRNA может быть обнаружена в различных тканях, в том числе тонкого кишечника, мозга, скелетной мускулатуры, легких, печени и почек [Ren, 1992]. Она экспрессируется эмбриональными тканями, из которых образуются моторные нейроны спинного мозга, что объясняет клеточный тропизм PV [Gromeier, 2000]. Дальнейшие исследования показали, что CD155 присутствует на моторных нейронах и мышечных клетках [Leon-Monzon, 1995]. В модели ГЭБ *in vitro* PV проникает в эндотелиальные клетки микрососудов (hBMECs), также используя hPVR динамин- и кавеолин-зависимым способом [Coyne, 2007].

ECHOV и CVB используют DAF (decay-accelerating factor) или CD55 в качестве рецептора для прикрепления к клеткам хозяина [Plevka, 2010; Clarkson, 1995]. DAF экспрессируется на апикальной поверхности поляризованных Caco-2 клеток [Sobo, 2011], нейронах и способствует проникновению в них ECHOV и CV [Wang, 2010]. Однако последние исследования показали, что не все изоляты CVB способны связываться с DAF [Riabi, 2014]. Помимо DAF, CV задействуют другие рецепторы, такие как CAR (coxsackievirus и adenovirus receptor) [Bergelson, 1997]. В поляризованных клетках CVB использует уникальную стратегию связывания с DAF на апикальной поверхности клетки, вслед за чем CAR присоединяется к плотным контактам кавеолин-зависимым и динамин-независимым образом [Coyne, 2006]. В неполяризованных клетках CVB

использует только CAR для проникновения внутрь клетки и динамин-зависимым, и кавеолин-независимым способом [Patel, 2009]. Salinas et al. [Salinas, 2014] продемонстрировали, что лиганды CAR могут приводить к разделению CAR-CAR, способствуя интернализации рецептора. Таким образом, вирусы могут действовать подобно лигандам CAR и активировать эндоцитоз вирусных частиц. Например, CVA2 и HAdV5 инициируют интернализацию CAR в различных типах нервных клеток [Leon-Monzon, 1995]. Однако участвуют ли CAR в инфицировании CV нервных клеток, не известно. Проведенные исследования позволили установить, что зрелые нейроны менее чувствительны к CVB5, чем незрелые, и этот феномен связан со снижением экспрессии CAR, являющегося основным рецептором для CVB5 на зрелых нейронах [Ahn, 2008].

Целый ряд рецепторов участвует в прикреплении и проникновении в клетку хозяина EV71. К ним относятся: SCARB2 (scavenger receptor B2), PSGL-1 (P-selectin glycoprotein ligand-1), Anx2 (annexin A2), сиалилированный гликан, DC-SIGN (dendritic cell-specific intercellular adhesion molecule-3 grabbing nonintegrin) и гепарина сульфат [Yamayoshi, 2009; Nishimura, 2009; Yang, 2011; Yang, 2009; Pourianfar, 2012]. SCARB2 представляет собой трансмембранный белок III типа, который участвует в механизмах клеточного транспорта [Kuronita, 2002]. SCARB2 экспрессируется на клетках большинства тканей и, по-видимому, играет важнейшую роль в развитии EV71-инфекции. Трансгенные мыши-носители человеческого SCARB2 могут быть инфицированы клиническими изолятами EV71 и формируют те же клинические симптомы [Fujii, 2013]. SCARB2 экспрессируется нейронами ЦНС, антигены EV71 были обнаружены в SCARB2-позитивных нейронах в аутопсийном материале. Отдельные штаммы EV71 могут связываться с PSGL-1; этот белок представлен в виде димера на поверхности различных типов иммунных клеток. Экспрессия PSGL-1 также характерна для нейронов и клеток глии [Jiao, 2014]. Ан-

нексин A2 — плейотропный белок, который экспрессируется на различных тканях, в том числе на тканях головного мозга. Последние исследования продемонстрировали, что аннексин A2 экспрессируется нейронами головного мозга [Zhao, 2007]. Рецепторы, используемые EV для инфицирования клеток хозяина, не только определяют клеточный тропизм вируса, но и существенно влияют на пути и скорость его распространения в организме хозяина.

2.3. Энцефалиты и апоптоз

Апоптоз — важнейший клеточный защитный механизм, с помощью которого происходит элиминация патоген-инфицированных клеток, особенно на ранних этапах инфекции. Однако помимо ограничения распространения вируса апоптоз инфицированных клеток хозяина приводит к повреждению тканей, особенно выраженному на поздних стадиях заболевания. Целый ряд исследований свидетельствует о значимой роли апоптоза в патогенезе ЭВИ [Khong, 2011; Ch'ng, 2011; Aubert, 2003]. Известно, что различные EV, включая PV, CVB3, CVB5 и EV71, способны индуцировать апоптоз инфицированных клеток хозяина [Tolskaya, 1995; Carthy, 2003; Rasilainen, 2004; Kuo, 2002]. PV активирует апоптоз в клетках HeLa только при условии ограничения размножения вируса [Tolskaya, 1995; Agol, 1998]. Но в L20B-клетках (мышинные L-клетки, экспрессирующие hPVR) PV способен эффективно размножиться и в ходе апоптоза [Romanova, 2005]. Изучение PV-индуцированного апоптоза в клетках различных клеточных линий показало, что пути индукции запрограммированной клеточной гибели варьируют, несмотря на сопоставимый уровень репродукции вируса. Полученные результаты свидетельствуют о том, что программа индукции

апоптоза PV зависит от типа клеток хозяина. Изучение PV-инфекции на модели клеток нейробластомы IMR5 показало, что активация c-Jun-NH2-терминальной киназы (JNK) происходит сразу после инфицирования PV и приводит к активации Bax, проапоптотического белка, который принадлежит к семейству Bcl, приводит к высвобождению цитохрома из митохондрий и клеточной гибели [Autret, 2007]. Более того, PV-инфекция ассоциирована с увеличением концентрации кальция в цитозоле IMR5 клеток, что также имеет отношение к PV-индуцированному апоптозу [Brisac, 2010].

В ходе CVB-инфекции также регистрируется заметный уровень апоптоза и вирусная репликация в нейронах коры головного мозга инфицированных мышей [Feuer, 2003]. Однако ингибирование апоптоза не оказывает заметного влияния на уровень размножения вируса. Это наблюдение противоречит результатам, которые были получены при изучении влияния апоптоза на CVB3-инфицированные HeLa-клетки, в которых размножение вируса тормозилось при блокировании апоптоза [Yuan, 2005]. CVB3-инфекция также приводила к индукции апоптоза в предшественниках нервных клеток у мышей, что вело к снижению их количества и нарушению нейrogenеза [Ruller, 2012]. Распределение Bag-1 изменялось при CVB3-инфекции миокарда мышей, что также связано с клеточным апоптозом [Peng, 2001]. Использование HeLa-клеток в качестве модели *in vitro* для изучения механизмов апоптоза продемонстрировало, что ингибирование GS3K- β активации приводит к блокированию CVB3-индуцированного апоптоза [Yuan, 2005]. Играют ли Bag-1 и/или GS3K- β важную роль в CVB3-индуцированном апоптозе нейронов, еще предстоит установить.

Список цитируемой литературы

1. Agol V. I., Belov G. A., Bienz K., Egger D., Kolesnikova M. S., Raikhlin N. T., Romanova L. I., Smirnova E. A., Tolskaya E. A. Two types of death of poliovirus-infected cells: Caspase involvement in the apoptosis but not cytopathic effect. *Virology*. 1998, 252, 343–353.
2. Ahn J., Choi J., Joo C. H., Seo I., Kim D., Yoon S. Y., Kim Y. K., Lee H. Susceptibility of mouse primary cortical neuronal cells to coxsackievirus B. *J. Gen. Virol.* 2004, 85, 1555–1564.
3. Ahn J., Jee Y., Seo I., Yoon S. Y., Kim D., Kim Y. K., Lee H. Primary neurons become less susceptible to coxsackievirus B5 following maturation: The correlation with the decreased level of CAR expression on cell surface. *J. Med. Virol.* 2008, 80, 434–440.
4. Arita M., Nagata N., Sata T., Miyamura T., Shimizu H. Quantitative analysis of poliomyelitis-like paralysis in mice induced by a poliovirus replicon. *J. Gen. Virol.* 2006, 87, 3317–3327.
5. Aubert M., Jerome K. R. Apoptosis prevention as a mechanism of immune evasion. *Int. Rev. Immunol.* 2003, 22, 361–371.
6. Autret A., Martin-Latil S., Mousson L., Wirotius A., Petit F., Arnoult D., Colbère-Garapin F., Estaquier J., Blondel B. Poliovirus induces Bax-dependent cell death mediated by c-Jun NH2-terminal kinase. *J. Virol.* 2007, 81, 7504–7516.
7. Ayscue P., van Haren K., Sheriff H., Waubant E., Waldron P., Yagi S., Yen C., Clayton A., Padilla T., Pan C. et al. Acute flaccid paralysis with anterior myelitis — California, June 2012–June 2014//*MMWR Morb. Mortal. Wkly. Rep.* 2014, 63, 903–906.
8. Baumann A., Audibert G., McDonnell J., Mertes P. M. Neurogenic pulmonary edema//*Acta Anaesthesiol. Scand.* 2007, 51, 447–455.
9. Bergelson J. M., Cunningham J. A., Droguett G., Kurt-Jones E. A., Krithivas A., Hong J. S., Horwitz M. S., Crowell R. L., Finberg R. W. Isolation of a common receptor for Coxsackie B viruses and adenoviruses 2 and 5//*Science* 1997, 275, 1320–1323.
10. Berlin L. E., Rorabaugh M. L., Heldrich F., Roberts K., Doran T., Modlin J. F. Aseptic meningitis in infants <2 years of age: Diagnosis and etiology. *J. Infect. Dis.* 1993, 168, 888–892.

11. Bissel S. J., Winkler C. C., DelTondo J., Wang G., Williams K., Wiley C. A. Coxsackievirus B4 myocarditis and meningoencephalitis in newborn twins. *Neuropathology*. 2014, 34, 429–437.
12. Brisac C., Téoulé F., Autret A., Pelletier I., Colbère-Garapin F., Brenner C., Lemaire C., Blondel B. Calcium flux between the endoplasmic reticulum and mitochondrion contributes to poliovirus-induced apoptosis. *J. Virol.* 2010, 84, 12226–12235.
13. Carthy C. M., Yanagawa B., Luo H., Granville D. J., Yang D., Cheung P., Cheung C., Esfandiarei M., Rudin C. M., Thompson C. B. et al. Bcl-2 and Bcl-xL overexpression inhibits cytochrome c release, activation of multiple caspases, and virus release following coxsackievirus B3 infection. *Virology* 2003, 313, 147–157.
14. Ch'ng W. C., Stanbridge E. J., Ong K. C., Wong K. T., Yusoff K., Shafee N. Partial protection against enterovirus 71 (EV71) infection in a mouse model immunized with recombinant Newcastle disease virus capsids displaying the EV71 VP1 fragment. *J. Med. Virol.* 2011, 83, 1783–1791.
15. Chang L. Y., Huang L. M., Gau S. S., Wu Y. Y., Hsia S. H., Fan T. Y., Lin K. L., Huang Y. C., Lu C. Y., Lin T. Y. Neurodevelopment and cognition in children after enterovirus 71 infection. *N. Engl. J. Med.* 2007, 356, 1226–1234.
16. Chen C. S., Yao Y. C., Lin S. C., Lee Y. P., Wang Y. F., Wang J. R., Liu C. C., Lei H. Y., Yu C. K. Retrograde axonal transport: A major transmission route of enterovirus 71 in mice. *J. Virol.* 2007, 81, 8996–9003.
17. Chen C. Y., Chang Y. C., Huang C. C., Lui C. C., Lee K. W., Huang S. C. Acute flaccid paralysis in infants and young children with enterovirus 71 infection: MR imaging findings and clinical correlates. *AJNR Am. J. Neuroradiol.* 2001, 22, 200–205.
18. Chen L. C., Yeh T. M. Enterovirus 71 Infection of human immune cells induces the production of proinflammatory cytokines. *J. Biomed. Lab. Sci.* 2009, 21, 82–90.
19. Chou I. C., Lin C. C., Kao C. H. Enterovirus encephalitis increases the risk of attention deficit hyperactivity disorder: A taiwanese population-based case-control study. *Medicine* 2015, 94, e707.
20. Chumakov M., Voroshilova M., Shindarov L., Lavrova I., Gracheva L., Koroleva G., Vasilenko S., Brodvarova I., Nikolova M., Gyuro-

- va S. et al. Enterovirus 71 isolated from cases of epidemic poliomyelitis-like disease in Bulgaria. *Arch. Virol.* 1979, 60, 329–340.
21. Clarkson N. A., Kaufman R., Lublin D. M., Ward T., Pipkin P. A., Minor P. D., Evans D. J., Almond J. W. Characterization of the echovirus 7 receptor: Domains of CD55 critical for virus binding. *J. Virol.* 1995, 69, 5497–5501.
22. Cosgrove J. L., Alexander M. A., Kitts E. L., Swan B. E., Klein M. J., Bauer R. E. Late effects of poliomyelitis. *Arch. Phys. Med. Rehabil.* 1987, 68, 4–7.
23. Coyne C. B., Bergelson J. M. Virus-induced Abl and Fyn kinase signals permit coxsackievirus entry through epithelial tight junctions. *Cell.* 2006, 124 (1), 119–131.
24. Coyne C. B., Kim K. S., Bergelson J. M. Poliovirus entry into human brain microvascular cells requires receptor-induced activation of SHP-2. *EMBO J.* 2007, 26 (17), 4016–4028.
25. Crone M., Tellier R., Wei X. C., Kuhn S., Vanderkooi O. G., Kim J., Mah J. K., Mineyko A. Polio-like illness associated with outbreak of upper respiratory tract infection in children. *J. Child Neurol.* 2015.
26. Dalakas M. C., Elder G., Hallett M., Ravits J., Baker M., Papadopoulos N., Albrecht P., Sever J. A long-term follow-up study of patients with post-poliomyelitis neuromuscular symptoms. *N. Engl. J. Med.* 1986, 314, 959–963.
27. Danthanarayana N., Williams D. T., Williams S. H., Thevanesam V., Speers D. J., Fernando M. S. Acute meningoencephalitis associated with echovirus 9 infection in Sri Lanka, 2009. *J. Med. Virol.* 2015, 87, 2033–2039.
28. Euscher E., Davis J., Holzman I., Nuovo G. J. Coxsackievirus infection of the placenta associated with neurodevelopmental delays in the newborn. *Obstet. Gynecol.* 2001, 98, 1019–1026.
29. Feuer R., Mena I., Pagarigan R., Slifka M. K., Whitton J. L. Cell cycle status affects coxsackievirus replication, persistence, and reactivation in vitro. *J. Virol.* 2002, 76, 4430–4440.
30. Feuer R., Mena I., Pagarigan R. R., Harkins S., Hassett D. E., Whitton J. L. Coxsackievirus B3 and the neonatal CNS: The roles of stem cells, developing neurons, and apoptosis in infection, viral dissemination, and disease. *Am. J. Pathol.* 2003, 163, 1379–1393.

31. Feuer R., Pagarigan R. R., Harkins S., Liu F., Hunziker I. P., Whitton J. L. Coxsackievirus targets proliferating neuronal progenitor cells in the neonatal CNS. *J. Neurosci.* 2005, 25, 2434–2444.
32. Freistadt M. S., Eberle K. E. Correlation between poliovirus type 1 Mahoney replication in blood cells and neurovirulence. *J. Virol.* 1996, 70, 6486–6492.
33. Freistadt M. S., Fleit H. B., Wimmer E. Poliovirus receptor on human blood cells: a possible extraneural site of poliovirus replication. *Virology.* 1993, 195 (2), 798–803.
34. Fujii K., Nagata N., Sato Y., Ong K. C., Wong K. T., Yamayoshi S., Shimanuki M., Shitara H., Taya C., Koike S. Transgenic mouse model for the study of enterovirus 71 neuropathogenesis. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2013, 110, 14753–14758.
35. Gau S. S., Chang L. Y., Huang L. M., Fan T. Y., Wu Y. Y., Lin T. Y. Attention-deficit/hyperactivity-related symptoms among children with enterovirus 71 infection of the central nervous system. *Pediatrics.* 2008, 122, e452–e458.
36. Gear J. H. Nonpolio causes of polio-like paralytic syndromes. *Rev. Infect. Dis.* 1984, 6, S379–S384.
37. Greninger A. L., Naccache S. N., Messacar K., Clayton A., Yu G., Somasekar S., Federman S., Stryke D., Anderson C., Yagi S. et al. A novel outbreak enterovirus D68 strain associated with acute flaccid myelitis cases in the USA (2012–2014): A retrospective cohort study. *Lancet Infect. Dis.* 2015, 15, 671–682.
38. Gromeier M., Solecki D., Patel D. D., Wimmer E. Expression of the human poliovirus receptor/CD155 gene during development of the central nervous system: Implications for the pathogenesis of poliomyelitis. *Virology.* 2000, 273, 248–257.
39. Gromeier M., Wimmer E. Mechanism of injury-provoked poliomyelitis. *J. Virol.* 1998, 72, 5056–5060.
40. Haddad A., Nokhbeh M. R., Alexander D. A., Dawe S. J., Grise C., Gulzar N., Dimock K. Binding to decayaccelerating factor is not required for infection of human leukocyte cell lines by enterovirus 70. *J. Virol.* 2004, 78 (6), 2674–2681.
41. Horner L. M., Poulter M. D., Brenton J. N., Turner R. B. Acute flaccid paralysis associated with novel enterovirus C105. *Emerg. Infect. Dis.* 2015, 21, 1858–1860.

42. Hu Y., Jiang L., Peng H. L. Clinical analysis of 134 children with nervous system damage caused by Enterovirus 71 infection. *Pediatr. Infect. Dis. J.* 2015, 34, 718–723.
43. Huang H. I., Lin J. Y., Chen H. H., Yeh S. B., Kuo R. L., Weng K. F., Shih S. R. Enterovirus 71 infects brain-derived neural progenitor cells. *Virology.* 2014, 468–470, 592–600.
44. Hughes S. A., Thaker H. M., Racaniello V. R. Transgenic mouse model for echovirus myocarditis and paralysis. *Proc. Natl Acad. Sci. USA.* 2003, 100, 15906–15911.
45. Ida-Hosonuma M., Iwasaki T., Yoshikawa T., Nagata N., Sato Y., Sata T., Yoneyama M., Fujita T., Taya C., Yonekawa H., Koike S. The alpha/beta interferon response controls tissue tropism and pathogenicity of poliovirus. *J. Virol.* 2005, 79, 4460–4469.
46. Jennings G. H., Hamilton-Paterson J. L., MacCallum F. O. Fatal case of polio-encephalitis due to poliomyelitis virus. *Br. Med. J.* 1949, 2, 210–213.
47. Jiao X. Y., Guo L., Huang D. Y., Chang X. L., Qiu Q. C. Distribution of EV71 receptors SCARB2 and PSGL-1 in human tissues. *Virus Res.* 2014, 190, 40–52.
48. Johnson R. *Viral Infections of the Nervous System.* 2nd ed. Philadelphia: JB Lippincott-Raven, 1998.
49. Jubelt B., Gallez-Hawkins G., Narayan O., Johnson R. T. Pathogenesis of human poliovirus infection in mice. I. Clinical and pathological studies. *J. Neuropathol. Exp. Neurol.* 1980, 39, 138–148.
50. Kao S. J., Yang F. L., Hsu Y. H., Chen H. I. Mechanism of fulminant pulmonary edema caused by enterovirus 71. *Clin. Infect. Dis.* 2004, 38, 1784–1788.
51. Kauder S. E., Racaniello V. R. Poliovirus tropism and attenuation are determined after internal ribosome entry. *J. Clin. Invest.* 2004, 113, 1743–1753.
52. Khong W. X., Foo D. G., Trasti S. L., Tan E. L., Alonso S. Sustained high levels of interleukin-6 contribute to the pathogenesis of enterovirus 71 in a neonate mouse model. *J. Virol.* 2011, 85, 3067–3076.
53. Kim H., Kang B., Hwang S., Lee S. W., Cheon D. S., Kim K., Jeong Y. S., Hyeon, J. Y. Clinical and enterovirus findings associated with acute flaccid paralysis in the Republic of Korea during the recent decade. *J. Med. Virol.* 2014, 86, 1584–1589.

54. Koike S., Taya C., Kurata T., Abe S., Ise I., Yonekawa H., Nomoto A. Transgenic mice susceptible to poliovirus. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 1991, 88, 951–955.
55. Kramer M., Schulte B. M., Toonen L. W., de Bruijn M. A., Galama J. M., Adema G. J., van Kuppeveld F. J. Echovirus infection causes rapid loss-of-function and cell death in human dendritic cells. *Cell. Microbiol.* 2007, 9, 1507–1518.
56. Kuo R. L., Kung S. H., Hsu Y. Y., Liu W. T. Infection with enterovirus 71 or expression of its 2A protease induces apoptotic cell death. *J. Gen. Virol.* 2002, 83, 1367–1376.
57. Kuronita T., Eskelinen E. L., Fujita H., Saftig P., Himeno M., Tanaka Y. A role for the lysosomal membrane protein LGP85 in the biogenesis and maintenance of endosomal and lysosomal morphology. *J. Cell. Sci.* 2002, 115, 4117–4131.
58. Leon-Monzon M. E., Illa I., Dalakas M. C. Expression of poliovirus receptor in human spinal cord and muscle. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 1995, 753, 48–57.
59. Lin Y. W., Wang S. W., Tung Y. Y., Chen S. H. Enterovirus 71 infection of human dendritic cells. *Exp. Biol. Med.* 2009, 234, 1166–1173.
60. Liu C. C., Tseng H. W., Wang S. M., Wang J. R., Su I. J. An outbreak of enterovirus 71 infection in Taiwan, 1998: Epidemiologic and clinical manifestations. *J. Clin. Virol.* 2000, 17, 23–30.
61. McMinn P., Stratov I., Nagarajan L., Davis S. Neurological manifestations of enterovirus 71 infection in children during an outbreak of hand, foot, and mouth disease in Western Australia. *Clin. Infect. Dis.* 2001, 32, 236–242.
62. Meinick J. L. Enterovirus type 71 infections: A varied clinical pattern sometimes mimicking paralytic poliomyelitis. *Rev. Infect. Dis.* 1984, 6, S387–S390.
63. Mendelsohn C. L., Wimmer E., Racaniello V. R. Cellular receptor for poliovirus: Molecular cloning, nucleotide sequence, and expression of a new member of the immunoglobulin superfamily. *Cell.* 1989, 56, 855–865.
64. Messacar K., Abzug M. J., Dominguez S. R. 2014 outbreak of enterovirus D68 in North America. *J. Med. Virol.* 2015.
65. Nishimura Y., Shimajima M., Tano Y., Miyamura T., Wakita T., Shimizu H. Human P-selectin glycoprotein ligand-1 is a functional receptor for enterovirus 71. *Nat. Med.* 2009, 15, 794–797.

66. Ohka S., Matsuda N., Tohyama K., Oda T., Morikawa M., Kuge S., Nomoto A. Receptor (CD155)-dependent endocytosis of poliovirus and retrograde axonal transport of the endosome. *J. Virol.* 2004, 78, 7186–7198.
67. Ohka S., Sakai M., Bohnert S., Igarashi H., Deinhardt K., Schiavo G., Nomoto A. Receptor-dependent and -independent axonal retrograde transport of poliovirus in motor neurons. *J. Virol.* 2009, 83 (10), 4995–5004.
68. Ong K. C., Badmanathan M., Devi S., Leong K. L., Cardoso M. J., Wong K. T. Pathologic characterization of a murine model of human Enterovirus 71 encephalomyelitis. *J. Neuropathol. Exp. Neurol.* 2008, 67, 532–542.
69. Pastula D. M., Aliabadi N., Haynes A. K., Messacar K., Schreiner T., Maloney J., Dominguez S. R., Davison E. S., Leshem E., Fischer M. et al. Acute neurologic illness of unknown etiology in children — Colorado, August–September 2014. *MMWR Morb. Mortal. Wkly. Rep.* 2014, 63, 901–902.
70. Patel K. P., Coyne C. B., Bergelson J. M. Dynamin- and lipid raft-dependent entry of decay-accelerating factor (DAF)-binding and non-DAF-binding coxsackieviruses into nonpolarized cells. *J. Virol.* 2009, 83 (21), 11064–11077.
71. Peng T., Sadosky T., Li Y., Coulton G. R., Zhang H., Archard L. C. Altered expression of Bag-1 in Coxsackievirus B3 infected mouse heart. *Cardiovasc. Res.* 2001, 50, 46–55.
72. Plevka P., Hafenstein, S., Harris, K. G., Cifuentes J. O., Zhang Y., Bowman V. D., Chipman P. R., Bator C. M., Lin F., Medof M. E. et al. Interaction of decay-accelerating factor with echovirus 7. *J. Virol.* 2010, 84, 12665–12674.
73. Pourianfar H. R., Poh C. L., Fecondo J., Grollo L. In vitro evaluation of the antiviral activity of heparin sulfate mimetic compounds against Enterovirus 71. *Virus Res.* 2012, 169, 22–29.
74. Puccini J. M., Ruller C. M., Robinson S. M., Knopp K. A., Buchmeier M. J., Doran K. S., Feuer R. Distinct neural stem cell tropism, early immune activation, and choroid plexus pathology following coxsackievirus infection in the neonatal central nervous system. *Lab. Invest.* 2014, 94, 161–181.

75. Rasilainen S., Ylipaasto P., Roivainen M., Bouwens L., Lapatto R., Hovi T., Otonkoski T. Mechanisms of β cell death during restricted and unrestricted enterovirus infection. *J. Med. Virol.* 2004, 72, 451–461.
76. Ren R., Racaniello V.R. Human poliovirus receptor gene expression and poliovirus tissue tropism in transgenic mice. *J. Virol.* 1992, 66, 296–304.
77. Ren R., Racaniello V.R. Poliovirus spreads from muscle to the central nervous system by neural pathways. *J. Infect Dis.* 1992, 166 (4), 747–752.
78. Riabi S., Harrath R., Gaaloul I., Bouslama L., Nasri D., Aouni M., Pillet S., Pozzetto B. Study of Coxsackie B viruses interactions with coxsackie adenovirus receptor and decay-accelerating factor using human CaCo-2 cell line. *J. Biomed. Sci.* 2014, 21, 50.
79. Romanova L. I., Belov G. A., Lidsky P. V., Tolskaya E. A., Kolesnikova M. S., Evstafieva A. G., Vartapetian A. B., Egger D., Bienz K., Agol V. I. Variability in apoptotic response to poliovirus infection. *Virology.* 2005, 33, 292–306.
80. Ruller C. M., Tabor-Godwin J. M., van Deren D. A. Jr., Robinson S. M., Maciejewski S., Gluhm S., Gilbert P. E., An N., Gude N. A., Sussman M. A. et al. Neural stem cell depletion and CNS developmental defects after enteroviral infection. *Am. J. Pathol.* 2012, 180, 1107–1120.
81. Ryu W. S., Kang B., Hong J., Hwang S., Kim J., Cheon D. S. Clinical and etiological characteristics of enterovirus 71-related diseases during a recent 2-year period in Korea. *J. Clin. Microbiol.* 2010, 48, 2490–2494.
82. Salinas S., Zussy C., Loustalot F., Henaff D., Menendez G., Morton P. E., Parsons M., Schiavo G., Kremer E. J. Disruption of the coxsackievirus and adenovirus receptor-homodimeric interaction triggers lipid microdomain- and dynamin-dependent endocytosis and lysosomal targeting. *J. Biol. Chem.* 2014, 289, 680–695.
83. Shindarov L. M., Chumakov M. P., Voroshilova M. K., Bojinov S., Vasilenko S. M., Iordanov I., Kirov I. D., Kamenov E., Leshchinskaya E. V., Mitov G. et al. Epidemiological, clinical and pathomorphological characteristics of epidemic poliomyelitis-like disease caused by enterovirus 71. *J. Hyg. Epidemiol. Microbiol. Immunol.* 1979, 23, 284–295.

84. Sin J., Mangale V., Thienphrapa W., Gottlieb R. A., Feuer R. Recent progress in understanding coxsackievirus replication, dissemination, and pathogenesis. *Virology.* 2015, 484, 288–304.
85. Slobodeniuk V. K., Glinskikh N. P., Grigor'eva Iu. V., Tulakina L. G., Pashnina N. I., Patsuk N. V., Rumako E. N. Neuropathogenicity of Coxsackie B virus strains isolated from children with clinical manifestations of aseptic meningitis in different year. *Vopr. Virusol.* 2009, 54, 33–36.
86. Sobo K., Rubbia-Brandt L., Brown T. D., Stuart A. D., McKee T. A. Decay-accelerating factor binding determines the entry route of echovirus 11 in polarized epithelial cells. *J. Virol.* 2011, 85, 12376–12386.
87. Squires R. F. How a poliovirus might cause schizophrenia: A commentary on Eagles' hypothesis. *Neurochem. Res.* 1997, 22, 647–656.
88. Tabor-Godwin J. M., Ruller C. M., Bagalzo N., An N., Pagarigan R. R., Harkins S., Gilbert P. E., Kiosses W. B., Gude N. A., Cornell C. T., Doran K. S., Sussman M. A., Whitton J. L., Feuer R. A novel population of myeloid cells responding to coxsackievirus infection assists in the dissemination of virus within the neonatal CNS. *J. Neurosci.* 2010, 30, 8676–8691.
89. Tolskaya E. A., Romanova L. I., Kolesnikova M. S., Ivannikova T. A., Smirnova E. A., Raikhlin N. T., Agol V. I. Apoptosis-inducing and apoptosis-preventing functions of poliovirus. *J. Virol.* 1995, 69, 1181–1189.
90. Tsueng G., Tabor-Godwin J. M., Gopal A., Ruller C. M., Deline S., An N., Frausto R. F., Milner R., Crocker S. J., Whitton, J. L. et al. Coxsackievirus preferentially replicates and induces cytopathic effects in undifferentiated neural progenitor cells. *J. Virol.* 2011, 85, 5718–5732.
91. Vuorinen T., Vainionpaa R., Vanharanta R., Hyypia T. Susceptibility of human bone marrow cells and hematopoietic cell lines to coxsackievirus B3 infection. *J. Virol.* 1996, 70 (12), 9018–9023.
92. Wahid R., Cannon M. J., Chow M. Dendritic cells and macrophages are productively infected by poliovirus. *J. Virol.* 2005, 79 (1), 401–409.
93. Wang J., Pu J., Huang H., Zhang Y., Liu L., Yang E., Zhou X., Ma N., Zhao H., Wang L. et al. EV71-infected CD14+ cells modulate the immune activity of T lymphocytes in Rhesus monkeys. *Emerg. Microbes Infect.* 2013, 2, e44.

94. Wang L., Dong C., Chen D. E., Song Z. Coxsackievirus-induced acute neonatal central nervous system disease model. *Int. J. Clin. Exp. Pathol.* 2014, 7, 858–869.
95. Wang Y., Li Y., Dalle Lucca S. L., Simovic M., Tsokos G. C., Dalle Lucca J. J. Decay accelerating factor (CD55) protects neuronal cells from chemical hypoxia-induced injury. *J. Neuroinflammation.* 2010, 7, 24.
96. Wang Y., Zou G., Xia A., Wang X., Cai J., Gao Q., Yuan S., He G., Zhang S., Zeng M. et al. Enterovirus 71 infection in children with hand, foot, and mouth disease in Shanghai, China: Epidemiology, clinical feature and diagnosis. *Virology.* 2015, 12, 83.
97. Yamayoshi S., Yamashita Y., Li J., Hanagata N., Minowa T., Takemura T., Koike S. Scavenger receptor B2 is a cellular receptor for enterovirus 71. *Nat. Med.* 2009, 15, 798–801.
98. Yan J. J., Wang J. R., Liu C. C., Yang H. B., Su I. J. An outbreak of enterovirus 71 infection in Taiwan 1998: A comprehensive pathological, virological, and molecular study on a case of fulminant encephalitis. *J. Clin. Virol.* 2000, 17, 13–22.
99. Yang B., Chuang H., Yang K. D. Sialylated glycans as receptor and inhibitor of enterovirus 71 infection to DLD-1 intestinal cells. *Virology.* 2009, 6, 141.
100. Yang S. L., Chou Y. T., Wu C. N., Ho M. S. Annexin II binds to capsid protein VP1 of Enterovirus 71 and enhances viral infectivity. *J. Virol.* 2011, 8, 11809–11820.
101. Yang W. X., Terasaki T., Shiroki K., Ohka S., Aoki J., Tanabe S., Nomura T., Terada E., Sugiyama Y., Nomoto A. Efficient delivery of circulating poliovirus to the central nervous system independently of poliovirus receptor. *Virology.* 1997, 229 (2), 421–428.
102. Yoon S. Y., Ha Y. E., Choi J. E., Ahn J., Lee H., Kweon H. S., Lee J. Y., Kim D. H. Coxsackievirus B4 uses autophagy for replication after calpain activation in rat primary neurons. *J. Virol.* 2008, 82, 11976–11978.
103. Yoshikawa T., Iwasaki T., Ida-Hosonuma M., Yoneyama M., Fujita T., Horie H., Miyazawa M., Abe S., Simizu B., Koike S. Role of the alpha/beta interferon response in the acquisition of susceptibility to poliovirus by kidney cells in culture. *J. Virol.* 2006, 80, 4313–4325.
104. Yuan J., Zhang J., Wong B. W., Si X., Wong J., Yang D., Luo H. Inhibition of glycogen synthase kinase 3beta suppresses coxsackievirus-in-

- duced cytopathic effect and apoptosis via stabilization of β -catenin. *Cell Death Differ.* 2005, 12, 1097–1106.
105. Zeng J., Wang G., Li W., Zhang D., Chen X., Xin G., Jiang Z., Li K. Induction of cytopathic effect and cytokines in coxsackievirus B3-infected murine astrocytes. *Virology.* 2013, 10, 157.
106. Zhao W., Lu B. Expression of annexin A2 in GABAergic interneurons in the normal rat brain. *J. Neurochem.* 2007, 100, 1211–1223.

3. Врожденный иммунный ответ на энтеровирусную инфекцию

3.1. Механизмы распознавания энтеровирусов с участием паттерн-распознающих рецепторов и индукция синтеза интерферонов

Врожденный иммунитет представляет собой первую линию защиты организма от патогенов. Его ключевым элементом является продукция на ранних стадиях заболевания различных типов интерферонов с последующей паракринно и аутокринно осуществляемой индукцией экспрессии IFN-стимулированных генов (ISG) [Devasthanam, 2014; Schneider, 2014]. Синтез I IFN индуцируется патоген-ассоциированными молекулярными паттернами (PAMP), например вирусной одноцепочечной (single-stranded (ss)) и двуцепочечной (double-stranded (ds)) DNA, а также ss- и dsRNA, вирусными гликопротеинами, бактериальными компонентами, клеточной стенкой грибов и белков жгутиков [Kato, 2006; Takeuchi, 2009; Yan, 2012]. PAMP распознаются с участием паттерн-распознающих рецепторов (PRR). Сенсорами для RNA-содержащих вирусов, таких как EV, являются три типа PRR: Toll-подобные рецепторы (TLR), RIG-I (retinoic acid-inducible gene)-подобные рецепторы (RLR) и NOD (nucleotide-binding oligomerization domain)-подобные рецепторы (NLR) [Takeuchi, 2009; Yan, 2012]. TLR распознают PAMP на кле-

точной поверхности или мембране внутриклеточных везикул, таких как эндосомы и лизосомы. Эндосом-ассоциированные TLR3, 7/8 и 9 могут распознавать вирусные нуклеиновые кислоты [Takeuchi, 2009; Xagorari, 2008]. К примеру, TLR3 участвует в распознавании вирусной dsRNA, TLR7/8 распознают ssRNA, а TLR9 — метилированные 2'-дезоксирибо (цитидин-фосфат-гуанозин) (CpG) DNA [Xagorari, 2008]. По сравнению с диким типом мышей TLR3-knockout-мыши очень восприимчивы к CVB3-инфекции, с высоким уровнем смертности и частоты развития тяжелых миокардитов [Abston, 2013; Negishi, 2008]. Исследования CVB4-инфекции у TLR3-дефицитных мышей позволили авторам сделать выводы о том, что TLR3 не только играют центральную роль в развитии врожденного иммунного ответа на CVB, но и почти незаменимы. У TLR3-дефицитных мышей содержание CVB4-индуцированных провоспалительных медиаторов снижено на фоне увеличения вирусной репликации [Richer, 2009].

Роль TLR3 при PV-инфекции была изучена на примере TLR3-knockout-мышей [Abe, 2012]. Несмотря на то, что PV-индуцированная продукция I IFN зависела от MDA5, что было продемонстрировано на первичной культуре клеток почки, уровень смертности MDA5-knockout и диких мышей не отличался. Однако смертность TLR3-knockout-мышей при инфицировании PV была значительно выше по сравнению с диким типом [Abe, 2012]. Эти результаты являются подтверждением ведущей роли TLR3 в развитии врожденного иммунного ответа при EV-инфекции.

Воспалительный ответ в сердце при CVB-инфекции зависит также от TLR7 и TLR8 [Triantafyllou, 2005], оба рецептора распознают ssRNA и другие небольшие молекулы [Heil, 2004]. Таким образом, TLR7 и TLR8 играют важную роль в распознавании CVB3 ssRNA и CVB3-индуцируемой продукции IFN, хотя точный молекулярный механизм остается неизвестным [Triantafyllou, 2005; Coyne, 2011; Wang, 2007].

TLR9 — еще один важнейший компонент иммунного ответа, роль которого продемонстрирована при EV71-инфекции [Hsiao, 2014]. Примечательно, что EV71-инфекция не приводит непосредственно к активации TLR9-опосредованного врожденного иммунного ответа, он стимулируется EV71-индуцируемыми DAMP (danger-associated molecular pattern).

TLR4 на поверхности плазматической мембраны обычно активируется липополисахаридом (LPS) [Poltorak, 1998], но также участвует в распознавании некоторых вирусов [Kurt-Jones, 2000]. TLR4 на клетках человеческой поджелудочной железы взаимодействуют с CVB4 [Triantafyllou, 2004], и у TLR4-knockout-мышей, инфицированных CVB3, снижены вирусные титры и частота развития миокардитов [Fairweather, 2003]. В работах Frisancho-Kiss et al. [Frisancho-Kiss, 2007] также показано, что TLR4-сигналинг коррелирует с выраженностью миокардитов. Однако CVB-опосредованное связывание TLR4 может быть субоптимальным, поскольку LPS, введенный параллельно с CVB, значительно усиливает выраженность CVB-индуцированных миокардитов [Lane, 1991; Richer, 2006].

После активации TLR задействуют TIR-содержащие адапторы, такие как MyD88 (myeloid differentiation primary response gene 88) и TRIF (Toll/interleukin-1 receptor domain-containing adaptors inducing IFN- β) для дальнейшей передачи сигнала [Takeda, 2005]. В ответ на вирусную dsRNA сигнальный путь с участием TLR3 активирует адаптор TRIF, который, в свою очередь, задействует TRAF3 (tumor necrosis factor receptor-associated factor 3). TRAF3 активирует две родственные киназы, TANK-связывающую киназу 1 (TBK1) и ингибитор κ B киназы (IKK α), которые осуществляют фосфорилирование IRF3/7 (interferon regulatory factor 3/7) [Kawai, 2006]. Далее IRF3/7 поступает в ядро и стимулирует продукцию I IFN. Сигнальный путь с участием TLR3 также приводит к активации NF- κ B TRIF-зависимым способом. С-конец TRIF взаимодействует

с RIP1 (receptor-interacting protein 1). Альтернативным образом TRIF также может активировать NF- κ B, напрямую взаимодействуя с TRAF6. TRAF6 в дальнейшем активирует TAK1-комплекс, который участвует в активации NF- κ B и MAP-киназы [Jiang, 2004]. Сигналы TLR7 и TLR8 также передаются через адапторы MyD88 и TRAF6. Затем происходит активация IRAK1–4 (interleukin-1 receptor-associated kinases), индуцируется фосфорилирование IRF3/7 и активация NF- κ B [Muroi, 2008].

RIG-I-подобные рецепторы включают в себя три известных члена: RIG-I, MDA5 и LGP2. Все эти три сенсора активируются нуклеиновыми кислотами и экспрессируются в цитозоле большинства клеток, хотя результаты современных исследований свидетельствуют о существенной гетерогенности RIG-I и MDA5-экспрессии в различных типах DC [Luber, 2010]. MDA5 распределены в цитозоле, в то время как RIG-I кооперируется с F-актином и таким образом ассоциирован с цитоскелетом [Mukherjee, 2009]. Подробнее всего охарактеризованы RIG-I и MDA5. Оба этих белка являются RNA-хеликазами с АТФ-азной активностью и содержат два N-концевых каспаз-связывающих домена (CARDs). Репрессорный домен (RD) представлен на С-концах обоих сенсоров, этот мотив инактивирует CARDs [Kato, 2006; Loo, 2008]. Связывание с лигандом приводит к повышению АТФ-азной активности, что, в свою очередь, ведет к конформационным изменениям, освобождающим CARDs от RD-опосредованной супрессии, и запускает сигнальный каскад. И для RIG-I, и для MDA5 CARDs взаимодействует с адаптерной молекулой, которая расположена на внешней митохондриальной мембране (позже идентифицирована на пероксисомах [Dixit, 2010] и имеет немало синонимов: MAVS (mitochondrial antiviral signaling protein) [Seth, 2005], VISA (вирус-индуцированный сигнальный адаптер) [Xu, 2005], Cardif (CARD-адаптер-индуцирующий IFN β) [Meylan, 2005] и IPS-1 (IFN β -промотор-стимулятор-1) [Kawai, 2005]). CARD,

связавшись с MAVS, запускает сигнальный комплекс, который индуцирует транскрипцию IFN- β , а также генов, которые регулируются IRF3 (включая I IFN) и NF- κ B. MAVS необходим для взаимодействия с TRAF3 или TBK1/IKK ϵ -комплексом, которые активируют IRF3/7, индуцируя синтез I IFN [Takeuchi, 2009; Yan, 2012].

Антивирусный вклад RIG-I и MDA5 отличается в зависимости от инфицирующего вируса [Kato, 2006]. RIG-I распознает и dsRNA, и ssRNA с 5'-трифосфатом [Hornung, 2006; Pichlmair, 2006]. Во время своего жизненного цикла большинство RNA-вирусов образуют большое количество dsRNA и ssRNA-молекул. Эти вирусы активируют RIG-I; важность этого сенсора можно продемонстрировать тем фактом, что в его отсутствие нарушен или отсутствует врожденный ответ на некоторые RNA-вирусы [Loo, 2008]. RNA, которые не содержат 5'-трифосфат, не стимулируют RIG-I, и, таким образом, mRNA-клетки хозяина и mRNA большинства DNA-вирусов не активируют RIG-I. Было показано также, что RIG-I не участвует в распознавании эндогенной RNA, поскольку собственные RNA имеют N1–2'-O-метиллированную модификацию [Schuberth-Wagner, 2015]. RNA пикорнавирусов, 5'-конец которой несет модифицированный белок (вирусный геном-связанный протеин), действует как праймер для репликации RNA и позволяет вирусу избегать распознавания с участием RIG-I. Мыши, лишенные RIG-I, не демонстрируют повышенной чувствительности к пикорнавирусной инфекции [Kato, 2006]. RIG-I-белок деградирует в клетках, инфицированных самыми разнообразными пикорнавирусами [Barral, 2009], но биологическое значение этого феномена непонятно, поскольку RIG-I не вносит существенного вклада в формирование врожденного иммунного ответа на эти агенты. Как было сказано ранее, RIG-I связан с цитоскелетом, и нарушение цитоскелета приводит к внутриклеточному перераспределению RIG-I и индукции I IFN сигнальных путей

[Mukherjee, 2009]. Авторы предполагают, что многие инфекции приводят к повреждению цитоскелета. Высказывается гипотеза, что целостность цитоскелета сама по себе может выступать как ранний, RIG-I-опосредованный, сенсор инфекции. PV и CVB3 вызывают массивную реорганизацию цитоскелета [Coyne, 2007; Ju, 2007], но ни один из этих вирусов не приводит к RIG-I-опосредованной активации. Этот очевидный парадокс ждет своего разрешения.

Эволюционно MDA5 возник как альтернативный цитозольный сенсор, который позволяет в инфицированной пикорнавирусами клетке индуцировать быстрый врожденный ответ. MDA5 активируется вирусом энцефаломиокардита (EMCV) [Kato, 2006; Gitlin, 2006], реовирусами [Loo, 2008] и некоторыми флавивирусами [Loo, 2008; Fredericksen, 2006; Fredericksen, 2008]. Естественный лиганд для MDA5 остается неидентифицированным, скорее всего, это длинные dsRNA (>1–2 kb длиной [Kato, 2008]). Однако можно ожидать, что длинные dsRNA могут присутствовать в большинстве RNA вирус-инфицированных клеток. Возникает очевидный вопрос: почему MDA5 активируются относительно небольшим количеством RNA вирусов? В ранних исследованиях было показано, что парамиксовирусы не активируют этот сенсор, но последние наблюдения опровергли это утверждение как *in vitro* [Yount, 2008], так и *in vivo* [Gitlin, 2010]: норовирус распознается MDA5 [McCartney, 2008]; вирус кори активирует и RIG-I, и MDA5 [Ikegame, 2010]. Таким образом, число вирусов, которые распознаются MDA5, растет, а некоторые вирусы активируют оба сенсора. Две публикации описывают эффекты *in vivo* MDA5 при CVB3-инфекции [Wang, 2010; Huhn, 2010]. Авторы пришли к разным заключениям, касающимся по крайней мере двух основных критериев: продукции I IFN и вирусных титров. Одна группа сообщила о значимом снижении I IFN продукции CVB3-инфицированными MDA5-knockout-мышами по сравнению с диким типом, но неожиданно снижение этого

ключевого антивирусного эффектора не сопровождалось значительным увеличением титров CVB3 у MDA5-knockout-животных [Wang, 2010]. Напротив, вторая группа не получила значимых отличий в I IFN, но титры вируса в некоторых тканях MDA5-knockout-мышей были заметно (по меньшей мере на 5 logs) выше, чем у дикого типа мышей на третий день постинфекции [Huhn, 2010]. Примечательно, что эти различия нивелировались спустя 24 часа, когда титр вируса у диких мышей достиг того же уровня, что наблюдался в тканях животных MDA5-knockout [Huhn, 2010]. Таким образом, MDA5 играет важнейшую роль в регулировании титров CVB на ранних этапах инфекции; этот эффект является транзиторным, обеспечивая только отсрочку образования следующего поколения вирусов, и этот краткосрочный эффект обеспечивается I IFN. Можно предположить, что ранний и непосредственный контроль CVB3 основан на MDA5/MAVS-сигнальном пути с участием пероксисом и митохондрий; этот путь не зависит от I IFN-сигналинга в других моделях вирусных инфекций [Dixit, 2010]. MDA5-опосредованное ограничение вирусной репликации, хотя и кратковременное, играет важнейшую роль в CVB3-патогенезе. В обоих отчетах MDA5-knockout-мыши демонстрируют более выраженный некроз поджелудочной железы и печени. MDA5, как и RIG-I, деградируют в PV-инфицированных клетках HeLa, демонстрируя один из механизмов, с помощью которого EV могут парализовать врожденный иммунный ответ [Barral, 2007]. Однако выраженный эффект дефицита MDA5 во время CVB3-инфекции свидетельствует о том, что деградация MDA5 хоть и происходит в CVB-инфицированных клетках, но не полностью.

Проведены исследования, подтверждающие, что MDA5 является важнейшим цитоплазматическим сенсором CVB3, EV71 и PV [Feng, 2014; Kuo, 2013; Wang, 2010]. dsRNA этих вирусов приводит к активации MDA5 и индукции синтеза IFN- β [Feng, 2012]. Повышенная экспрессия MDA5 и RIG-I также

приводит к увеличению EV71 RNA-индуцируемой продукции I IFN [Kuo, 2013]. Полученные результаты свидетельствуют, что MDA5 и RIG-I участвуют в распознавании EV71, однако необходимы дополнительные исследования с использованием knockout-мышей для дальнейшей расшифровки роли MDA5 и RIG-I в физиологических условиях.

У LGP2 нет CARD, и результаты нескольких исследований свидетельствуют о том, что LGP2 могут подавлять RIG-I-сигналинг и, возможно, сигнальные пути с участием MDA5 [Saito, 2007; Komuro, 2006; Rothenfusser, 2005; Venkataraman, 2007]. Изучение фенотипа LGP2-knockout-мышей проводили Venkataraman et al. и Satoh et al. Одна мышьяная линия продемонстрировала выраженный ответ на поли I:C и повышенную резистентность к вирусу везикулярного стоматита (VSV). Это позволило авторам сделать вывод о том, что LGP2 может выступать как негативный регулятор I IFN-ответа, который индуцирован RIG-I и/или MDA5 [Venkataraman, 2007]. Напротив, Satoh et al. показали, что фибробласты LGP2-knockout-мышей нормально отвечали на поли I:C, но имели сниженный ответ на VSV, свидетельствуя о том, что LGP2 может вызывать положительный эффект [Satoh, 2010]. Были и общие результаты: обе мышьяные линии продемонстрировали повышенную восприимчивость к пикорнавирусам. Таким образом, LGP2 может в некоторых условиях вносить позитивный вклад во врожденный противовирусный ответ.

NLR также представляют собой внутриклеточные PRR, которые инициируют врожденный иммунный ответ [Wilkins, 2010]. Определенные NLR могут составлять крупные структуры, называемые инфламмосомами (inflammasomes) [Lamkanfi, 2014; Schroder, 2010]. Наиболее хорошо изученным является NLRP3. NLRP3 не экспрессируется конститутивно в клетках, его экспрессия активируется с участием TLR. Далее NLRP3 взаимодействует с ASC (apoptosis-associated speck-like protein containing a CARD adaptor protein). ASC, в свою очередь,

задействует прокаспазу-1 и индуцирует ауторасщепление каспазы-1. Активация каспазы-1 имеет решающее значение для про-IL-1 β и про-IL-18-процессинга и индукции секреции IL-1 β и IL-18, участвующих в развитии воспаления [Keller, 2008; Lu, 2014]. Доказано, что CVB3-индуцированная активация инфламماسом является NLRP3-зависимой. NLRP3-инфламмосомы играют решающую роль в патогенезе CVB3-инфекции [Wang, 2014].

Таким образом, сигнальные пути с участием TLR и RLR задействованы в распознавании EV. Однако разные виды EV стимулируют врожденный иммунный ответ хозяина, активируя различные молекулы PRR.

3.2. Механизмы, позволяющие энтеровирусам избегать врожденного иммунного ответа хозяина (по материалам обзора Lei et al., 2016)

Поскольку врожденный иммунный ответ играет решающую роль в контроле EV-инфекции, для поддержания репликации многие виды EV используют различные стратегии, чтобы избежать интерферонового ответа на ранних стадиях заболевания (табл. 3.1).

Таблица 3.1

Мишени для белков EV,
блокирующие врожденный иммунный ответ

Мишени	Вирусные белки	Механизм действия
RIG-1	EA71 3C	Взаимоингибирующее действие RIG-1 и MAVS Расщепление Расщепление Расщепление Расщепление
	CVB3 3C	
	PV 3C	
	Rhinovirus 16 3C	
	Echovirus 3C	

Окончание табл. 3.1

Мишени	Вирусные белки	Механизм действия
MDA-5	EV71-индуцируемые каспазы PV-индуцируемые каспазы	Расщепление Деградация протеасом- и каспаз-зависимым образом Расщепление Расщепление Расщепление
	EV71 2A CVB3 2A PV 2A	
MAVS	EV71 2A PV 2A PV-индуцируемые каспазы CVB3 3C CVB3 2A HRV1a 2A, 3C и каспазы	Расщепление Расщепление Расщепление Расщепление Расщепление
	EV71 3C EV68 3C CVB3 3C	
TRIF	EV71 3C EV68 3C CVB3 3C	Расщепление Расщепление Расщепление
IRF7	EV71 3C EV68 3C	Расщепление Расщепление
IRF9	EV71 3C	Расщепление
IKK β	EV71 2C	Ингибирование фосфорилирования
P65	EV71 2C	Ингибирование взаимодействия P65 и P50
TAK1-комплекс	EV71 3C	Расщепление TAK1/TAB1/TAB2/TAB3
IFANR1	EV71 2A	Снижение активности
G3BP1	CVB3 3C	Расщепление
miR-146a	EV71	Повышение активности miR-146a и ингибирование IRAK1- и TRAF6-опосредованной продукции IFN- β
miR-526a	EV71 3C	Снижение активности

Так, например, PV-инфекция приводит к остановке синтеза RNA и белков хозяина. С этой целью происходит расщепление eIF4G (eukaryotic translation initiation factor 4G) и p220 субъединицы cap-связывающего белкового комплекса с участием

PV 2A-протеиназы [Krausslich, 1987; Lloyd, 1988]. Данные результаты свидетельствуют о том, что PV 2A имеет отношение к ограничению синтеза IFN. Однако расщепление eIF4G лишь частично приостанавливает трансляцию, что говорит о существовании дополнительных механизмов, участвующих в EV-индуцируемом ингибировании трансляции [Joachims, 1999; Kerekatte, 1999; Курумсу-Мартинез, 2004]. Сходным образом EV 3C-осуществляемое расщепление PABP (poly(A)-binding protein) играет важную роль в прекращении белковой трансляции [Clark, 1993].

Инфицирование PV также может приводить к ингибированию RNA полимеразы II-опосредованной транскрипции путем расщепления с участием 3C-протеиназы TBP (TATA-binding protein) и CREB (cyclic AMP-responsive element-containing protein) [Weidman, 2001; Yalamanchili, 1996]. Данные результаты показывают, что EV ингибируют сигнальные пути, приводящие к синтезу IFN, блокируя транскрипцию mRNA хозяина и трансляцию белковых молекул с участием 2A- и 3C-протеиназ.

3.2.1. Интерференция с PRR-распознаванием

Поскольку EV распознаются PRR, расположенными как на клеточной поверхности, так и в цитозоле, EV используют различные механизмы, чтобы блокировать данные рецепторы (рис. 3.1). Например, при инфицировании PV происходит деградация MDA5 протеасом- и каспаз-зависимым способом. Однако деградация рецептора не зависит от действия 2A- и 3C-протеаз, которые участвуют в ингибировании синтеза IFN при EV-инфекции [Barral, 2007]. Напротив, CVB3, EV71 и PV 2A-протеиназы напрямую расщепляют MDA5, хотя этот факт не согласуется с ранее опубликованным сообщением о том, что EV71 индуцирует расщепление MDA5 каспаз-за-

висимым способом [Feng, 2014; Kuo, 2013; Wang, 2010]. Помимо MDA5, RIG-I представляет собой еще одну мишень для CVB3 и EV71. При инфицировании CVB3 и EV71 происходит расщепление RIG-I с участием 3C-протеиназы [Feng, 2014; Barral, 2009]. Таким образом, MDA5 и RIG-I — основные мишени для блокирования EV-механизмов врожденного иммунитета.

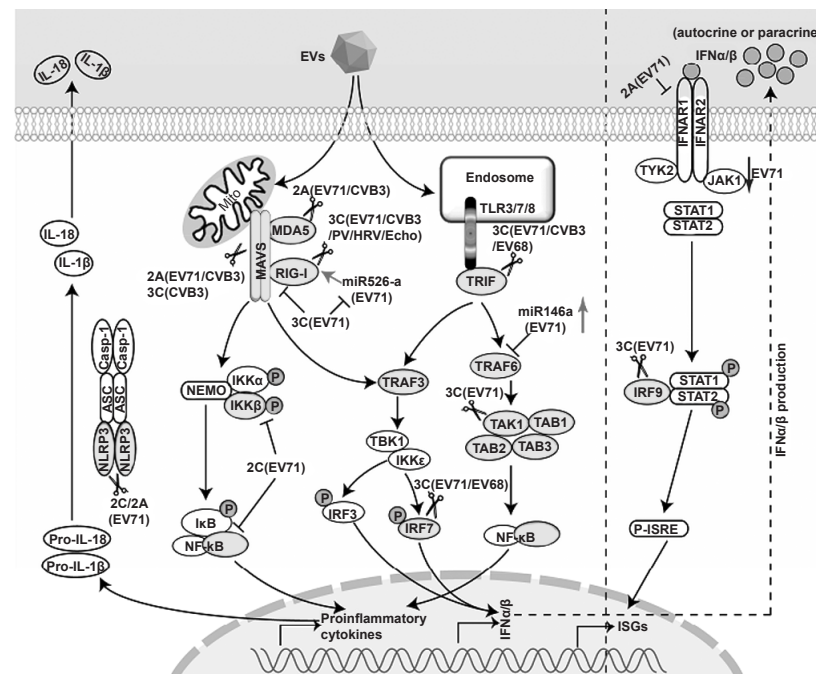


Рис. 3.1. Механизмы блокирования PRR-опосредованных сигнальных путей EV

EV нарушают функционирование PRR-сигнальных путей с помощью неструктурных белков 2A, 2C и 3C; 2A расщепляет MAVS и MDA5 и приводит к деградации IFNAR1; 2C ингибирует активацию NF-κB; 3C разрушает RIG-I и MAVS-комплекс и расщепляет TRIF, IRF9, IRF7, TAK1 и TAB1/2/3; 3C также ингибирует miR-526a-опосредованную активацию RIG-I; EV71 также может подавлять врожденный иммунитет, индуцируя экспрессию miR-146a. Источник: Lei et al., 2016

Однако 3С ингибирует RIG-I-опосредованную продукцию I IFN, препятствуя образованию функционального комплекса между цитозольным RIG-I и молекулой MAVS, а не путем расщепления непосредственно RIG-I [Lei, 2010]. После инфицирования EV71 активируются NLRP3-инфламмосомы [Wang, 2015]. В свою очередь, EV71 ингибирует активацию NLRP3-инфламмосом путем прямого расщепления NLRP3 с участием 2А и 3С-протеиназ [Wang, 2015].

3.2.2. Интерференция с адаптерными и эффекторными молекулами сигнальных путей врожденного иммунитета

Помимо интерференции с PRR энтеровирусы используют и другие механизмы, блокируя адаптерные молекулы сигнальных путей, например такие, как MAVS [Wang, 2013; Feng, 2014; Wang, 2010; Rebsamen, 2008]. EV71 2А-протеиназа непосредственно расщепляет MAVS в трех различных участках. Ни один из расщепленных фрагментов не может активировать продукцию I IFN [Wang, 2013]. Инфекция CVB3 приводит к расщеплению MAVS, также как и EV71 [Wang, 2013; Feng, 2014]. Но фрагменты, образующиеся после расщепления MAVS, индуцируемого PV 2А-протеиназой, отличаются от образующихся при CVB3 и EV71-инфекции [Feng, 2014]. CVB3 3С-протеиназа способна расщеплять MAVS *in vitro*, в то время как EV71 3С не расщепляет MAVS [Lei, 2010; Wang, 2013; Mukherjee, 2011]. Кроме того, HRV 2А, 3С и HRV-индуцируемые каспазы имеют непосредственное отношение к HRV-индуцируемому расщеплению MAVS [Drahoš, 2009]. Полученные данные подтверждают, что расщепление MAVS является универсальным феноменом, иллюстрирующим механизмы блокирования EV продукции I IFN.

TLR3-TRIF-сигнальный путь имеет важнейшее значение для противовирусного иммунного ответа при PV-

инфекции у мышей [Abe, 2012]. С этим согласуются и данные о том, что активация TLR3 в макрофагах обеспечивает противовирусную защиту взрослых мышей при EV71 и CVA16-инфекции [Yang, 2015; Zhu, 2015], поэтому EV71 ингибирует TLR3-опосредованный иммунный ответ с помощью 3С-протеиназы, которая взаимодействует с TRIF и индуцирует его расщепление [Lei, 2011]. Кроме того, 3С-протеиназа CVB3 также может расщеплять TRIF на различные фрагменты в N- и C-концевых отделах и встраиваться с TRIF в сигнальный комплекс в цитоплазме, препятствуя образованию I IFN [Mukherjee, 2011]. Наконец, полученные данные свидетельствуют о том, что 3С EV68 также способна расщеплять TRIF, но на другие фрагменты, отличные от тех, что наблюдаются при EV71 и CVB3-инфекции [Xiang, 2014]. TRIF является основной мишенью для EV, которую они используют для блокирования TLR3-сигнального пути.

После активации адаптерных молекул сигнал передается по цепочке к эффекторным мишеням, включая комплексы IκB и TBK1/IKKε, которые активирует NF-κB и IRF3/7 соответственно. После активации NF-κB и IRF3/7 транслоцируются в ядро и индуцируют продукцию I IFN [Takeuchi, 2009; Yan, 2012]. EV71 и EV68 снижают экспрессию IRF7 [Lei, 2013; Xiang, 2015]. EV71 3С-протеиназа непосредственно расщепляет IRF7. Два образовавшихся фрагмента не способны активировать синтез I IFN [Lei, 2013]. Lee et al. [Lee, 2012] было продемонстрировано, что EV71 3С-протеиназа ингибирует синтез I IFN у мышей. Вирусы также могут ингибировать врожденный противовирусный иммунный ответ, блокируя NF-κB-сигнальный путь, чрезвычайно важный для активации продукции IFN или провоспалительных цитокинов. В частности, EV71 3С-протеиназа ингибирует активацию NF-κB путем расщепления TAK1 (transforming growth factor-β-activated kinase 1) комплекса [Lei, 2014]. Кроме того, 2А- и 3С-протеиназы, неструктурный белок 2С также уча-

ствуют в блокировании EV71 врожденного иммунного ответа [Zheng, 2011, Du, 2015]. Показано, что 2С взаимодействует с ИКК β , который ингибирует активацию NF- κ B, индуцируемую TNF- α [Zheng, 2011]. Опубликованы также сообщения, что 2С-белок EV71, EV68 и PV ингибирует активацию NF- κ B посредством p65. Это взаимодействие подавляет образование гетеродимера p65 и p50, наиболее распространенного члена семейства NF- κ B [Du, 2015]. Таким образом, EV могут блокировать врожденный иммунный ответ хозяина с помощью 2С-неструктурного белка. Кроме того, 2А- и 3С-протеиназы также являются важнейшими факторами, с помощью которых EV ингибируют синтез IFN и ускользают от иммунного ответа хозяина.

Как уже упоминалось ранее, EV71 ингибирует продукцию IFN на различных стадиях. Кроме того, EV71 может блокировать активацию рецепторов к I IFN (IFNAR1). От активности этого рецептора зависит функционирование ISGs (interferon-stimulated genes) посредством Jak (Janus activated kinase), а также трансдукторов сигнала и активаторов транскрипции (STAT). Lu et al. [Lu J., 2012] показали, что 2А-протеиназа EV71 приводит к деградации IFNAR1, который в свою очередь ингибирует IFN-опосредованное фосфорилирование STAT1, STAT2, Jak1 и Tyk2 (tyrosine kinase 2). Однако Liu et al. [Liu Y., 2014] показали, что EV71 ингибирует JAK1-STAT сигнальный путь, подавляя JAK1, а не IFNAR1. IRF9, компонент гетерокомплекса ISGF3 (IFN-stimulated gene factor 3), — еще одна мишень EV71 для блокирования JAK1-STAT сигнального пути [Hung, 2011].

Врожденный иммунный ответ имеет важнейшее значение для осуществления контроля за ЭВИ, особенно на ранних стадиях ее развития. Доказательством этого является повышенная заболеваемость и смертность от EV у мышей, дефицитных по I IFN-или IFNAR [Ida-Hosonuma M., 2005; Liu M. L., 2005]. Кроме того, терапия антителами, нейтрализующими I IFN, приводит

к увеличению вирусной нагрузки и EV71-индуцированной летальности, в то время как введение I IFN повышает уровень выживаемости мышей [Liu M. L., 2005].

3.3. MicroRNA и энтеровирусные инфекции (по материалам обзора Ho et al., 2016)

MicroRNA (miRNA) представляют собой класс небольших не кодирующих белок RNA, которые функционируют путем интерференции с эндогенными RNA [Hammond, 2006; Bartel, 2009; Ha, 2014; Park, 2014; Hammond, 2015; Lin, 2015]. На сегодняшний день идентифицировано более 1000 клеточных miRNA, которые опосредуют посттранскрипционную регуляцию более чем 30% генов [Bartel, 2009; Lewis, 2005]. Биогенез miRNA инициируется RNA полимеразой II или III, вновь синтезируемые первичные транскрипты miRNA (pri-miRNA) расщепляются RNase III и Drosha (Class 2 ribonuclease III) на pre-miRNA (предшественники miRNA). Предшественники miRNA транспортируются в цитоплазму и проходят процессинг с участием Dicer (рибонуклеаза из семейства РНКазы III) с формированием miRNA-miRNA дуплетов [Cullen, 2004; Borchert, 2006; Hutvagner, 2001; Bernstein, 2001; Grishok, 2001]. Дуплеты miRNA-miRNA функционируют как зрелые miRNA. Зрелые miRNA, ассоциированные с Аро-белком, формируют RNA-индуцированные молчащие комплексы (RISC), с помощью которых miRNA ингибируют специфические mRNA, связываясь с комплементарными сайтами, в основном расположенными в mRNA 3'-UTR [Hammond, 2000; Wu, 2006; Standart, 2007]. Иногда 5'-UTR и протеин-кодирующие регионы могут выступать потенциальными miRNA-связывающими сайтами [Duursma, 2008; Rigoutsos, 2009; Lee,

2009; Grey, 2010]. Благодаря посттранскрипционной регуляции miRNA осуществляют широкий спектр биологических функций, включая регуляцию клеточной пролиферации, дифференцировки, апоптоза и взаимодействия между организмом хозяина и патогеном [Croce, 2009; Umbach, 2009; Winter, 2009]. Отдельные DNA-содержащие вирусы кодируют вирусные miRNA, которые регулируют экспрессию вирусных или клеточных генов и вносят вклад в патогенез вызываемых вирусами заболеваний [Umbach, 2008; Pfeffer, 2004; Gottwein, 2007]. Кроме того, некоторые клеточные miRNA принимают участие в жизненном цикле вирусов, включая репликацию вирусного генома и распространение вируса в организме хозяина [Triboulet, 2007; Jopling, 2005].

3.3.1. Клеточные miRNA хозяина и патогенез энтеровирусных инфекций

MiRNA хозяина участвуют во врожденном противовирусном иммунном ответе при энтеровирусных инфекциях

Уникальные микробные молекулы, такие как двуцепочечная RNA и цитидин-фосфат-гуанозин-DNA (CpG DNA), распознаются PRR, что приводит к индукции синтеза I IFN [Klotman, 2006; Wilson, 2013; Kawai, 2006; Thompson, 2011]. Однако EV71-инфекция не приводит к эффективной продукции I IFN [Ichimura, 1985; Liu, 2005]. Но et al. [Но, 2014] продемонстрировали, что EV71 индуцирует образование miR-146a, которая, в свою очередь, ингибирует два критических компонента интерфероновой сигнализации: IRAK1 (Interleukin-1 receptor-associated kinase) и TRAF6 (TNF receptor-associated factor 6). Нейтрализация вирус-индуцируемой miR-146a восстанавливает экспрессию IRAK1 и TRAF6, приводит к уве-

личению продукции IFN, ингибирует размножение вируса и в конечном итоге приводит к повышению выживаемости вирус-инфицированных новорожденных мышей. Таким образом, одной из профилактических и терапевтических стратегий может быть манипулирование экспрессией miRNA. Интерферон-регулируемые факторы могут повышать экспрессию miR-526a, мишенью для которой, в свою очередь, является CYLD, хорошо изученная деубиквитиназа, что приводит к усилению K63-связанной RIG-I убиквитинации и запускает IRF3 и NF-κB-сигналинг. EV71 3C-протеаза расщепляет IRF7 (Interferon regulatory factor 7) хозяина, чтобы заблокировать IRF-опосредованную miR-526a up-регуляцию и приводит к супрессии RIG-I-зависимой продукции IFN [Xu, 2014]. Помимо EV71, CVB3-инфекция также приводит к изменению профиля экспрессии miRNA хозяина [Zhang, 2013]. Zhang et al. идентифицировали пять miRNA в сердце CVB3-инфицированных мышей, которые участвуют в TLR-опосредованном сигналинге, RIG-I-опосредованном сигналинге, NLR-опосредованном сигналинге, цитокин-цитокин-рецепторном взаимодействии, MAPK (Mitogen-activated protein kinase)-сигналинге, JAK-STAT (Janus kinase-Signal Transducer and Activator of Transcription)-сигналинге и цитотоксических реакциях, осуществляемых натуральными киллерами. В свою очередь, организм хозяина также манипулирует экспрессией miRNA для индукции иммунного ответа [Bao, 2014; Li, 2013]. В организме CVB3-инфицированных особей формируется иммунный ответ, который может приводить к повреждению кардиомиоцитов, фиброзу, миокардиту и сердечной недостаточности [Bao, 2014; Shauer, 2013]. Экспрессия miR-155 и miR-148a повышена в биоптатах сердечной ткани при вирусных миокардитах, индуцированных CVB3-инфекцией. RelA, важнейший компонент в NF-κ-сигналинге, является мишенью для двух отдельных miRNA [Bao, 2014]. Регуляторная роль miR-155 была

продемонстрирована у мышей с миокардитами. Мишенью для miR-155 является RelA, который функционирует как негативный регулятор иммунной системы хозяина, снижает цитокинную экспрессию в кардиомиоцитах, что предохраняет от иммунопатологических реакций и повышает выживаемость CVB3-инфицированных мышей [Bao, 2014]. Кроме того, miRNA-548 оказывает ингибиторный эффект на продукцию I IFN, воздействуя на 3'-UTR [Li, 2013]. Li et al. [Li, 2013] продемонстрировали, что экспрессия miR-548 снижается при инфицировании вирусом везикулярного стоматита и EV71, что сопровождается формированием противовирусного иммунного ответа хозяина.

MiRNA и энтеровирус-индуцированный апоптоз

Роль miRNA при EV-индуцированном апоптозе описана в ряде публикаций [Chang, 2015; He, 2013; Du, 2015]. Продемонстрировано снижение экспрессии miR-21 при CVB3-индуцированных миокардитах, в то время как эктопическая экспрессия miR-21 значительно повышена, что сопровождается снижением уровня смертности от миокардитов [He, 2013]. PDCD4 (Programmed Cell Death 4) является важнейшей мишенью miR-21 и участвует в апоптозе некоторых типов клеток [Cheng, 2009; Lu, 2012; Frankel, 2008]. Предложены молекулярные механизмы этого феномена: miR-21 выступает как анти-апоптотическая молекула, поражающая PDCD4 [He, 2013]. С другой стороны, EV71-инфекция повышает экспрессию let-7b в клетках SH-SY5Y, мишенью которого является циклин D1 (CCND1), ключевой элемент клеточного цикла и апоптоза [Du, 2015]. Ингибирование let-7b с использованием 21-O-Methyl-RNA восстанавливает экспрессию CCND1, приводит к редукции фазы G2/M и восстанавливает пролиферацию SH-SY5Y. Таким образом, пролиферация и апоптоз EV71-инфицированных клеток частично

регулируется с участием miRNA-опосредованных механизмов [Du, 2015]. Chang et al. продемонстрировали, что экспрессия miR-146a повышается, в то время как miR-370 — снижается при EV71-инфекции [Chang, 2015]. SOS1 (Son Of Sevenless Homolog 1) и GADD45b (Growth arrest and DNA-damage-inducible b) являются мишенями miR-146a и miR-370 соответственно. Исследования показали, что молчащие miR-146a восстанавливают экспрессию SOS1 и частично ослабляют EV71-индуцированный апоптоз, в то время как эктопическая экспрессия miR-370 снижает EV71-индуцированную экспрессию GADD45b. Кроме того, коэкспрессия miR-146a и miR-370 демонстрирует аддитивный эффект, приводящий к снижению уровня EV71-индуцируемого апоптоза [Chang, 2015]. Результаты исследований свидетельствуют о том, что miRNA хозяина играют решающую роль в EV-индуцируемом апоптозе, регулируя его ключевые элементы, и могут быть использованы как кандидаты для создания терапевтических препаратов, снижающих уровень EV-индуцируемого апоптоза [Chang, 2015; He, 2013; Du, 2015].

Участие miRNA в регуляции сигнальных путей в клетке

Так же как и вирусные протеазы, miRNA являются ключевыми регуляторами сигнальных путей в инфицированных клетках хозяина [Ye, 2014; Chang, 2015; Ho, 2014; He, 2013; Du, 2015; Corsten, 2012; Lam, 2015; Xu H. F., 2012; Xu H. F., 2014; Xu L. J., 2014; Ye, 2013; Zhang, 2014]. Результаты исследования CVB-индуцируемого кардиоваскулярного патогенеза продемонстрировали решающую роль нарушения межклеточных взаимодействий. Некоторые компоненты мембранных структур являются мишенями вирус-регулируемых miRNA. CVB3-индуцируемая miR-21 приводит к деградации десмина, прикрепляясь к деубиквитинирующему ферменту YOD1 [Ye, 2014]. GPJ1 (Gap junction protein alpha 1) является мишенью для CVB3-индуцируемой

miR-1 [Xu H. F., 2012]. MiR-21 также активирует MAPK (mitogen-activated protein kinase)-сигнальный каскад, повреждая SPRY1 (sprouty homolog 1), естественный ингибитор FGF (fibroblast growth factor)-сигнального пути [Xu H. F., 2014]. Более того, CBV3-инфекция приводит к активации ERK1/2, что сопровождается повышением экспрессии miR-126. MiR-126 выступает в качестве связывающего звена между ERK1/2 и WNT/ β -катенин сигнальными каскадами и способствует распространению CBV3 [Ye, 2013]. Представляет интерес также роль miRNA при неврологических заболеваниях, связанных с EV71-инфекцией [Chang, 2007; Huang, 1999] (табл. 3.2.).

Таблица 3.2

Механизмы microRNA (miRNA) регуляции при энтеровирусных инфекциях

miRNA	Мишень	Энтеровирус	Экспрессия	Процесс	Модель
miR-146a	IRAK1	EV71	Повышение	Иммунный ответ	In vitro & In vivo
miR-146a	TRAF6	EV71	Повышение	Иммунный ответ	In vitro & In vivo
miR-526a	CYLD	EV71	Снижение	Иммунный ответ	In vitro
miR-155	RelA	CVB3 & VMC	Повышение	Иммунный ответ	In vitro & In vivo
miR-148a	RelA	CVB3 & VMC	Повышение	Иммунный ответ	In vitro
miR-548	IFN λ 1	EV71 & HBV	Снижение	Иммунный ответ	In vitro
miR-21	PDCD4	CVB3	Снижение	Апоптоз	In vitro & In vivo
Let-7b	CCND1	EV71	Повышение	Клеточный цикл и пролиферация	In vitro
miR-146a	SOS1	EV71	Повышение	Апоптоз	In vitro

Окончание табл. 3.1

miRNA	Мишень	Энтеровирус	Экспрессия	Процесс	Модель
miR-370	GADD45b	EV71	Снижение	Апоптоз	In vitro
miR-21	YOD1	CVB3	Повышение	Межклеточное взаимодействие	In vitro
miR-1	GPJ1	CVB3	Повышение	Межклеточное взаимодействие	In vitro
miR-21	SPRY1	VMC & DCM	Эктопическая	MAPK-сигналинг	In vitro
miR-126	LRP	CVB3	Повышение	Wnt/ β -катенин-сигналинг	In vitro
miR-126	WRCH1	CVB3	Повышение	Wnt/ β -катенин-сигналинг	In vitro
miR-1246	DLG3	EV71	Повышение	Клеточная гибель	In vitro
miR-27a	EGFR	EV71	Снижение	EGFR-сигналинг	In vitro
miR-141	eIF4E	EV71	Повышение	Синтез белка	In vitro
miR-296-5p	EV71 VP1	EV71	Повышение	Репликация вируса	In vitro
miR-296-5p	EV71 VP3	EV71	Повышение	Репликация вируса	In vitro
miR-23b	EV71 VP1	EV71	Снижение	Репликация вируса	In vitro
miR-342-5p	CVB3 2C	NA	Эктопическая	Репликация вируса	In vitro
miR-373	EV71 5'-UTR	NA	Эктопическая	Репликация вируса	In vitro
miR-542-5p	EV71 5'-UTR	NA	Эктопическая	Репликация вируса	In vitro
miR-10a*	CVB3 3D	NA	Эктопическая	Репликация вируса	In vitro

EV71-индуцированная miR-1246 напрямую повышает экспрессию DLG3 (disc-large homolog 3), представителя семейства мембран-ассоциированных гуанилаткиназ, связанных с формированием ментальных расстройств [Xu L. J., 2014]. MiR-1246 может принимать участие в патогенезе EV71-ассоциированных неврологических нарушений путем взаимодействия с DLG3. Кроме прямого повреждения компонентов нервной ткани, воспалительная реакция — одна из важнейших причин иммунопатологических реакций, лежащих в основе патогенеза менингитов и энцефалитов [Piralla, 2014; Britton, 2014]. Повышение уровня COX-2 (Cyclooxygenase-2) и простагландина E2 (PGE2), индуцируемое ЭВИ, приводит к увеличению репликации EV71 и образованию активных форм кислорода (ROS) [Tung, 2011 (a); Tung, 2011 (б); Tung, 2010]. Среди основных регуляторных медиаторов EGFR-сигналинг играет решающую роль в репликации EV71 в клетках человеческой нейробластомы, SK-N-SH-клетках [Tung, 2011 (a); Tung, 2011 (б)]. Zhang et al. обнаружили, что экспрессия miR-27a снижается при EV71-инфекции, мишенью для нее является именно EGFR [Zhang, 2014]. Дальнейшие исследования показали, что эктопическая экспрессия miR-27a подавляет экспрессию EGFR и снижает фосфорилирование Akt и ERK. Наконец, блокирование сигнального каскада EGFR приводит к снижению репликации EV71 [Zhang, 2014].

MiRNA и энтеровирус-индуцированное снижение белкового синтеза

Как и вирусные протеазы, miRNA участвуют в регуляции белкового синтеза в клетке хозяина [Ye, 2014; Chang, 2015; Но, 2011; He, 2013; Du, 2015; Corsten, 2012; Lam, 2015; Xu H. F., 2012; Xu H. F., 2014; Xu L. J., 2014; Ye, 2013; Zhang, 2014; Hemida, 2013]. Роль miRNA в вирус-индуцируемом переключении трансляции является предметом активного изучения.

Но et al. обнаружили, что клеточная miR-141, образующаяся при EV71-инфекции, поражает eIF4E, иницирующий фактор сар-зависимой трансляции, что приводит к снижению уровня синтеза белка, в то время как молчащие miR-141 всегда восстанавливают белковый синтез в клетке хозяина и блокируют распространение вируса [Но, 2011]. Вирус-индуцируемая miR-141 переключает сар-зависимую трансляцию на сар-независимую.

3.3.2. MiRNA хозяина и жизненный цикл энтеровирусов

Мишенью некоторых клеточных miRNA является вирусный геном, что приводит к супрессии вирусной репликации [Zheng, 2013; Tong, 2013; Wen, 2013; Wang, 2012; Yang, 2014]. Индукция miRNA-296-5p была описана в EV71-инфицированных клетках человеческой рабдомиосаркомы (RD) и SK-N-SH-клетках. MiRNA-296-5p может прикрепляться к VP1 и VP3-областям вирусного генома [Zheng, 2013]. Между тем супрессия эндогенной miR-296-5p способствует репликации EV71 [Zheng, 2013]. Wang et al. [Wang L., 2012] и Wen et al. [Wen, 2013] обнаружили сходный феномен при CVB3 и EV71-инфекции соответственно [Wen, 2013; Wang L., 2012]. Экспрессия miR-23b снижается при EV71-инфекции, восстановление ее уровня приводит к ингибированию продукции EV71. MiR-23b подавляет репликацию EV71, прикрепляясь к EV71 VP1 белку [Wen, 2013]. Wang et al. продемонстрировали, что miR-342-5p может значимо ингибировать репликацию CVB3 путем прикрепления к 2C-кодирующему региону вирусного генома [Wang L., 2012]. И miR-373, и miR-542-5p повреждает 5'UTR EV71 RNA, что приводит к снижению распространения вируса в клетках RD [Yang Z., 2014].

Клеточные miRNA участвуют в регуляции жизненного цикла вирусов, препятствуя или способствуя вирусной репликации путем прикрепления к отдельным участкам вирусного

генома. Экспрессия miR-296-5p повышается, а экспрессия miR-23b снижается при EV71-инфекции. EV71-индуцируемая miR-296-5p может повреждать вирусные VP1 и VP3-регионы, что приводит к снижению вирусной репликации. Снижение экспрессии miR-23b при EV71-инфекции предохраняет EV71-вирусную RNA от miRNA-индуцируемого ингибирования. Помимо эндогенных miRNA, эктопическое введение miRNA также может приводить к нарушению вирусной репликации.

Эктопическая экспрессия miR-342-5p, miR-373 или miR-542-5p подавляет репликацию EV, в то время как miR-10* способствует репликации CVB3. MiR-342-5p повреждает CVB3 2С-кодирующий регион и ингибирует репликацию CVB3. Напротив, miR-10a* действует как молекула RNA, усиливая репликацию CVB3, повреждая вирусный 3D-кодирующий регион. MiR-373 и miR-542-5p снижают распространение EV71, повреждая 5'-UTR EV71 RNA.

3.4. Роль аутофагии при энтеровирусной инфекции (по материалам обзора Lai et al., 2016)

Макроаутофагия (аутофагия) представляет собой гомеостатический процесс [Singh, 2011], который является компонентом врожденного иммунного ответа на вирусную инфекцию [Mizushima, 2008]. Однако некоторые вирусы обладают механизмами, позволяющими противодействовать аутофагии либо путем экспрессии белков, интерферирующих с ней, либо привлекая уникальные механизмы, позволяющие использовать кислую среду лизосомальных компартментов для успешной репликации, распространения и выживания [Richards, 2012; Ding, 2014].

Аутофагия начинается с появления фагофор, способных к удлинению и самослиянию с образованием двухмембранных везикул, известных как аутофагосомы [Mizushima, 2007]. Аутофагия-родственные гены (ATG) участвуют в образовании фагофор и аутофагосом. Аналогом дрожжевых ATG8 у млекопитающих является LC3 (microtubule-associated protein light chain 3), один из наиболее изученных маркеров, присутствующих в мембране аутофагосом. LC3 локализуется в цитоплазме при низкой аутофагической активности в форме LC3-I. В результате активации аутофагии LC3-I конъюгирует с PE (phosphatidylethanolamine) с образованием LC3-PE, также известного как LC3-II. Аутофагосомы сливаются с эндосомами с образованием амфисом с закислением внутренней среды. Далее амфисомы сливаются с лизосомами и формируют аутолизосомы. Содержимое просвета аутолизосом деградирует в результате действия лизосомальных протеаз (рис. 3.2).

На поздних стадиях аутофагии происходит слияние аутофагосомы и лизосом. На сегодняшний день известен точный механизм, лежащий в основе этого слияния, включающий присоединение комплекса SNARE (soluble N-ethylmaleimide-sensitive factor attachment protein receptor), состоящего из STX17, SNAP29 и VAMP8 (рис. 3.3) [Itakura, 2012]. Объединение аутофагосом и лизосом происходит путем слияния с участием HOPS (protein sorting tethering complex), содержащего такие белки, как VPS33A (vacuolar protein sorting 33A) и VPS16. Эти факторы взаимодействуют с STX17 [Jiang, 2014]. Слияние аутофагосом и лизосом регулируется адаптерным белком SNAP29 путем двусторонних взаимодействий с SNAP29-STX17, расположенным на мембране аутофагосом, и SNAP29-VAMP8, расположенным на лизосомальной мембране (рис. 3.3) [Itakura, 2012].

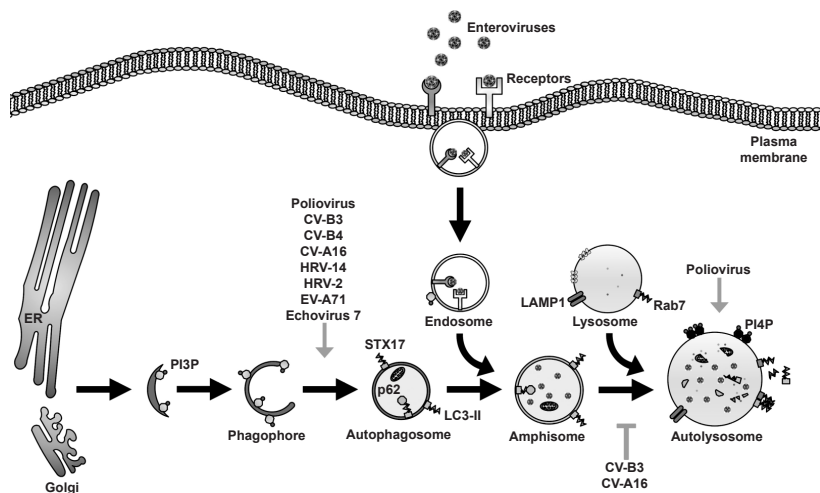


Рис. 3.2. Аутофагия и энтеровирусы

Аутофагия начинается с образования фагофор либо из ЭПР, аппарата Гольджи, митохондрий или плазматической мембраны, либо синтезируемых *de novo*. Образовавшаяся аутофагосома вступает в процесс созревания в результате слияния с эндосомами и образования кислых амфисом. При инфицировании EV71, HRV-A2, HRV-B14 и т. д. интернализация комплекса вирус-рецептор в эндосомах и закисление эндосом способствуют «разделению» вируса [Yamaooshi, 2013; Bayer, 1998; Grunert, 1997; O'Donnell, 2008]. Напротив, полиовирус, ECHO1 и CVA9 не нуждаются в эндосомальной ацидификации для проникновения вируса в клетку [Perez, 1993; Marjomaki, 2015]. На поздних этапах аутофагии амфисомы сливаются с лизосомами, что приводит к образованию аутолизосом, в которых и происходит деградация содержимого. LC3-II и p62 — важнейшие маркеры аутофагических мембран — также деградируют в аутолизосомах под действием лизосомальных протеаз. EV могут как активировать, так и ингибировать различные этапы процесса аутофагии, используя их для сборки, созревания и выхода из клетки хозяина. Источник: Lai et al., 2016.

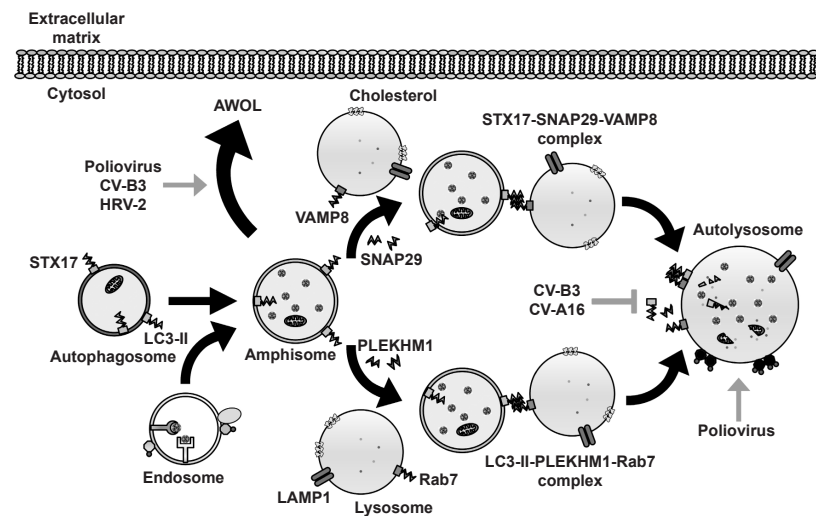


Рис. 3.3. Влияние энтеровирусов на созревание аутофагосомы

Слияние аутофагосом с лизосомами происходит либо с участием комплекса SNARE, содержащего STX17, SNAP29 и VAMP8, либо опосредуется LC3-II, PLEKHM1 и Rab7. Захватенные цитоплазматические органеллы деградируют вместе с внутренней мембраной аутолизосомы в ходе процесса, носящего название аутофагический поток. В результате слияния аутофагосом и эндосом формируются амфисомы, несущие вирусные частицы, которые могут сливаться с плазматической мембраной, приводя к секреции EV в результате AWOL (autophagosome-mediated exit without lysis). EV могут регулировать процесс созревания аутофагосом для создания благоприятных условий для собственной сборки, созревания и выхода из клетки хозяина. Подробно описано также участие Rab7 в слиянии аутофагосом-лизосом. Rab7 — небольшая GTPаза, принадлежащая к суперсемейству Ras-подобных GTPаз [Pankiv, 2010]. В другом исследовании показано участие PLEKHM1 (Pleckstrin homology domain containing protein family member 1) в качестве адаптерного белка, который связывает LC3 с HOPS и Rab7, что обуславливает созревание аутофагосом [McEwan, 2015]. Источник: Lai et al., 2016.

3.4.1. Энтеровирусы и аутофагия

Полиовирусы

На поздних этапах инфекции PV индуцируют образование двухмембранных везикул, морфология которых напоминает морфологию аутофагосом. Для их изучения использовался комплекс GFP-LC3. Эти исследования позволили продемонстрировать общую локализацию точечных сигналов GFP-LC3 с вирусным белком 3A, являющимся компонентом комплекса репликации вирусной RNA и двуцепочечной RNA PV [Richards, 2014; Jackson, 2005]. Также была отмечена совместная локализация точечных сигналов GFP-LC3-экспрессирующих клеток и лизосом-ассоциированного мембранного белка 1 (LAMP1), свидетельствующая, что PV индуцируют созревание аутофагосом в ходе инфекции [Jackson, 2005]. Для созревания аутофагосом в клетках HEK (human embryonic kidney) 293T необходима экспрессия и 2BC, и 3A-вирусных белков [Jackson, 2005].

Внутриклеточное размножение PV в H1-HeLa усиливалось в присутствии индукторов аутофагии, таких как рапамицин и тамоксифен (рис. 3.4, A). Напротив, обработка клеток ингибиторами аутофагии (3-methyladenine (3-MA) и RNAi (RNA interference)), направленных на LC3 и ATG12, приводила к снижению образования PV (рис. 3.4, B) [Jackson, 2005]. Ацидификация внутриклеточных везикул способствует созреванию инфекционных частиц PV [Richards, 2012]. Распространение PV от клетки к клетке сопряжено обычно с клеточным лизисом. Так как PV являются патогенами с фекально-оральным путем передачи, продолжительное высвобождение вирусных частиц в просвет кишечника без повреждения клеток дает вирусу определенные преимущества. PV может распространяться от клетки к клетке путем аутофагия-зависимого процесса, известного как AWOL (autophagosome-mediated exit without lysis) (рис. 3.3).

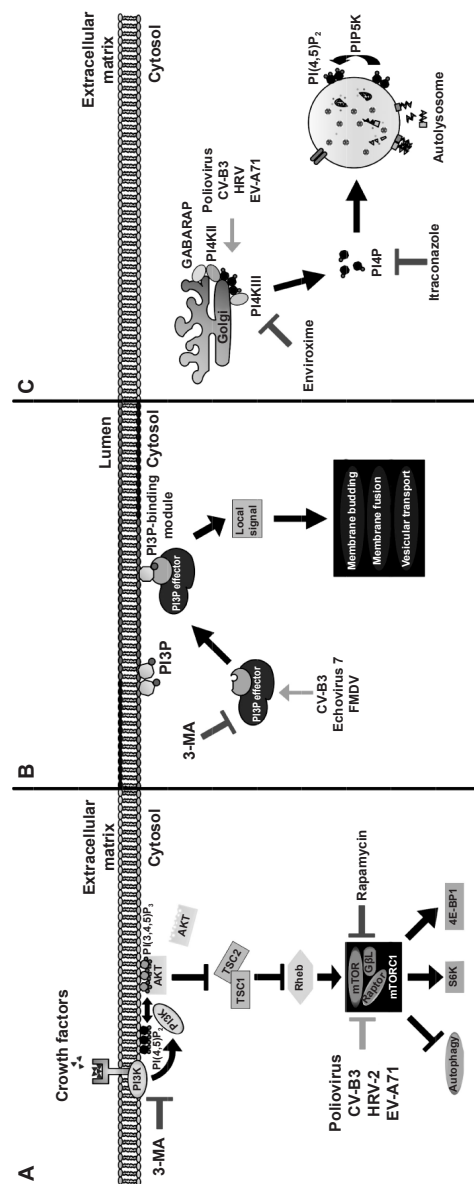


Рис. 3.4. Варианты взаимодействия липидов и энтеровирусной репликации:

A — EV регулируют передачу сигнала от липидов. Класс I PI3Ks и другие сигнальные молекулы PI (3,4,5)P₃ регулируют mTORC1-сигналы. Фосфорилирование PI (4,5)P₂ с участием PI3K активирует сигнальный путь АКТ. АКТ блокирует ингибирующие эффекты TSC1-TSC2 комплекса на Rheb. Активированный Rheb, в свою очередь, запускает сигнальный путь mTORC1. Рапамицин ингибирует mTORC1-комплекс и усиливает образование EV, что также оказывает ингибирующий эффект на внешних 3-MA ингибиторы класс I PI3K и последующую передачу сигнала. В — Полиовирусы используют PI3P-эффекторы на внешних мембранах аутофагосом. PI3P-липиды на мембранах аутофагосом реагируют с PI3P-эффекторами, генерируя сигналы, направленные на связывание мембран, их слияние и везикулярный транспорт аутофагосом; 3-MA ингибирует связывание PI3P-эффекторов с PI3P-липидами. С — EV используют PI4KIII с участием локализованных в аппарате Гольджи факторов хозяина, приводя к повышению экспрессии PI4P-липидов. Эти липиды широко распространены на мембранах аутолизосом и превращаются в PI (4,5)P₂ под действием Р1Р5К в ходе аутофагической перестройки лизосом. Энвироксим (Enviroxime) ингибирует PI4KIII, а итраконазол ингибирует холестерол и перенос PI4P. Источник: Lai et al., 2016

Удаление LC3 с участием iRNA снижает возможности нелимитического распространения PV, в то время как индукция аутофагии лоперамидом и никардипином приводит к быстрому распространению PV в культуре тканей и у мышей [Bird, 2014]. В других исследованиях было показано, что комплексы частиц EV были связаны с фосфатидилсерин (PS)-липид-обогащенными аутофагосомоподобными везикулами, которые нелимитическим путем высвобождались из инфицированных клеток. Интересно, что эти частицы, несущие PV, обладали большим инфекционным потенциалом, нежели отдельные свободные вирусные частицы [Chen Y. H., 2015]. Таким образом, PV используют аутофагию для своего размножения и распространения.

Вирусы Коксаки

CVB3 также использует аутофагию для усиления своей репликации на поверхности аутофагосом [Wong, 2008]. Образование двухмембранных везикул в инфицированных CVB3 HeLa и HEK293T клетках наблюдали с помощью трансмиссионной электронной микроскопии. Дальнейшие исследования показали, что CVB3 блокирует полную (завершенную) аутофагию, так как уровень p62 при инфекции не изменяется. Ингибирование LAMP2 (лизосомального трансмембранного белка, участвующего в слиянии аутофагосома-лизосома) приводило к повышению и экспрессии VP1 и репликации вируса [Kemball, 2010]. Результаты, полученные *in vivo* у CVB3-инфицированных GFP-LC3 трансгенных мышей, также были схожи с полученными *in vitro* [Wong, 2008; Kemball, 2010]. Кроме того, крупные аутофагия-связанные структуры, несущие RNA-полимеразоподобные компоненты, называемые мегафагосомами, формируются у мышей, инфицированных CVB3 [Kemball, 2010]. Таким образом, CVB3 используют аутофа-

гию для усиления вирусной репликации. Кроме того, показано, что белок BPIFB3 (bactericidal/permeability-increasing protein fold-containing family B, member 3) увеличивает репликацию CVB3, регулируя аутофагию [Delorme-Axford, 2014]. Рецептор, взаимодействующий с протеинкиназой-3 (RIP3), усиливает аутофагию в ходе CVB3-инфекции, которая, в свою очередь, приводит к увеличению репликации вируса [Harris, 2015]. В другом исследовании продемонстрировано, что CVB3 реплицируется и аутофагия-зависимым, и аутофагия-независимым путем *in vivo* [Alirezaei, 2015]. Используя три CVB3-рекомбинанта, содержащих интактные или мутантные аутофагия-родственные гены (proLC3, proLC3G120A, ATG4BC74A), было показано, что инфекция CVB3 демонстрирует чрезвычайную гибкость в отношении использования внутриклеточных мембран. ProLC3 накапливал в большом количестве LC3-II и эффективно реплицировался, используя аутофагию. ProLC3G120A-белок не прикреплялся к PE для формирования LC3-II, но связывал ЭПР-резидентный белок SEL1L и использовал для репликации мембраны неаутофагического происхождения. ATG4BC74A-белок ингибировал накопление LC3-II, не приводил к изменению LC3-I и индуцировал увеличение содержания незрелых фагофор, которые имели решающее значение для репликации вируса [Alirezaei, 2015]. Одно из последних исследований демонстрирует, что CVB3-инфекция сопровождается существенным ремоделированием внутриклеточных мембран и вирус высвобождается из клеток в составе многочисленных экстраклеточных микровезикул (EMV). Определение LC3-II в EMV подтвердило, что аутофагия, так же как и AWOL, играет важную роль в экстраклеточном высвобождении вируса в составе микровезикул (рис. 3.3) [Robinson, 2014]. Кроме того, было показано, что зрелые частицы CVB3 могут обнаруживаться в составе PS-липид-обогащенных аутофагосомоподобных органелл и высвобождаются из клеток нелимитическим

путем [Chen Y. H., 2015]. CVB4-инфекция первичных нейронов крысы приводит к индукции аутофагии и накоплению LC3-II, в то время как 3-МА нарушает и образование аутофагосом, и вирусную репликацию (рис. 3.4, B) [Yoon, 2008]. CVA16 индуцирует раннюю аутофагию с участием 2С и 3С, которые приводят к накоплению аутофагосом, но не слиянию аутофагосом с лизосомами. 2С-индуцированное образование аутофагосом зависит от активации IRGM (immunity-related GTPase family M protein) [Shi, 2015]. Однако роль аутофагии при CVA16-инфекции остается непонятной.

Энтеровирус А71

Активация аутофагии происходит также в ходе инфекции EV71 и приводит к усилению вирусной репликации [Huang S. C., 2009]. В вирус-инфицированных клетках наблюдается накопление LC3-II. Инфицирование мышей EV-A71 приводит к образованию двухмембранных везикул в нейронах церебрального отдела спинного мозга [Huang S. C., 2009].

ЕСНО7

Ключевые компоненты аутофагии задействуются ЕСНО7 для проникновения в клетку хозяина путем эндоцитоза. Выключение генов, имеющих отношение к аутофагии, таких как Beclin1, ATG12, ATG14, ATG16 и LC3, так же как и обработка 3-МА, останавливает ЕСНО7-инфекцию (рис. 3.4, B) [Kim, 2014].

Таким образом, исследования PV, CV, риновирусов, EV71 и ЕСНО7 продемонстрировали, что использование механизмов аутофагии является ключевым элементом ЭВИ.

3.4.2. Регуляция механизмов аутофагии энтеровирусами

Ранние и поздние фазы аутофагии могут регулироваться липидами и липид-метаболизирующими ферментами. Во-первых, они регулируют сигнальный каскад, запускаемый рапамицином (mTOR), в результате чего происходит регуляция процессов аутофагии. В этом механизме участвуют PI3K I класса (phosphoinositide 3-kinases) и ее продукты, PI(3,4,5)P3 (phosphatidylinositol-3,4,5-triphosphate). Во-вторых, липиды прикрепляются к цитоплазматическим белкам, приводя к изменению их структуры, накоплению и везикулярному транспорту, например, изменение PI3P может приводить к образованию и созреванию аутофагосом. В-третьих, связывание PI4P липидами на аутофагосома-лизосомальных мембранах также активирует процессы аутофагии [Simonsen, 2009; Burman, 2010].

Регуляция сигнального пути PI3K I класса, PI(3,4,5)P3 и mTOR

Равновесие между ростом и голоданием клетки регулируется особой протеинкиназой — mTOR. В присутствии питательных веществ и сигналов роста mTOR активируется, в то время как аутофагия связана с ингибированием mTOR (рис. 3.4, A). Инактивация mTOR в период голодания замедляет рост и анаболические процессы, стимулирует аутофагия-опосредованную деградацию белков и органелл в качестве механизма повторной утилизации [Zoncu, 2011]. Высвобождение ростовых факторов, таких как инсулин, стимулирует PI3K I класса-зависимый сигнальный каскад и активирует mTOR комплекс 1 (mTORC1, Raptor-bound), который, в свою очередь, подавляет аутофагию. PI(3,4,5)P3 образуется из PI(4,5)P2 с участием PI3Ks I класса в ответ на инсулин [Zoncu, 2011; Verge, 2010]. PDK1 (phosphoinositide-dependent kinase 1) и белки АКТ также участвуют в сигнальном потоке от PI(3,4,5)P3 [Zoncu, 2011; Toker, 2012]. Рапамицин, потенциальный активатор аутофагии,

нарушает активацию mTORC1, но не mTORC2 (Rictor-bound) и, следовательно, ингибирует фосфорилирование S6 киназы 1 (S6K1) и eIF4E-связывающий белка 1 (4E-BP1) [Zoncu, 2011; Verge, 2010]. Как уже упоминалось, обработка рапамицином приводит к увеличению титров PV, CVB3 и EV71 [Jackson, 2005; Wong, 2008; Klein, 2011; Huang S. C., 2009].

Контроль сигнального пути PI3K III класса и PI3P

Фосфорилирование PI в 3'-инозитольного кольца — важнейший этап PI3P-синтеза с участием PI3K III класса или VPS34 [Toker, 2012]. Добавление PI3P-липида приводит к активации аутофагии (рис. 3.4, B). Существует два независимых комплекса VPS34 (PI3P-эффекторов), каждый из которых выполняет уникальные функции [Vanhaesebroeck, 2010]. В клетках дрожжей комплекс, состоящий из VPS34, Beclin1, VPS15 и ATG14, локализованный на преаутофагосомальных структурах, инициирует аутофагию. Второй вариант комплекса, включающий VPS34, сходен с первым, за исключением того, что ATG14 в нем заменен на белок UV-резистентного гена (UVRAG), который прикрепляется к Beclin1 на эндосомах и функционирует в качестве активатора аутофагии в клетках млекопитающих. Кроме того, UVRAG взаимодействует с класс C VPS-комплексом, приводя к слиянию аутофагосом и лизосом. 3-MA неспецифически ингибирует PI3Ks III и I класса [Petiot, 2000; Obara, 2006; Obara, 2011].

Временное удаление Beclin1 и VPS34 нарушает экспрессию VP1-белка и приводит к снижению титров CVB3 [Wong, 2008]. ECHO7 также нуждается в Beclin1 и других компонентах аутофагии для обеспечения высвобождения вирусного генома в цитоплазму с участием эндосомальной системы [Kim, 2014]. FMDV, представитель семейства Picornaviridae, близкий EV, нуждается во взаимодействии Beclin1 с его 2C-неструктурным белком для обеспечения выживания ви-

руса (рис. 3.4, B). Это взаимодействие имеет решающее значение для предотвращения Beclin1-опосредованного слияния аутофагосом и лизосом. Однако повышенная экспрессия Beclin1 в FMDV-инфицированных клетках отменяет этот эффект [Gladue, 2012].

Роль PI4P в аутофагии

Дрожжевая PI4-киназа (PI4K) PIK1 (и ее гомолог у позвоночных — PI4KIII β) образуют PI4P с участием ATG26 [Yamashita, 2006]. В нормальных физиологических условиях PIK1 и ее продукт PI4P опосредуют выход секреторных везикул из trans-Гольджи (рис. 3.4, C). В условиях аутофагии перенос ATG-белков из аппарата Гольджи в фагофоры обусловлен действием PIK1 [Wang, 2012]. PI4P5-киназа (PIP5K) обеспечивает конверсию PI4P в PI(4,5)P2, что имеет большое значение для аутофагической реорганизации лизосом и привлечения клатрина в аутолизосомы [Yu, 2010; Rong, 2012]. PI4P и PI(4,5)P2 локализуются в различных органеллах: PI4P расположен на аутолизосомальной мембране, в то время как PI(4,5)P2 находится на аутолизосомальных канальцах и почках [Rong, 2012]. GABARAP (γ -aminobutyric acid receptor-associated protein), аутофагия-связанный белок, приводит к накоплению PI4KIII α для образования PI4P, что обуславливает слияние аутофагосом и лизосом. PI4P-GABARAP-комплекс расположен в перинуклеарной области аппарата Гольджи, так же как и на мембране аутофагосом [Wang H., 2015]. В жизненном цикле EV (PV, CVB3 и EV71) PI4KIII β и ее производное — PI4P участвуют как медиаторы, играющие решающую роль в поддержании репликации вируса (рис. 3.4, C) [Van der Schaar, 2012]. PI4KIII β — эффектор ARF1, который катализирует синтез PI4P-липидов в мембранах аппарата Гольджи [Van der Schaar, 2012]. Во время ЭВИ PI4KIII β оказывается в местах репликации, обогащенных PI4P-липидами

[Hsu, 2010]. Независимо от 3D-полимеразы 2BC полиовирусов взаимодействуют напрямую с PI4KIII β . Продукция PI4P с участием PI4KIII β и накопление неэстерифицированного холестерина обусловлено действием 2BC, но ингибируется 3A и 3AB-вирусными белками [Arita, 2014]. Таким образом, связь между PI4P-липидами и аутофагией играет важную роль в жизненном цикле EV.

3.4.3. Перспективы исследования аутофагии при энтеровирусных инфекциях

Представляет интерес, как аутофагическая деградация специфических мишеней, включая липофагию (липидов), гликофагию (гликогена), митофагию (митохондрии), пероксофагию (пероксисомы), агрефагию (белковые агрегаты) и ER-фагию (эндоплазматический ретикулум), используется EV [Lennemann, 2015]. Кроме того, идентификация специфических регуляторов созревания аутофагосом, включая комплексы STX17-SNAP29-VAMP8 и LC3-II-PLEKHM1-Rab7, возможно, позволит разобраться глубже в механизмах и роли аутофагии в патогенезе ЭВИ.

Нелитическое распространение пикорнавирусов с участием экзосом впервые было продемонстрировано на примере вируса гепатита А как механизм, позволяющий избежать нейтрализующего действия антител [Feng Z., 2013]. Позднее было показано, что распространение EV также может происходить нелитическим путем с участием аутофагосомоподобных везикул [Chen, 2015]. Везикулярный транспорт обеспечивает возможность квазивидам EV инфицировать чувствительные клетки [Altan-Bonnet, 2015], что позволяет по-новому взглянуть на проблему тропизма EV. Отсутствие лицензированных противовирусных препаратов связано с высоким мутационным потенциалом EV, обеспечивающим им

формирование резистентности. Понимание роли аутофагии при ЭВИ расширяет границы противовирусной терапии. Однако вмешательство в механизмы аутофагии может приводить к серьезным побочным эффектам в связи с важностью этого процесса в регуляции клеточного гомеостаза. Таким образом, воздействие на вирусные белки, взаимодействующие с белками, участвующими в процессах аутофагии, может оказывать более селективное противовирусное действие [Rubinsztein, 2012]. Кроме того, липиды, образующиеся из PI3P и PI4P, обязательны для формирования мембранных везикул, участвующих в вирусной репликации. Лекарственные препараты, воздействующие на липидные сигнальные пути, тоже могут выступать в качестве потенциальных анти-энтеровирусных средств. К ним относятся энвироксим, специфический ингибитор PI4KIII β , и итраконазол, ингибитор OSBP, который ограничивает транспорт холестерина и PI4P (рис. 3.4, С) [Strating, 2015; Heinz, 1995]. Последние достижения компьютерного лекарственного моделирования позволили идентифицировать компоненты, мишенью которых является PI4KIII β -киназа, обладающие противовирусной активностью при HRV, PV, CV и EV71-инфекции [MacLeod, 2013]. Тем не менее не доказано, что возможные аутофагия-модифицирующие эффекты этих препаратов коррелируют с их противовирусным действием, что, безусловно, является предметом дальнейшего изучения. Таким образом, связь между процессами аутофагии и ЭВИ предполагает наличие разнообразных и сложных механизмов, как положительно, так и негативно влияющих на жизнеспособность вируса или хозяина. Понимание их позволит по-новому взглянуть на взаимодействие EV и иммунологических реакций, направленных на их элиминацию, а также может служить потенциальным источником перспективных подходов к терапии ЭВИ.

3.5. Участие естественных киллеров в противовирусном иммунитете при энтеровирусной инфекции

Естественные киллеры принимают участие в клиренсе EV и патогенезе вызываемых ими заболеваний. Эти клетки, являясь одними из участников врожденного иммунного ответа, играют ключевую роль в предотвращении развития панкреатита при моделировании заболевания у мышей [Vella, 1992]. NK-клетки мигрируют в CVB-инфицированное сердце, этот процесс зависит от хемокина CXCL10 [Yuan, 2009], причем миграция естественных киллеров опережает появление Т-лимфоцитов [Seko, 1991]. NK-клетки — наиболее распространенный компонент воспалительного инфильтрата [Henke, 1995] и, по всей видимости, участвуют в подавлении CVB3-репликации и развития вирус-индуцированного миокардита [Godeny, 1986; Godeny, 1987]. Подобно Т-лимфоцитам NK-клетки могут ингибировать вирусную инфекцию по крайней мере с участием двух основных механизмов: во-первых, прямым цитотоксическим действием (чаще перфорин-опосредованным); во-вторых, путем секреции противовирусных цитокинов, таких как IFN- γ . Прямой литический эффект естественных киллеров ингибируется МНС I класса, таким образом, NK-чувствительные мишени обычно характеризуются сниженной экспрессией этого типа молекул. Инфекции, вызываемые различными пикорнавирусами, включая CVB3, существенно снижают экспрессию МНС I на поверхности клеток [Cornell, 2006; Cornell, 2007], тем самым снижая ингибиторную активность CVB-инфицированных клеток, что объясняет важнейшую роль естественных киллеров, по крайней мере на мышинных моделях. Однако это утверждение может не соответствовать ситуации, наблюдаемой в человеческом организме.

Последние исследования CVB3-инфицированных человеческих клеток продемонстрировали, что, несмотря на значительное снижение экспрессии МНС I, чувствительность инфицированных клеток к NK-опосредованному лизису не повышается [Huhn, 2008]. Активное участие NK-лимфоцитов в противовирусном иммунном ответе при ЭВИ с серозным менингитом (СМ) у детей дошкольного возраста отмечено Хамановой Ю. Б. [Хаманова, 2013]. Низкий уровень NK-клеток описан Бацкалевич Н. А. у подростков с энтеровирусными менингитами [Бацкалевич, 2009].

Список цитируемой литературы

1. Abe Y., Fujii K., Nagata N., Takeuchi O., Akira S., Oshiumi H., Matsumoto M., Seya T., Koike S. The toll-like receptor 3-mediated antiviral response is important for protection against poliovirus infection in poliovirus receptor transgenic mice. *J. Virol.* 2012, 86, 185–194.
2. Abston E. D., Coronado M. J., Bucek A., Onyimba J. A., Brandt J. E., Frisancho J. A., Kim E., Bedja D., Sung Y. K., Radtke A. J. et al. TLR3 deficiency induces chronic inflammatory cardiomyopathy in resistant mice following coxsackievirusB3 infection: Role for IL-4. *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.* 2013, 304, R267–R277.
3. Alirezai M., Flynn C. T., Wood M. R., Harkins S., Whitton J. L. Coxsackievirus can exploit LC3 in both autophagy-dependent and-independent manners in vivo. *Autophagy.* 2015, 11.
4. Altan-Bonnet N., Chen Y. H. Intercellular transmission of viral populations with vesicles. *J. Virol.* 2015, 89, 12242–12244.
5. Arita M. Phosphatidylinositol-4 kinase III β and oxysterol-binding protein accumulate unesterified cholesterol on poliovirus-induced membrane structure. *Microbiol. Immunol.* 2014, 58, 239–256.
6. Bao J. L., Lin L. MiR-155 and miR-148a reduce cardiac injury by inhibiting NF- κ B pathway during acute viral myocarditis. *Eur. Rev. Med. Pharmacol. Sci.* 2014, 18, 2349–2356.

7. Barral P. M., Morrison J. M., Drahos J. et al. MDA-5 is cleaved in poliovirus-infected cells. *J. Virol.* 2007, 81, 3677–3684.
8. Barral P. M., Sarkar D., Fisher P. B., Racaniello V. R. RIG-I is cleaved during picornavirus infection. *Virology.* 2009, 391, 171–176.
9. Bartel D. P. MicroRNAs: Target recognition and regulatory functions. *Cell.* 2009, 136, 215–233.
10. Bayer N., Schober D., Prchla E., Murphy R. F., Blaas D., Fuchs R. Effect of baflomycin A1 and nocodazole on endocytic transport in HeLa cells: Implications for viral uncoating and infection. *J. Virol.* 1998, 72, 9645–9655.
11. Bernstein E., Caudy A. A., Hammond S. M., Hannon G. J. Role for a bidentate ribonuclease in the initiation step of RNA interference. *Nature.* 2001, 409, 363–366.
12. Bird S. W., Maynard N. D., Covert M. W., Kirkegaard K. Nonlytic viral spread enhanced by autophagy components. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2014, 111, 13081–13086.
13. Borchert G. M., Lanier W., Davidson B. L. RNA polymerase III transcribes human microRNAs. *Nat. Struct. Mol. Biol.* 2006, 13, 1097–1101.
14. Britton P. N., Khandaker G., Booy R., Jones C. A. The causes and consequences of childhood encephalitis in Asia. *Infect. Disord. Drug Targets.* 2014, 14.
15. Burman C., Ktistakis N. T. Regulation of autophagy by phosphatidylinositol 3-phosphate. *FEBS Lett.* 2010, 584, 1302–1312.
16. Chang L. Y., Huang L. M., Gau S. S., Wu Y. Y., Hsia S. H., Fan T. Y., Lin K. L., Huang Y. C., Lu C. Y., Lin T. Y. Neurodevelopment and cognition in children after enterovirus 71 infection. *N. Engl. J. Med.* 2007, 356, 1226–1234.
17. Chang Y. L., Ho B. C., Sher S., Yu S. L., Yang P. C. miR-146a and miR-370 coordinate enterovirus 71-induced Cell. apoptosis through targeting SOS1 and GADD45. *Cell. Microbiol.* 2015, 17, 802–818.
18. Chen Y. H., Du W., Hagemeijer M. C., Takvorian P. M., Pau C., Cali A., Brantner C. A., Stempinski E. S., Connelly P. S., Ma H. C. et al. Phosphatidylserine vesicles enable efficient en bloc transmission of enteroviruses. *Cell.* 2015, 160, 619–630.
19. Cheng Y., Liu X., Zhang S., Lin Y., Yang J., Zhang C. MicroRNA-21 protects against the H₂O₂-induced injury on cardiac myocytes via its target gene PDCD4. *J. Mol. Cell. Cardiol.* 2009, 47, 5–14.
20. Clark M. E., Lieberman P. M., Berk A. J., Dasgupta A. Direct cleavage of human TATA-binding protein by poliovirus protease 3C in vivo and in vitro. *Mol. Cell. Biol.* 1993, 13, 1232–1237.
21. Cornell C. T., Kiosses W. B., Harkins S., Whitton J. L. Coxsackievirus B3 proteins directionally complement each other to downregulate surface MHC class I. *J. Virol.* 2007, 81, 6785–6797.
22. Cornell C. T., Kiosses W. B., Harkins S., Whitton J. L. Inhibition of protein trafficking by coxsackievirus B3: multiple viral proteins target a single organelle. *J. Virol.* 2006, 80, 6637–6647.
23. Corsten M. F., Papageorgiou A., Verhesen W., Carai P., Lindow M., Obad S., Summer G., Coort S. L., Hazebroek M., van Leeuwen R. et al. MicroRNA profiling identifies microRNA-155 as an adverse mediator of cardiac injury and dysfunction during acute viral myocarditis. *Circ. Res.* 2012, 111, 415–425.
24. Coyne C. B., Kim K. S., Bergelson J. M. Poliovirus entry into human brain microvascular cells requires receptor-induced activation of SHP-2. *EMBO J.* 2007, 26, 4016–4028.
25. Coyne C. B., Bozym R., Morosky S. A., Hanna S. L., Mukherjee A., Tudor M., Kim K. S., Cherry S. Comparative RNAi screening reveals host factors involved in enterovirus infection of polarized endothelial monolayers. *Cell. Host Microbe.* 2011, 9, 70–82.
26. Croce C. M. Causes and consequences of microRNA dysregulation in cancer. *Nat. Rev. Genet.* 2009, 10, 704–714.
27. Delorme-Axford E., Morosky S., Bomberger J., Stolz D. B., Jackson W. T., Coyne C. B. BPIFB3 regulates autophagy and coxsackievirus B replication through a noncanonical pathway independent of the core initiation machinery. *MBio.* 2014, 5.
28. Devasthanam A. S. Mechanisms underlying the inhibition of interferon signaling by viruses. *Virulence.* 2014, 5, 270–277.
29. Ding B., Zhang G., Yang X., Zhang S., Chen L., Yan Q., Xu M., Banerjee A. K., Chen M. Phosphoprotein of human parainfluenza virus type 3 blocks autophagosome-lysosome fusion to increase virus production. *Cell. Host Microbe.* 2014, 15, 564–577.
30. Dixit E., Boulant S., Zhang Y. et al. Peroxisomes are signaling platforms for antiviral innate immunity. *Cell.* 2010, 141, 668–681.
31. Drahos J., Racaniello V. R. Cleavage of IPS-1 in cells infected with human rhinovirus. *J. Virol.* 2009, 83, 11581–11587.

32. Du H., Yin P., Yang X., Zhang L., Jin Q., Zhu G. Enterovirus 71 2C Protein Inhibits NF- κ B Activation by Binding to RelA (p65). *Sci. Rep.* 2015, 5.
33. Du X., Wang H., Xu F., Huang Y., Liu Z., Liu T. Enterovirus 71 induces apoptosis of SHSY5Y human neuroblastoma cells through stimulation of endogenous microRNA let-7b expression. *Mol. Med. Rep.* 2015, 12, 953–959.
34. Duursma A. M., Kedde M., Schrier M., le Sage C., Agami R. miR-148 targets human DNMT3b protein coding region. *RNA* 2008, 14, 872–877.
35. Fairweather D., Yusung S., Frisancho S. et al. IL-12 receptor β 1 and Toll-like receptor 4 increase IL-1 β - and IL-18-associated myocarditis and coxsackievirus replication. *J. Immunol.* 2003, 170, 4731–4737.
36. Feng Q., Hato S. V., Langereis M. A., Zoll J., Virgen-Slane R., Peisley A., Hur S., Semler B. L., van Rij R. P., van Kuppeveld F. J. MDA5 detects the double-stranded RNA replicative form in picornavirus-infected cells. *Cell. Rep.* 2012, 2, 1187–1196.
37. Feng Q., Langereis M. A., Lork M., Nguyen M., Hato S. V., Lanke K., Emdad L., Bhoopathi P., Fisher P. B., Lloyd R. E. et al. Enterovirus 2Apro targets MDA5 and MAVS in infected cells. *J. Virol.* 2014, 88, 3369–3378.
38. Feng Z., Hensley L., McKnight K. L., Hu F., Madden V., Ping L., Jeong S. H., Walker C., Lanford R. E., Lemon S. M. A pathogenic picornavirus acquires an envelope by hijacking cellular membranes. *Nature.* 2013, 496, 367–371.
39. Frankel L. B., Christoffersen N. R., Jacobsen A., Lindow M., Krogh A., Lund A. H. Programmed Cell. death 4 (PDCD4) is an important functional target of the microRNA miR-21 in breast cancer cells. *J. Biol. Chem.* 2008, 283, 1026–1033.
40. Fredericksen B. L., Gale M. West Nile virus evades activation of interferon regulatory factor 3 through RIG-I-dependent and -independent pathways without antagonizing host defense signaling. *J. Virol.* 2006, 80, 2913–2923.
41. Fredericksen B. L., Keller B. C., Fornek J., Katze M. G., Gale M. Establishment and maintenance of the innate antiviral response to West Nile Virus involves both RIG-I and MDA5 signaling through IPS-1. *J. Virol.* 2008, 82, 609–616.
42. Frisancho-Kiss S., Davis S. E., Nyland J. F. et al. Cutting edge: cross-regulation by TLR4 and T Cell. Ig mucin-3 determines sex differences in inflammatory heart disease. *J. Immunol.* 2007, 178, 6710–6714.
43. Gitlin L., Barchet W., Gilfillan S. et al. Essential role of MDA-5 in type I IFN responses to poly riboinosinic: polyribocytidylic acid and encephalomyocarditis picornavirus. *Proc. Natl Acad. Sci. USA.* 2006, 103, 8459–8464.
44. Gitlin L., Benoit L., Song C. et al. Melanoma differentiation-associated gene 5 (MDA5) is involved in the innate immune response to Paramyxoviridae infection in vivo. *PLoS Path.* 2010, 6, E1000734.
45. Gladue D. P., O'Donnell V., Baker-Branstetter R., Holinka L. G., Pacheco J. M., Fernandez-Sainz I., Lu Z., Baxt B., Piccone M. E., Rodriguez L. et al. Foot-and-mouth disease virus non-structural protein 2C interacts with Beclin1, modulating virus replication. *J. Virol.* 2012, 86, 12080–12090.
46. Godeny E. K., Gauntt C. J. Involvement of natural killer cells in coxsackievirus B3-induced murine myocarditis. *J. Immunol.* 1986, 137, 1695–1702.
47. Godeny E. K., Gauntt C. J. Murine natural killer cells limit coxsackievirus B3 replication. *J. Immunol.* 1987, 139, 913–918.
48. Gottwein E., Mukherjee N., Sachse C., Frenzel C., Majoros W. H., Chi J. T., Braich, R., Manoharan M., Soutschek J., Ohler U. et al. A viral microRNA functions as an orthologue of cellular miR-155. *Nature.* 2007, 450, 1096–1099.
49. Grey F., Tirabassi R., Meyers H., Wu G., McWeeney S., Hook L., Nelson J. A. A viral microRNA down-regulates multiple Cell. cycle genes through mRNA 5' AUTRs. *PLoS Pathog.* 2010, 6, e1000967.
50. Grishok A., Pasquinelli A. E., Conte D., Li N., Parrish S., Ha I., Bailly D. L., Fire A., Ruvkun G., Mello C. C. Genes and mechanisms related to RNA interference regulate expression of the small temporal RNAs that control *C. elegans* developmental timing. *Cell.* 2001, 106, 23–34.
51. Grunert H. P., Wolf K. U., Langner K. D., Sawitzky D., Habermehl K. O., Zeichhardt H. Internalization of human rhinovirus 14 into HeLa and ICAM-1-transfected BHK cells. *Med. Microbiol. Immunol.* 1997, 186, 1–9.

52. Ha M., Kim V.N. Regulation of microRNA biogenesis. *Nat. Rev. Mol. Cell. Biol.* 2014, 15, 509–524.
53. Hammond S. M. An overview of microRNAs. *Adv. Drug Deliv. Rev.* 2015, 87, 3–14.
54. Hammond S. M. MicroRNAs as oncogenes. *Curr. Opin. Genet. Dev.* 2006, 16, 4–9.
55. Hammond S. M., Bernstein E., Beach D., Hannon G.J. An RNA-directed nuclease mediates post-transcriptional gene silencing in *Drosophila* cells. *Nature.* 2000, 404, 293–296.
56. Harris K. G., Morosky S.A., Drummond C. G., Patel M., Kim C., Stolz D. B., Bergelson J. M., Cherry S., Coyne C. B. RIP3 regulates autophagy and promotes coxsackievirus B3 infection of intestinal epithelial cells. *Cell. Host Microbe.* 2015, 18, 221–232.
57. He J., Yue Y., Dong C., Xiong S. MiR-21 confers resistance against CVB3-induced myocarditis by inhibiting PDCD4-mediated apoptosis. *Clin. Investig. Med. Med. Clin. Exp.* 2013, 36, E103–E111.
58. Heil F., Hemmi H., Hochrein H. et al. Species-specific recognition of single-stranded RNA via Toll-like receptor 7 and 8. *Science.* 2004, 303, 1526–1529.
59. Heinz B. A., Vance L. M. The antiviral compound enviroxime targets the 3A coding region of rhinovirus and poliovirus. *J. Virol.* 1995, 69, 4189–4197.
60. Hemida M. G., Ye X., Zhang H. M., Hanson P.J., Liu Z., McManus B. M., Yang D. MicroRNA-203 enhances coxsackievirus B3 replication through targeting zinc finger protein-148. *Cell. Mol. Life Sci. CMLS* 2013, 70, 277–291.
61. Henke A., Huber S.A., Stelzner A., Whitton J. L. The role of CD8+ T lymphocytes in coxsackievirus B3-induced myocarditis. *J. Virol.* 1995, 69, 6720–6728.
62. Ho B. C., Yang P. C., Yu S. L. MicroRNA and pathogenesis of enterovirus infection. *Viruses.* 2016, 8, 11; doi: 10/3390/v8010011
63. Ho B. C., Yu I. S., Lu L. F., Rudensky, A., Chen H. Y., Tsai C. W., Chang Y. L., Wu C. T., Chang L. Y., Shih S. R. et al. Inhibition of miR-146a prevents enterovirus-induced death by restoring the production of type I interferon. *Nat. Commun.* 2014, 5.
64. Ho B. C., Yu S. L., Chen J. J., Chang S. Y., Yan B. S., Hong Q. S., Singh S., Kao C. L., Chen H. Y., Su K. Y. et al. Enterovirus-induced miR-141 contributes to shutoff of host protein translation by targeting the translation initiation factor eIF4E. *Cell. Host Microbe.* 2011, 9, 58–69.
65. Hornung V., Ellegast J., Kim, S., Brzozka K., Jung A., Kato H., Poeck H., Akira S., Conzelmann K. K., Schlee M. et al. 5'-Triphosphate RNA is the ligand for RIG-I. *Science* 2006, 314, 994–997.
66. Hsiao H. B., Chou A. H., Lin S. I., Chen I. H., Lien S. P., Liu C. C., Chong P., Liu S. J. Toll-like receptor 9-mediated protection of enterovirus 71 infection in mice is due to the release of danger-associated molecular patterns. *J. Virol.* 2014, 88, 11658–11670.
67. Hsu N. Y., Iinytska O., Belov G., Santiana M., Chen Y. H., Takvorian P. M., Pau C., van der Schaar H., Kaushik-Basu N., Balla T. et al. Viral reorganization of the secretory pathway generates distinct organelles for RNA replication. *Cell.* 2010, 141, 799–811.
68. Huang C. C., Liu C. C., Chang Y. C., Chen C. Y., Wang S. T., Yeh T. F. Neurologic complications in children with enterovirus 71 infection. *N. Engl. J. Med.* 1999, 341, 936–942.
69. Huang S. C., Chang C. L., Wang P. S., Tsai Y., Liu H. S. Enterovirus 71-induced autophagy detected in vitro and in vivo promotes viral replication. *J. Med. Virol.* 2009, 81, 1241–1252.
70. Huhn M. H., Hultcrantz M., Lind K., Ljunggren H. G., Malmberg K. J., Flodstrom-Tullberg M. IFN- γ production dominates the early human natural killer Cell. response to coxsackievirus infection. *Cell. Microbiol.* 2008, 10, 426–436.
71. Huhn M. H., McCartney S. A., Lind K., Svedin E., Colonna M., Flodstrom-Tullberg M. Melanoma differentiation-associated protein-5 (MDA-5) limits early viral replication but is not essential for the induction of type 1 interferons after coxsackievirus infection. *Virology.* 2010, 401, 42–48.
72. Hung H. C., Wang H. C., Shih S. R., Teng I. F., Tseng C. P., Hsu J. T. Synergistic inhibition of enterovirus 71 replication by interferon and rupintrivir. *J. Infect. Dis.* 2011, 203, 1784–1790.
73. Hutvagner G., McLachlan J., Pasquinelli A. E., Balint E., Tuschl T., Zamore P. D. A cellular function for the RNA-interference enzyme Dicer in the maturation of the let-7 small temporal RNA. *Science.* 2001, 293, 834–838.

74. Ichimura H., Shimase K., Tamura I., Kaneto E., Kurimura O., Aramitsu Y., Kurimura T. Neutralizing antibody and interferon-g in cerebrospinal fluids and sera of acute aseptic meningitis. *J. Med. Virol.* 1985, 15, 231–237.
75. Ida-Hosonuma M., Iwasaki T., Yoshikawa T., Nagata N., Sato Y., Sata T., Yoneyama M., Fujita T., Taya C., Yonekawa H. et al. The α/β interferon response controls tissue tropism and pathogenicity of poliovirus. *J. Virol.* 2005, 79, 4460–4469.
76. Ikegame S., Takeda M., Ohno S., Nakatsu Y., Nakanishi Y., Yanagi Y. Both RIG-I and MDA5 RNA helicases contribute to the induction of α/β interferon in measles virus-infected human cells. *J. Virol.* 2010, 84, 372–379.
77. Itakura E., Kishi-Itakura C., Mizushima N. The hairpin-type tail-anchored SNARE syntaxin 17 targets to autophagosomes for fusion with endosomes/lysosomes. *Cell.* 2012, 151, 1256–1269.
78. Jackson W. T., Giddings T. H. Jr., Taylor M. P., Mulinylaw S., Rabinovitch M., Kopito R. R., Kirkegaard K. Subversion of cellular autophagosomal machinery by RNA viruses. *PLoS Biol.* 2005, 3, e156.
79. Jiang P., Nishimura T., Sakamaki Y., Itakura E., Hatta T., Natsume T., Mizushima N. The HOPS complex mediates autophagosome-lysosome fusion through interaction with syntaxin 17. *Mol. Biol. Cell.* 2014, 25, 1327–1337.
80. Jiang Z., Mak T. W., Sen G., Li X. Toll-like receptor 3-mediated activation of NF- κ B and IRF3 diverges at Toll-IL-1 receptor domain-containing adapter inducing IFN- β . *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2004, 101, 3533–3538.
81. Joachims M., van Breuge, P. C., Lloyd R. E. Cleavage of poly (A)-binding protein by enterovirus proteases concurrent with inhibition of translation in vitro. *J. Virol.* 1999, 73, 718–727.
82. Jopling C. L., Yi M., Lancaster A. M., Lemon S. M., Sarnow P. Modulation of hepatitis C virus RNA abundance by a liver-specific microRNA. *Science.* 2005, 309, 1577–1581.
83. Ju Y., Wang T., Li Y., Xin W., Wang S., Li J. Coxsackievirus B3 affects endothelial tight junctions: possible relationship to ZO-1 and F-actin as well as p38 MAPK activity. *Cell. Biol. Int.* 2007, 31, 1207–1213.
84. Kato H., Takeuchi O., Mikamo-Satoh E. et al. Length-dependent recognition of double-stranded ribonucleic acids by retinoic acid-inducible gene-I and melanoma differentiation-associated gene 5. *J. Exp. Med.* 2008, 205, 1601–1610.
85. Kato H., Takeuchi O., Sato S. et al. Differential roles of MDA5 and RIG-I helicases in the recognition of RNA viruses. *Nature.* 2006, 441, 101–105.
86. Kato H., Takeuchi O., Sato S., Yoneyama M., Yamamoto M., Matsui K., Uematsu S., Jung A., Kawai T., Ishii K. J. et al. Differential roles of MDA5 and RIG-I helicases in the recognition of RNA viruses. *Nature.* 2006, 441, 101–105.
87. Kawai T., Takahashi K., Sato S. et al. IPS-1, an adaptor triggering RIG-I- and Mda5-mediated type I interferon induction. *Nat. Immunol.* 2005, 6, 981–988.
88. Kawai T., Akira S. Innate immune recognition of viral infection. *Nat. Immunol.* 2006, 7, 131–137.
89. Keller M., Ruegg A., Werner S., Beer H. D. Active caspase-1 is a regulator of unconventional protein secretion. *Cell.* 2008, 132, 818–831.
90. Kembell C. C., Alirezai M., Flynn C. T., Wood M. R., Harkins S., Kiosses W. B., Whitton J. L. Coxsackievirus infection induces autophagy-like vesicles and megaphagosomes in pancreatic acinar cells in vivo. *J. Virol.* 2010, 84, 12110–12124.
91. Kerekatte V., Keiper B. D., Badorff C., Cai A., Knowlton K. U., Rhoads R. E. Cleavage of Poly (A)-binding protein by coxsackievirus 2A protease in vitro and in vivo: Another mechanism for host protein synthesis shutoff? *J. Virol.* 1999, 73, 709–717.
92. Kim C., Bergelson J. M. Echovirus 7 entry into polarized Caco-2 intestinal epithelial cells involves core components of the autophagic machinery. *J. Virol.* 2014, 88, 434–443.
93. Klein K. A., Jackson W. T. Human rhinovirus 2 induces the autophagic pathway and replicates more efficiently in autophagic cells. *J. Virol.* 2011, 85, 9651–9654.
94. Klotman M. E., Chang T. L. Defensins in innate antiviral immunity. *Nat. Rev. Immunol.* 2006, 6, 447–456.
95. Komuro A., Horvath C. M. RNA- and virus-independent inhibition of antiviral signaling by RNA helicase LGP2. *J. Virol.* 2006, 80, 12332–12342.
96. Krausslich H. G., Nicklin M. J., Toyoda H., Etchison D., Wimmer E. Poliovirus proteinase 2A induces cleavage of eucaryotic initiation factor 4F polypeptide p220. *J. Virol.* 1987, 61, 711–7218.

97. Kuo R. L., Kao L. T., Lin S. J., Wang R. Y., Shih S. R. MDA5 plays a crucial role in enterovirus 71 RNA-mediated IRF3 activation. *PLoS ONE*. 2013, 8.
98. Kurt-Jones E. A., Popova L., Kwinn L. et al. Pattern recognition receptors TLR4 and CD14 mediate response to respiratory syncytial virus. *Nat. Immunol.* 2000, 1, 398–401.
99. Kuyumcu-Martinez N. M., van Eden M. E., Younan P., Lloyd R. E. Cleavage of poly (A)-binding protein by poliovirus 3C protease inhibits host Cell. translation: A novel mechanism for host translation shutoff. *Mol. Cell. Biol.* 2004, 24, 1779–1790.
100. Lai J. K. F., Sam I. C., Chan Y. F. The autophagic machinery in enterovirus infection. *Viruses*. 2016, 8, 32, doi:10.3390/v8020032
101. Lam W. Y., Cheung A. C., Tung C. K., Yeung A. C., Ngai K. L., Lui V. W., Chan P. K., Tsui S. K. miR-466 is putative negative regulator of Coxsackie virus and Adenovirus Receptor. *FEBS Lett.* 2015, 589, 246–254.
102. Lamkanfi M., Dixit V. M. Mechanisms and functions of inflammasomes. *Cell*. 2014, 157, 1013–1022.
103. Lane J. R., Neumann D. A., Lafond-Walker A., Herskowitz A., Rose N. R. LPS promotes CB3-induced myocarditis in resistant B10.A mice. *Cell. Immunol.* 1991, 136, 219–233.
104. Lee I., Ajay S. S., Yook J. I., Kim H. S., Hong S. H., Kim N. H., Dhanasekaran S. M., Chinnaiyan A. M., Athey B. D. New class of microRNA targets containing simultaneous 5'-UTR and 3'-UTR interaction sites. *Genom. Res.* 2009, 19, 1175–1183.
105. Lee Y. P., Wang Y. F., Wang J. R., Huang S. W., Yu C. K. Enterovirus 71 blocks selectively type I interferon production through the 3C viral protein in mice. *J. Med. Virol.* 2012, 84, 1779–1789.
106. Lei X., Xiao X., Wang J. Innate immunity evasion by enteroviruses: insights into virus-host interaction. *Viruses*. 2016, 8, 22, doi:10.3390/v8010022
107. Lei X., Han N., Xiao X., Jin Q., He B., Wang J. Enterovirus 71 3C inhibits cytokine expression through cleavage of the TAK1/TAB1/TAB2/TAB3 complex. *J. Virol.* 2014, 88, 9830–9841.
108. Lei X., Liu X., Ma Y., Sun Z., Yang Y., Jin Q., He B., Wang J. The 3C protein of enterovirus 71 inhibits retinoid acid-inducible gene I-me-

- diated interferon regulatory factor 3 activation and type I interferon responses. *J. Virol.* 2010, 84, 8051–8061.
109. Lei X., Sun Z., Liu X., Jin Q., He B., Wang J. Cleavage of the adaptor protein TRIF by enterovirus 71 3C inhibits antiviral responses mediated by Toll-like receptor 3. *J. Virol.* 2011, 85, 8811–8818.
110. Lei X., Xiao X., Xue Q., Jin Q., He B., Wang J. Cleavage of interferon regulatory factor 7 by enterovirus 71 3C suppresses cellular responses. *J. Virol.* 2013, 87, 1690–1698.
111. Lennemann N. J., Coyne C. B. Catch me if you can: The link between autophagy and viruses. *PLoS Pathog.* 2015, 11, e1004685.
112. Lewis B. P., Burge C. B., Bartel D. P. Conserved seed pairing often flanked by adenosines indicates that thousands of human genes are microRNA targets. *Cell*. 2005, 120, 15–20.
113. Li Y., Xie J., Xu X., Wang J., Ao F., Wan Y., Zhu Y. MicroRNA-548 down-regulates host antiviral response via direct targeting of IFN-lambda1. *Protein Cell*. 2013, 4, 130–141.
114. Lin S., Gregory R. I. MicroRNA biogenesis pathways in cancer. *Nat. Rev. Cancer*. 2015, 15, 321–333.
115. Liu M. L., Lee Y. P., Wang Y. F., Lei H. Y., Liu C. C., Wang S. M., Su I. J., Wang J. R., Yeh T. M., Chen S. H. et al. Type I interferons protect mice against enterovirus 71 infection. *J. Gen. Virol.* 2005, 86, 3263–3269.
116. Liu Y., Zhang Z., Zhao X., Yu R., Zhang X., Wu S., Liu J., Chi X., Song X., Fu L. et al. Enterovirus 71 inhibits cellular type I interferon signaling by downregulating JAK1 protein expression. *Viral Immunol.* 2014, 27, 267–276.
117. Lloyd R. E., Grubman M. J., Ehrenfeld E. Relationship of p220 cleavage during picornavirus infection to 2A proteinase sequencing. *J. Virol.* 1988, 62, 4216–4223.
118. Loo Y. M., Fornek J., Crochet N. et al. Distinct RIG-I and MDA5 signaling by RNA viruses in innate immunity. *J. Virol.* 2008, 82, 335–345.
119. Lu A., Magupalli V. G., Ruan J., Yin Q., Atianand M. K., Vos M. R., Schroder G. F., Fitzgerald K. A., Wu H., Egelman E. H. Unified polymerization mechanism for the assembly of ASC-dependent inflammasomes. *Cell*. 2014, 156, 1193–1206.
120. Lu J., Yi L., Zhao J., Yu J., Chen Y., Lin M. C., Kung H. F., He M. L. Enterovirus 71 disrupts interferon signaling by reducing the level of interferon receptor 1. *J. Virol.* 2012, 86, 3767–3776.

121. Lu P., Sun H., Zhang L., Hou H., Zhang L., Zhao F., Ge C., Yao M., Wang T., Li J. Isocorydine targets the drug-resistant cellular side population through PDCD4-related apoptosis in hepatocellular carcinoma. *Mol. Med.* 2012, 18, 1136–1146.
122. Lubber C. A., Cox J., Lauterbach H. et al. Quantitative proteomics reveals subset-specific viral recognition in dendritic cells. *Immunity.* 2010, 32, 279–289.
123. MacLeod A. M., Mitchell D. R., Palmer N. J., van de Poel H., Conrath K., Andrews M., Leyssen P., Neyts J. Identification of a series of compounds with potent antiviral activity for the treatment of enterovirus infections. *ACS Med. Chem. Lett.* 2013, 4, 585–589.
124. Marjomaki V., Turkki P., Huttunen M. Infectious entry pathway of enterovirus B species. *Viruses.* 2015, 7, 6387–6399.
125. McCartney S. A., Thackray L. B., Gitlin L., Gilfillan S., Virgin H. W., Colonna M. MDA-5 recognition of a murine norovirus. *PLoS Path.* 2008, 4, E1000108.
126. McEwan D. G., Popovic D., Gubas A., Terawaki S., Suzuki H., Stadel D., Coxon F. P., Miranda de Stegmann D., Bhogaraju S., Madidi K. et al. PLEKHM1 regulates autophagosome-lysosome fusion through HOPS complex and LC3/GABARAP proteins. *Mol. Cell.* 2015, 57, 39–54.
127. Meylan E., Curran J., Hofmann K. et al. Cardif is an adaptor protein in the RIG-I antiviral pathway and is targeted by hepatitis C virus. *Nature.* 2005, 437, 1167–1172.
128. Mizushima N. Autophagy: Process and function. *Genes Dev.* 2007, 21, 2861–2873.
129. Mizushima N., Levine B., Cuervo A. M., Klionsky D. J. Autophagy fights disease through cellular digestion. *Nature.* 2008, 451, 1069–1075.
130. Mukherjee A., Morosky S. A., Shen L. et al. Retinoic acid-induced gene-1 (RIG-I) associates with the actin cytoskeleton via caspase activation and recruitment domain-dependent interactions. *J. Biol. Chem.* 2009, 284, 6486–6494.
131. Mukherjee A., Morosky S. A., Delorme-Axford E., Dybdahl-Sisoko N., Oberste M. S., Wang T., Coyne C. B. The coxsackievirus B 3C protease cleaves MAVS and TRIF to attenuate host type I interferon and apoptotic signaling. *PLoS Pathog.* 2011, 7.
132. Muroi M., Tanamoto K. TRAF6 distinctively mediates MyD88- and IRAK-1-induced activation of NF- κ B. *J. Leukoc. Biol.* 2008, 83, 702–707.
133. Negishi H., Osawa T., Ogami K., Ouyang X., Sakaguchi S., Koshiba R., Yanai H., Seko Y., Shitara H., Bishop K. et al. A critical link between Toll-like receptor 3 and type II interferon signaling pathways in antiviral innate immunity. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2008, 105, 20446–20451.
134. O'Donnell V., Larocco M., Baxt B. Heparan sulfate-binding foot-and-mouth disease virus enters cells via caveola-mediated endocytosis. *J. Virol.* 2008, 82, 9075–9085.
135. Obara K., Ohsumi Y. PtdIns 3-kinase orchestrates autophagosome formation in yeast. *J. Lipids.* 2011, 2011.
136. Obara K., Sekito T., Ohsumi Y. Assortment of phosphatidylinositol 3-kinase complexes-ATG14p directs association of complex I to the pre-autophagosomal structure in *Saccharomyces cerevisiae*. *Mol. Biol. Cell.* 2006, 17, 1527–1539.
137. Pankiv S., Alemu E. A., Brech A., Bruun J. A., Lamark T., Overvatn A., Bjorkoy G., Johansen T. FYCO1 is a Rab7 effector that binds to LC3 and PI3P to mediate microtubule plus end-directed vesicle transport. *J. Cell. Biol.* 2010, 188, 253–269.
138. Park J. H., Shin C. MicroRNA-directed cleavage of targets: Mechanism and experimental approaches. *BMB Rep.* 2014, 47, 417–423.
139. Perez L., Carrasco L. Entry of poliovirus into cells does not require a low-pH step. *J. Virol.* 1993, 67, 4543–4548.
140. Petiot A., Ogier-Denis E., Blommaert E. F., Meijer A. J., Codogno P. Distinct classes of phosphatidylinositol 3'-kinases are involved in signaling pathways that control macroautophagy in HT-29 cells. *J. Biol. Chem.* 2000, 275, 992–998.
141. Pfeffer S., Zavolan M., Grasser F. A., Chien M., Russo J. J., Ju J., John B., Enright A. J., Marks D., Sander C. et al. Identification of virus-encoded microRNAs. *Science.* 2004, 304, 734–736.
142. Pichlmair A., Schulz O., Tan C. P. et al. RIG-I-mediated antiviral responses to single-stranded RNA bearing 5'-phosphates. *Science.* 2006, 314, 997–1001.
143. Piralla A., Mariani B., Stronati M., Marone P., Baldanti F. Human enterovirus and parechovirus infections in newborns with

- sepsis-like illness and neurological disorders. *Early Hum. Dev.* 2014, 90 (Suppl. 1), S75–S77.
144. Poltorak A., He X., Smirnova I., Liu M. Y., van Huffel C., Du X., Birdwell D., Alejos E., Silva M., Galanos C. et al. Defective LPS signaling in C3H/HeJ and C57BL/10ScCr mice: Mutations in Tlr4 gene. *Science*. 1998, 282, 2085–2088.
145. Rebsamen M., Meylan E., Curran J., Tschopp J. The antiviral adaptor proteins Cardif and Trif are processed and inactivated by caspases. *Cell. Death Differ.* 2008, 15, 1804–1811.
146. Richards A. L., Jackson W. T. Intracellular vesicle acidification promotes maturation of infectious poliovirus particles. *PLoS Pathog.* 2012, 8, e1003046.
147. Richards A. L., Soares-Martins J. A., Riddell G. T., Jackson W. T. Generation of unique poliovirus RNA replication organelles. *MBio* 2014, 5.
148. Richer M. J., Fang D., Shanina I., Horwitz M. S. Toll-like receptor 4-induced cytokine production circumvents protection conferred by TGF- β in coxsackievirus-mediated autoimmune myocarditis. *Clin. Immunol.* 2006, 121 (3), 339–349.
149. Richer M. J., Lavalley D. J., Shanina I., Horwitz M. S. Toll-like receptor 3 signaling on macrophages is required for survival following coxsackievirus B4 infection. *PLoS ONE* 2009, 4, e4127.
150. Rigoutsos I. New tricks for animal microRNAs: Targeting of amino acid coding regions at conserved and nonconserved sites. *Cancer Res.* 2009, 69, 3245–3248.
151. Robinson S. M., Tsueng G., Sin J., Mangale V., Rahawi S., McIntyre L. L., Williams W., Kha N., Cruz C., Hancock B. M. et al. Coxsackievirus B exits the host Cell. in shed microvesicles displaying autophagosomal markers. *PLoS Pathog.* 2014, 10, e1004045.
152. Rong Y., Liu M., Ma L., Du W., Zhang H., Tian Y., Cao Z., Li Y., Ren H., Zhang C. et al. Clathrin and phosphatidylinositol-4,5-bisphosphate regulate autophagic lysosome reformation. *Nat. Cell. Biol.* 2012, 14, 924–934.
153. Rothenfusser S., Goutagny N., DiPerna G. et al. The RNA helicase Lgp2 inhibits TLR-independent sensing of viral replication by retinoic acid-inducible gene-I. *J. Immunol.* 2005, 175, 5260–5268.
154. Rubinsztein D. C., Codogno P., Levine B. Autophagy modulation as a potential therapeutic target for diverse diseases. *Nat. Rev. Drug. Discov.* 2012, 11, 709–730.
155. Saito T., Hirai R., Loo Y. M. et al. Regulation of innate antiviral defenses through a shared repressor domain in RIG-I and LGP2. *Proc. Natl Acad. Sci. USA.* 2007, 104, 582–587.
156. Satoh T., Kato H., Kumagai Y. et al. LGP2 is a positive regulator of RIG-I- and MDA5-mediated antiviral responses. *Proc. Natl Acad. Sci. USA.* 2010, 107, 1512–1517.
157. Schneider W. M., Chevillotte M. D., Rich C. M. Interferon-stimulated genes: A complex web of host defenses. *Annu. Rev. Immunol.* 2014, 32, 513–545.
158. Schroder K., Zhou R., Tschopp J. The NLRP3 inflammasome: A sensor for metabolic danger? *Science*. 2010, 327, 296–300.
159. Schuberth-Wagner C., Ludwig J., Bruder A. K., Herzner A. M., Zillinger T., Goldeck M., Schmidt T., Schmid-Burgk J. L., Kerber R., Wolter S. et al. A conserved histidine in the RNA sensor RIG-I controls immune tolerance to N1–2′O-methylated self RNA. *Immunity*. 2015, 43, 41–51.
160. Seko Y., Shinkai Y., Kawasaki A. et al. Expression of perforin in infiltrating cells in murine hearts with acute myocarditis caused by coxsackievirus B3. *Circulation*. 1991, 84, 788–795.
161. Seth R. B., Sun L., Ea C. K., Chen Z. J. Identification and characterization of MAVS a mitochondrial antiviral signaling protein that activates NF- κ B and IRF 3. *Cell*. 2005, 122, 669–682.
162. Shauer A., Gotsman I., Keren A., Zwas D. R., Hellman Y., Durst R., Admon D. Acute viral myocarditis: Current concepts in diagnosis and treatment. *Isr. Med. Assoc. J. IMAJ* 2013, 15, 180–185.
163. Shi Y., He X., Zhu G., Tu H., Liu Z., Li W., Han S., Yin J., Peng B., Liu W. Coxsackievirus A16 elicits incomplete autophagy involving the mTOR and ERK pathways. *PLoS ONE*. 2015, 10, e0122109.
164. Simonsen A., Tooze S. A. Coordination of membrane events during autophagy by multiple class III PI3-kinase complexes. *J. Cell. Biol.* 2009, 186, 773–782.
165. Singh R., Cuervo A. M. Autophagy in the cellular energetic balance. *Cell. Metab.* 2011, 13, 495–504.

166. Standart N., Jackson R.J. MicroRNAs repress translation of m7Gppp-capped target mRNAs in vitro by inhibiting initiation and promoting deadenylation. *Genes Dev.* 2007, 21, 1975–1982.
167. Strating J. R., van der Linden L., Albulescu L., Bigay J., Arita M., Delang L., Leyssen P., van der Schaar H. M., Lanken K. H., Thibaut H. J. et al. Itraconazole inhibits enterovirus replication by targeting the oxysterol-binding protein. *Cell. Rep.* 2015, 10, 600–615.
168. Takeda K., Akira S. Toll-like receptors in innate immunity. *Int. Immunol.* 2005, 17, 1–14.
169. Takeuchi O., Akira S. Innate immunity to virus infection. *Immunol. Rev.* 2009, 227, 75–86.
170. Thompson M. R., Kaminski J. J., Kurt-Jones E. A., Fitzgerald K. A. Pattern recognition receptors and the innate immune response to viral infection. *Viruses* 2011, 3, 920–940.
171. Toker A. Phosphoinositide 3-kinases—a historical perspective. *Subcell. Biochem.* 2012, 58, 95–110.
172. Tong L., Lin L., Wu S., Guo Z., Wang T., Qin Y., Wang R., Zhong X., Wu X., Wang Y. et al. MiR-10a* up-regulates coxsackievirus B3 biosynthesis by targeting the 3D-coding sequence. *Nucleic Acids Res.* 2013, 41, 3760–3771.
173. Triantafilou K., Orthopoulos G., Vakakis E. et al. Human cardiac inflammatory responses triggered by coxsackie B viruses are mainly Toll-like receptor (TLR) 8-dependent. *Cell. Microbiol.* 2005, 7, 1117–1126.
174. Triantafilou K., Triantafilou M. Coxsackievirus B4-induced cytokine production in pancreatic cells is mediated through toll-like receptor 4. *J. Virol.* 2004, 78, 11313–11320.
175. Triboulet R., Mari B., Lin Y. L., Chable-Bessia C., Bennasser Y., Lebrigand K., Cardinaud B., Maurin T., Barbry P., Baillat V. et al. Suppression of microRNA-silencing pathway by HIV-1 during virus replication. *Science.* 2007, 315, 1579–1582.
176. Tung W. H., Hsieh H. L., Yang C. M. Enterovirus 71 induces COX-2 expression via MAPKs NF- κ B, and AP-1 in SK-N-SH cells: Role of PGE (2) in viral replication. *Cell. Signal.* 2010, 22, 234–246.
177. Tung W. H., Hsieh H. L., Lee I. T., Yang C. M. Enterovirus 71 induces integrin-1/EGFR-Rac1-dependent oxidative stress in SK-N-SH cells: Role of HO-1/CO in viral replication. *J. Cell. Physiol.* 2011, 226, 3316–3329.
178. Tung W. H., Hsieh H. L., Lee I. T., Yang C. M. Enterovirus 71 modulates a COX-2/PGE2/cAMP-dependent viral replication in human neuroblastoma cells: Role of the c-Src/EGFR/p42/p44 MAPK/CREB signaling pathway. *J. Cell. Biochem.* 2011, 112, 559–570.
179. Umbach J. L., Cullen B. R. The role of RNAi and microRNAs in animal virus replication and antiviral immunity. *Genes Dev.* 2009, 23, 1151–1164.
180. Umbach J. L., Kramer M. F., Jurak I., Karnowski H. W., Coen D. M., Cullen B. R. MicroRNAs expressed by herpes simplex virus 1 during latent infection regulate viral mRNAs. *Nature.* 2008, 454, 780–783.
181. Van der Schaar H. M., van der Linden L., Lanke K. H., Strating J. R., Purstinger G., de Vries E., de Haan C. A., Neyts J., van Kuppeveld F. J. Coxsackievirus mutants that can bypass host factor PI4KIII β and the need for high levels of PI4P lipids for replication. *Cell. Res.* 2012, 22, 1576–1592.
182. Vanhaesebroeck B., Guillermet-Guibert J., Graupera M., Bilanges B. The emerging mechanisms of isoform-specific PI3K signalling. *Nat. Rev. Mol. Cell. Biol.* 2010, 11, 329–341.
183. Vella C., Festenstein H. Coxsackievirus B4 infection of the mouse pancreas: the role of natural killer cells in the control of virus replication and resistance to infection. *J. Gen. Virol.* 1992, 73 (Pt 6), 1379–1386.
184. Venkataraman T., Valdes M., Elsby R. et al. Loss of DExD/H box RNA helicase LGP2 manifests disparate antiviral responses. *J. Immunol.* 2007, 178, 6444–6455.
185. Verge I., Deretic V. The role of PI3P phosphatases in the regulation of autophagy. *FEBS Lett.* 2010, 584, 1313–1318.
186. Wang B., Xi X., Lei X., Zhang X., Cui S., Wang J., Jin Q., Zhao Z. Enterovirus 71 protease 2Apro targets MAVS to inhibit anti-viral type I interferon responses. *PLoS Pathog.* 2013, 9, e1003231.
187. Wang H., Lei X., Xiao X., Yang C., Lu W., Huang Z., Leng Q., Jin Q., He B., Meng G. et al. Reciprocal regulation between enterovirus71 and the NLRP3 inflammasome. *Cell. Rep.* 2015, 12, 42–48.
188. Wang H., Sun H. Q., Zhu X., Zhang L., Albanesi J., Levine B., Yin H. GABARAPs regulate PI4P-dependent autophagosome: Lysosome fusion. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2015, 112, 7015–7020.

189. Wang J. P., Asher D. R., Chan M., Kurt-Jones E. A., Finberg R. W. Cutting Edge: Antibody-mediated TLR7-dependent recognition of viral RNA. *J. Immunol.* 2007, 178, 3363–3367.
190. Wang J. P., Cerny A., Asher D. R., Kurt-Jones E. A., Bronson R. T., Finberg R. W. MDA5 and MAVS mediate type I interferon responses to coxsackie B virus. *J. Virol.* 2010, 84, 254–260.
191. Wang K., Yang Z., Nair U., Mao K., Liu X., Klionsky D. J. Phosphatidylinositol 4-kinases are required for autophagic membrane trafficking. *J. Biol. Chem.* 2012, 287, 37964–37972.
192. Wang L., Qin Y., Tong L., Wu S., Wang Q., Jiao Q., Guo Z., Lin L., Wang R., Zhao W. et al. MiR-342–5p suppresses coxsackievirus B3 biosynthesis by targeting the 2C-coding region. *Antivir. Res.* 2012, 93, 270–279.
193. Wang Y., Gao B., Xiong S. Involvement of NLRP3 inflammasome in CVB3-induced viral myocarditis. *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* 2014, 307, H1438–H1447.
194. Weidman M. K., Yalamanchili P., Ng B., Tsai W., Dasgupta A. Poliovirus 3C protease-mediated degradation of transcriptional activator p53 requires a cellular activity. *Virology.* 2001, 291, 260–271.
195. Wen B. P., Dai H. J., Yang Y. H., Zhuang Y., Sheng R. MicroRNA-23b inhibits enterovirus 71 replication through downregulation of EV71 VP1 protein. *Intervirology.* 2013, 56, 195–200.
196. Wilkins C., Gale M. Jr. Recognition of viruses by cytoplasmic sensors. *Curr. Opin. Immunol.* 2010, 22, 41–47.
197. Wilson S. S., Wiens M. E., Smith J. G. Antiviral mechanisms of human defensins. *J. Mol. Biol.* 2013, 425, 4965–4980.
198. Winter J., Jung S., Keller S., Gregory R. I., Diederichs S. Many roads to maturity: MicroRNA biogenesis pathways and their regulation. *Nat. Cell. Biol.* 2009, 11, 228–234.
199. Wong J., Zhang J., Si X., Gao G., Mao I., McManus B. M., Luo H. Autophagosome supports coxsackievirus B3 replication in host cells. *J. Virol.* 2008, 82, 9143–9145.
200. Wu J., Shen L., Chen J., Xu H., Mao L. The role of microRNAs in enteroviral infections. *Braz. J. Infect. Dis.* 2015, 19, 510–516.
201. Wu L., Fan J., Belasco J. G. MicroRNAs direct rapid deadenylation of mRNA. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2006, 103, 4034–4039.
202. Xagorari A., Chlichlia K. Toll-like receptors and viruses: Induction of innate antiviral immune responses. *Open Microbiol. J.* 2008, 2, 49–59.
203. Xiang Z., Li L., Lei X., Zhou H., Zhou Z., He B., Wang J. Enterovirus 68 3C protease cleaves TRIF to attenuate antiviral responses mediated by Toll-like receptor 3. *J. Virol.* 2014, 88, 6650–6659.
204. Xiang Z., Liu L., Lei X., Zhou Z., He B., Wang J. The 3C protease of enterovirus D68 inhibits the cellular defense mediated by interferon regulatory factor 7. *J. Virol.* 2015.
205. Xu L. G., Wang Y. Y., Han K. J., Li L. Y., Zhai Z., Shu H. B. VISA is an adapter protein required for virus-triggered IFN- β signaling. *Mol. Cell.* 2005, 19, 727–740.
206. Xu C., He X., Zheng Z., Zhang Z., Wei C., Guan K., Hou L., Zhang B., Zhu L., Cao Y. et al. Downregulation of microRNA miR-526a by enterovirus inhibits RIG-I-dependent innate immune response. *J. Virol.* 2014, 88, 11356–11368.
207. Xu H. F., Ding Y. J., Shen Y. W., Xue A. M., Xu H. M., Luo C. L., Li B. X., Liu Y. L., Zhao Z. Q. MicroRNA-1 represses Cx43 expression in viral myocarditis. *Mol. Cell. Biochem.* 2012, 362, 141–148.
208. Xu H. F., Ding Y. J., Zhang Z. X., Wang Z. F., Luo C. L., Li B. X., Shen Y. W., Tao L. Y., Zhao Z. Q. MicroRNA21 regulation of the progression of viral myocarditis to dilated cardiomyopathy. *Mol. Med. Rep.* 2014, 10, 161–168.
209. Xu L. J., Jiang T., Zhao W., Han J. F., Liu J., Deng Y. Q., Zhu S. Y., Li Y. X., Nian Q. G., Zhang Y. et al. Parallel mRNA and microRNA profiling of HEV71-infected human neuroblastoma cells reveal the up-regulation of miR-1246 in association with DLG3 repression. *PLoS ONE.* 2014, 9, e95272.
210. Yalamanchili P., Harris K., Wimmer E., Dasgupta A. Inhibition of basal transcription by poliovirus: A virus-Encoded protease (3Cpro) inhibits formation of TBP-TATA box complex in vitro. *J. Virol.* 1996, 70, 2922–2929.
211. Yamashita S., Oku M., Wasada Y., Ano Y., Sakai Y. PI4P-signaling pathway for the synthesis of a nascent membrane structure in selective autophagy. *J. Cell. Biol.* 2006, 173, 709–717.
212. Yamayoshi S., Ohka S., Fujii K., Koike S. Functional comparison of SCARB2 and PSGL1 as receptors for enterovirus 71. *J. Virol.* 2013, 87, 3335–3347.
213. Yan N., Chen Z. J. Intrinsic antiviral immunity. *Nat. Immunol.* 2012, 13, 214–222.

214. Yang J., Yang C., Guo N., Zhu K., Luo K., Zhang N., Zhao H., Cui Y., Chen L., Wang H. et al. Type I interferons triggered through the Toll-like receptor 3-TRIF pathway control coxsackievirus A16 infection in young mice. *J. Virol.* 2015, 89, 10860–10867.
215. Yang Z., Tien P. MiR373 and miR542–5p regulate the replication of enterovirus 71 in rhabdomyosarcoma cells. *Chin. J. Biotechnol.* 2014, 30, 943–953. (in Chinese)
216. Ye X., Hemida M. G., Qiu Y., Hanson P. J., Zhang H. M., Yang D. MiR-126 promotes coxsackievirus replication by mediating cross-talk of ERK1/2 and Wnt/-catenin signal pathways. *Cell. Mol. Life Sci. CMLS* 2013, 70, 4631–444.
217. Ye X., Zhang H. M., Qiu Y., Hanson P. J., Hemida M. G., Wei W., Hoodless P. A., Chu F., Yang D. Coxsackievirus-induced miR-21 disrupts cardiomyocyte interactions via the downregulation of intercalated disk components. *PLoS Pathog.* 2014, 10, e1004070.
218. Yoon S. Y., Ha Y. E., Choi J. E., Ahn J., Lee H., Kweon H. S., Lee J. Y., Kim, D. H. Coxsackievirus B4 uses autophagy for replication after calpain activation in rat primary neurons. *J. Virol.* 2008, 82, 11976–11978.
219. Yount J., Gitlin L., Moran T. M., Lopez C. B. MDA5 participates in the detection of paramyxovirus infection and is essential for the early activation of dendritic cells in response to Sendai virus defective interfering particles. *J. Immunol.* 2008, 180, 4910–4918.
220. Yu L., McPhee C. K., Zheng L., Mardones G. A., Rong Y., Peng J., Mi N., Zhao Y., Liu Z., Wan F. et al. Termination of autophagy and reformation of lysosomes regulated by mTOR. *Nature.* 2010, 465, 942–946.
221. Yuan J., Liu Z., Lim T. et al. CXCL10 inhibits viral replication through recruitment of natural killer cells in coxsackievirus B3-induced myocarditis. *Circ. Res.* 2009, 104 (5), 628–638.
222. Zhang L., Chen X., Shi Y., Zhou B., Du C., Liu Y., Han S., Yin J., Peng B., He X. et al. miR-27a suppresses EV71 replication by directly targeting EGFR. *Virus Genes.* 2014, 49, 373–382.
223. Zhang Q., Xiao Z., He F., Zou J., Wu S., Liu Z. MicroRNAs regulate the pathogenesis of CVB3-induced viral myocarditis. *Intervirology.* 2013, 56, 104–113.

224. Zheng Z., Ke X., Wang M., He S., Li Q., Zheng C., Zhang Z., Liu Y., Wang H. Human microRNA hsa-miR-296–5p suppresses enterovirus 71 replication by targeting the viral genome. *J. Virol.* 2013, 87, 5645–5656.
225. Zheng Z., Li H., Zhang Z., Meng J., Mao D., Bai B., Lu B., Mao P., Hu Q., Wang H. Enterovirus 71 2C protein inhibits TNF- α -mediated activation of NF- κ B by suppressing I κ B kinase β phosphorylation. *J. Immunol.* 2011, 187, 2202–2212.
226. Zhu K., Yang J., Luo K., Yang C., Zhang N., Xu R., Chen J., Jin M., Xu B., Guo N. et al. TLR3 signaling in macrophages is indispensable for the protective immunity of invariant natural killer T cells against enterovirus 71 infection. *PLoS Pathog.* 2015, 11.
227. Zoncu R., Efeyan A., Sabatini D. M. mTOR: From growth signal integration to cancer diabetes and ageing. *Nat. Rev. Mol. Cell. Biol.* 2011, 12, 21–35.
228. Бацкалевич Н. А. Клинические, иммунологические особенности и прогностическая оценка показателей врожденного и адаптивного иммунитета у подростков с энтеровирусным менингитом : дис. ... канд. мед. наук: 14.00.09/Бацкалевич Наталья Александровна ; Уральская гос. мед. акад. Росздрава. Екатеринбург, 2009. 109 с.
229. Хаманова Ю. Б. Клиника, иммунопатогенез и оптимизация лечения энтеровирусных менингитов у детей : дис. ... д-ра мед. наук: 14.01.08/Хаманова Юлия Борисовна ; Уральская гос. мед. акад. МЗ РФ. Екатеринбург, 2013. 279 с.

4. Адаптивный иммунный ответ при энтеровирусной инфекции

Система врожденного иммунитета помимо продукции I IFN и других провоспалительных цитокинов, а также экспрессии белков, обладающих противовирусной активностью: ISG15, ISG20, РНК-азы-L, протеинкиназы R (PKR), 2',5'-олигоденилатсинтазы, Mx1, TRIM5α и др., стимулирует экспрессию антиген-представляющими клетками (APC) костимуляторных молекул и способствует МНС-презентации антигена Т-лимфоцитам. Результатом сложных взаимодействий различных клеточных элементов становится появление популяции короткоживущих вирус-реактивных Т-эффекторов и дифференцировка клеток памяти. Вирус-специфические CD8⁺ и CD4⁺ Т-лимфоциты происходят из небольшой популяции наивных предшественников, которые размножаются с нелинейной прогрессией [Whitmire, 2006; Whitmire, 2008]. Существуют некоторые отличия, характеризующие экспансию этих клеточных субпопуляций. CD8⁺ и CD4⁺ Т-лимфоциты обладают разными механизмами распознавания вирусных антигенов. CD4⁺ Т-лимфоциты распознают вирусный антиген, который презентуется в составе молекул МНС II комплекса на поверхности ограниченного количества типов клеток: DC, В-лимфоцитов и моноцитов/макрофагов. CD4⁺ Т-лимфоциты распознают фрагменты экстраклеточного материала, который захватывает APC. Экстраклеточный материал включает в себя вирусные частицы, вирусные белки и ви-

русный дебрис из некротических клеток. В отличие от CD4⁺ Т-клеток CD8⁺ Т-лимфоциты распознают МНС I молекулы, содержащие пептиды, имеющие внутриклеточное происхождение: белки, деградировавшие в составе протеасом, оказавшиеся в клетке в результате инфекции или в результате синтеза вирусных белков в клетке de novo. Поскольку индукция активации CD4⁺ Т-лимфоцитов может инициироваться неинфицированными клетками и нереплицирующимся вирусным материалом, Т-хелперы оказываются более чувствительными к вирусным антигенам, чем цитотоксические Т-лимфоциты. Другим ключевым отличием Т-хелперов и Т-цитотоксических лимфоцитов является эффективность, с которой они поражают клетки-мишени: антиген-специфические CD8⁺ Т-лимфоциты осуществляют киллинг очень оперативно, в то время как CD4⁺ Т-лимфоциты — чрезвычайно медленно. Механизм киллинга также разный: CD8⁺ Т-лимфоциты используют молекулы перфорина и гранзима, которые образуют поры в мембране клетки-мишени; CD4⁺ Т-лимфоциты осуществляют киллинг посредством FAS-L и TRAIL, индуцирующих каспаз-зависимый апоптоз. И CD8⁺ и CD4⁺ Т-лимфоциты обладают способностью подавлять репликацию вируса благодаря синтезу IFN-γ [Whitmire, 2011].

В результате дифференцировки антиген-специфические CD4⁺Т-лимфоциты приобретают специфический цитокиновый профиль, который определяет влияние этих клеток на другие элементы иммунного ответа. Они также начинают экспрессировать хемокиновые рецепторы, которые определяют миграцию клеток в периферические ткани, Т-клеточные зоны лимфоузлов и т. д. Общая кинетика CD4⁺ Т-клеточного ответа и формирования клеток памяти активно изучалась на моделях, которые индуцируют преимущественно Th1-тип иммунного ответа. Антивирусные Th1-лимфоциты чаще всего обнаруживаются после перенесенной острой вирусной инфекции, поскольку клетки-мишени синтезируют IFN-α/β, DC

и NK продуцируют IL-12, IL-18 и IFN- γ , которые стимулируют дифференцировку по Th1-пути. Th1-лимфоциты локализуются в лимфоидных органах и мигрируют в периферические очаги. Они экспрессируют IFN- γ , который действует на клетки-мишени, подавляет репликацию вируса и стимулирует презентацию антигена DC, В-лимфоцитами и макрофагами. Th1-клетки также активно продуцируют IL-2, который поддерживает экспансию пролиферирующих вирус-специфических Т-клеток. Th1-лимфоциты, оказавшиеся на периферии, благодаря продукции IFN- γ , модулируют хемокиновый градиент и привлекают макрофаги и цитотоксические Т-лимфоциты в очаги инфекции.

Вирусные инфекции ассоциированы и с появлением T_{FH} [Johnston, 2009; Yusuf, 2010]. T_{FH} преимущественно локализуется на границе В-клеточных зон лимфатических узлов, а не циркулируют на периферии [McHeyzer-Williams, 2004]. В соответствии с проксимальной локализацией в В-клеточных зонах лимфоузлов T_{FH} -лимфоциты участвуют в дифференцировке В-клеток, включая реакцию зародышевых центров и образование В-лимфоцитов памяти [McHeyzer-Williams, 2009]. Эти $CD4^+$ Т-лимфоциты экспрессируют CD40L и SAP (сигнальный активационный протеин), необходимые для стимуляции вирус-специфических В-лимфоцитов и их дальнейшей дифференцировки в плазматические клетки [Crotty, 2003; McHeyzer-Williams, 2004]. Вирус-специфические T_{FH} экспрессируют IL-4, IFN- γ и CD40L. Способность T_{FH} к одновременному синтезу IL-4 и IFN- γ позволяет объяснить одновременное присутствие IgG1 и IgG2a-антител в ходе вирусной инфекции.

Дифференцировка и функционирование других субпопуляций Т-эффекторов при вирусных инфекциях остаются малоизученными и представляют несомненный интерес, так как непосредственно связаны с регуляцией иммунного ответа и механизмами иммунопатогенеза. Например, вирус-специ-

фические Th2-лимфоциты обнаруживаются при многих вирусных инфекциях. RSV (респираторно-синцитиальный вирус), в частности, индуцирует Th2-ответ, который ассоциирован с патогенезом заболевания и массивной миграцией эозинофилов в легкие [Whitmire, 2011]. Вирус-специфические Th17, Th21, Th9, T_{reg} также дифференцируются в ходе вирусной инфекции, однако вопросы, связанные с динамикой их дифференцировки, изменения численности в ходе заболевания, функционированием, а также ролью в патогенезе, нуждаются в дальнейшем изучении.

После инфицирования вирусом под действием градиента соответствующего антигена и/или структурных изменений лимфатического узла и уровня хемокинов наивные $CD8^+$ Т-лимфоциты мигрируют в периферические отделы Т-клеточных зон лимфатического узла в области субкапсулярных синусов, где располагаются инфицированные макрофаги. DC также перемещаются в эти отделы и приобретают антиген от других инфицированных клеток путем прямого инфицирования или кросс-презентации. Происходят иницирующие антиген-специфические контакты между $CD8^+$ Т-лимфоцитами и DC, что приводит к активации цитотоксических Т-лимфоцитов и их экспансии [Zhang, 2011]. На пике первичного иммунного ответа на патоген вирусной природы популяция антиген-специфических $CD8^+$ Т-лимфоцитов представляет собой набор фенотипически и функционально гетерогенных субпопуляций. Короткоживущие эффекторы образуют достаточно массовую субпопуляцию, но погибают после разрешения иммунного ответа, в то время как предшественники клеток памяти, которые нуждаются в гораздо меньшей стимуляции для выживания, формируют пул клеток памяти [Mescher, 2006; Parish, 2009]. Цитокины, продуцируемые $CD8^+$ Т-лимфоцитами, в основном относятся к Tc1-типу. Продуцируемые Tc1-лимфоцитами IFN- γ , TNF- α , TNF- β активируют цитотоксические функции макрофагов и гранулоцитов.

Однако не все цитотоксические лимфоциты синтезируют цитокины Тс1-типа. Сразу несколькими исследовательскими группами было продемонстрировано, что $CD8^+$ Т-лимфоциты могут синтезировать цитокины Тс2-типа в результате дифференцировки *in vivo* [Cerwenka, 1998; Maggi, 1994] и *in vitro* [Cronin, 1995; Sad, 1995]. TGF- β и IL-6 способствуют дифференцировке $CD8^+$ Т-лимфоцитов в нецитотоксические IL-17-секретирующие клетки. IL-17 $^+$ CD8 $^+$ Т-лимфоциты демонстрируют уникальный гранзим В-IFN- γ IL-10 фенотип. Уровень мРНК для Th2/Тс2-транскрипционного фактора GATA3 и Th1/Тс1-транскрипционного фактора T-bet снижен в Тс-лимфоцитах, дифференцирующихся в присутствии TGF- β и IL-6. Кроме того, в этих клетках повышена экспрессия ROR- γ t, ключевого транскрипционного фактора Th17-лимфоцитов. Данные результаты демонстрируют существование популяции IL-17-секретирующих $CD8^+$ Т-лимфоцитов, которые не принадлежат ни к Тс1, ни к Тс2-субпопуляциям, а могут быть категоризированы как нецитотоксические Тnc17-лимфоциты [Liu, 2007]. К сожалению, роль минорных субпопуляций цитотоксических Т-лимфоцитов (Тс2, Тnc17) при вирусных инфекциях остается малоизученной.

4.1. Т-клеточный ответ на энтеровирусы

В ранних исследованиях иммунного ответа на EV было показано, что мононуклеары играют существенную роль в контроле вирусной репликации. Активная репликация вируса происходит в сердце мышей с комбинированными иммунодефицитами (в отсутствие зрелых Т- и В-клеток), в этом случае инфекция ассоциирована с развитием тяжелых миокардитов и высоким уровнем смертности. Вирус-специфическая цитотоксичность была продемонстрирована *in vitro* бо-

лее 30 лет назад [Wong, 1977]. Более поздние исследования показали, что у CVB3-инфицированных мышей формируется $\alpha\beta$ и $\gamma\delta$ цитотоксический Т-лимфоцитарный ответ, хотя во многих случаях цитотоксическая активность была направлена на неинфицированные клетки, что позволило предположить, что EV могут выступать триггерами аутоиммунных процессов [Huber, 1992]. $\alpha\beta$ CD4 $^+$ и CD8 $^+$ Т-лимфоциты участвуют в ограничении вирусной репликации, однако их участие в противовирусной защите ассоциировано с развитием иммунопатологических реакций и миокардитов. У CD8-дефицитных C57BL/6-мышей ($\beta 2m^{-/-}$ или CD8-дефицитные CD4 $^{-/-}$ мыши) CVB3-ассоциированный миокардит и смертность полностью исключены, однако титр вируса в сердечной ткани гораздо более высокий [Henke, 1995]. CD8 $^+$ Т-клетки чрезвычайно важны в контроле CVB4: CD8 $^{-/-}$ C57BL/6-мыши, инфицированные CVB4, демонстрируют более высокий уровень смертности по сравнению с контролем. Напротив, CD8 $^+$ Т-клеточный дефицит у CVB4-инфицированных BALB/c-мышей снижает смертность до 50% [Ramsingh, 1999]. Эксперименты, проводимые на других мышинных линиях (BALB/c, DBA/2, A/J), свидетельствуют об участии CD4 $^+$ и CD8 $^+$ Т-клеточных субпопуляций в развитии миокардитов и/или панкреатитов при CVB-инфекции.

CD8 $^+$ Т-клеточный ответ на энтеровирусы

CD8 $^+$ Т-клетки, специфичные для эпитопов 3A, 3С и 3D-протеинов, были идентифицированы в исследованиях при CVB3-инфекции у людей, но *ex vivo* частота этих клеток настолько мала, что их детекция возможна только в результате двухнедельной рестимуляции пептидным антигеном *in vitro* [Weinzierl, 2008]. CVB3-специфический CD8 $^+$ Т-клеточный ответ был описан у H-2 b -мышей (D b /VP2 $_{285-293}$ и K b /3D $_{2170-217}$),

но частота специфических лимфоцитов на восьмой день инфекции также была очень низкой (<1 % of CD8⁺ лимфоцитов) [Jakel, 2009]. У человека были идентифицированы CD8⁺ Т-лимфоциты памяти, специфичные к эпитопам CVB4 2С-протеина, но в очень небольшом количестве *ex vivo* [Varela-Calvino, 2004]. Все эти исследования позволяют сделать общее заключение, что CVB-инфекция индуцирует слабый CD8⁺ Т-клеточный ответ. Подобный вывод противоречит картине, наблюдаемой при многих вирусных инфекциях и противовирусной вакцинации с преобладанием вирус-специфических CD8⁺ Т-лимфоцитов (Epstein-Barr вирус, вирус желтой лихорадки [Miller, 2008]).

Для того чтобы оценить эпитоп-специфический Т-клеточный ответ на EV у мышей, был синтезирован рекомбинантный CVB3 (rCVB3.6), который экспрессировал известные CD8⁺ и CD4⁺ Т-клеточные эпитопы. Было показано, что ни дикий тип, ни rCVB3 не вызывают заметной активации CD8⁺ или CD4⁺ Т-клеток *in vivo*. Отсутствие CD8⁺ Т-клеточного ответа не может быть связано с низкой иммуногенностью EV-кодируемых протеинов, поскольку экспрессия тех же самых эпитопов из DNA-вакцин приводит к формированию выраженного CD8⁺ Т-клеточного ответа [Kemball, 2008], а DNA-иммунизация при помощи CVB3 VP1 индуцирует появление CD8⁺ Т-клеток [Yue, 2009]. Используя эпитоп-специфические CD8⁺ трансгенные Т-клетки в качестве сенсоров для оценки *in vivo* антигенной презентации rCVB3.6, было продемонстрировано, что этот вирус может практически полностью ингибировать презентацию антигена посредством МНС I пути, что позволяет ему избегать CD8⁺ Т-клеточного иммунитета [Kemball, 2009]. Однако CVB-специфичные CD8⁺ Т-лимфоциты памяти могут обеспечивать определенный уровень защиты от инфекции у серонегативных мышей [Slifka, 2001 (a)]. Эти выводы кажутся противоречивыми. Если вирус предотвращает презентацию посредством МНС I, то как CD8⁺ Т-клетки памяти могут принимать участие в контроле

CVB3-инфекции? CD8⁺ Т-клетки памяти могут реагировать на более низкие уровни комплексов МНС/пептид, чем naive CD8⁺ Т-клетки [Slifka, 2001]. Таким образом, можно предположить, что количество комплексов МНС/эпитоп, которое экспрессируется на клетках, инфицированных CVB3 (или другим EV), слишком мало, чтобы индуцировать ответ CD8⁺ Т-клеток (что объясняет низкий уровень НПЭВ-специфичных CD8⁺ Т-клеток во время первичной инфекции) [Kemball, 2009], но достаточно, чтобы активировать CD8⁺ Т-лимфоциты памяти [Kemball, 2008]. Это объясняет, почему эти клетки могут обеспечить защиту от CVB3 [Slifka, 2001 (б)]. Может ли CVB3 препятствовать развитию Т-клеточного ответа, нарушая активацию и/или функционирование DC, включая секрецию цитокинов и презентацию МНС-рестриктированных вирусных эпитопов? CVB3-инфекция C57BL/6-мышей приводит к повышению частоты pDC и CD11c⁺ DC в селезенке и двукратному увеличению соотношения CD8⁺: CD4⁺ DC на восьмой день инфекции [Weinzierl, 2008]. Хотя позитивные и негативные цепочки вирусной RNA обнаруживаются в DC *in vivo*, инфекционный вирус не образуется, что свидетельствует о том, что непродуктивная инфекция нарушает антигенную презентацию. По крайней мере два молекулярных механизма играют роль в минимизации презентации CVB эпитопов МНС I класса. CVB-белки, такие как 2B, 2BC и 3A, могут приводить к нарушению функционирования аппарата Гольджи, существенно снижая выход белков на клеточную поверхность; они также могут усиливать эндоцитоз, участвуя в интернализации протеинов, которые были представлены на поверхности клетки [Cornell, 2006; Cornell, 2007; Wessels, 2005; de Jong, 2006; Wessels, 2006 (a); Wessels, 2006 (б); de Jong, 2008]. Посредством этих механизмов вирусы формируют условия, в которых они оказываются «невидимыми» для CD8⁺ Т-лимфоцитов и, возможно, «неприкосновенными» для цитокинов (поскольку клеточные поверхности обеднены рецепторами для этих молекул).

CD4⁺ Т-клеточный ответ на энтеровирусы

CVB4-специфические Т-лимфоциты, полученные от доноров, распознают эпитопы капсидных белков, которые являются консервативными у многих EV [Marttila, 2002]. Т-лимфоциты вирус-инфицированных мышей пролиферируют *in vitro* при стимуляции синтетическими пептидами, воспроизводящими CVB3 VP1 последовательности [Huber, 1993]. Кроме того, были изолированы VP1-реактивные CD4⁺ Т-клеточные клоны [Huber, 1994]. CD4⁺ Т-клеточный ответ против нативных эпитопов CVB4 или эпитопов рекомбинантного CVB4 был обнаружен у мышей [Halim, 2001]. В отличие от слабой презентации вирусных антигенов в контексте МНС I класса МНС II-рестриктированные вирусные эпитопы презентуются на уровне, достаточном для индукции первичного вирус-специфического CD4⁺ Т-клеточного ответа. EV-специфические CD4⁺ Т-лимфоциты у мышей имеют эффекторный фенотип Th1-профиля, формируют Т-лимфоциты памяти, активно пролиферирующие при реактивации и быстро созревающие во вторичные эффекторные клетки, способные синтезировать различные цитокины [Kemball, 2009].

4.2. Гуморальный ответ на энтеровирусную инфекцию

ЭВИ индуцирует быстрый и мощный нейтрализующий гуморальный ответ. Первыми появляются IgM-антитела и у человека [Dörries, 1983], и у мышей [Lodge, 1987]. По мере того как снижаются титры EV-специфических IgM-антител, титр вирус-специфических IgG-антител увеличивается и сохраняется на протяжении достаточно длительного периода [Lodge, 1987]. У человека нейтрализующий IgM-ответ (и се-

ротип-специфический, и кросс-реактивный) в основном направлен на VP1-протеин [Dörries, 1983]. Формирование гуморального ответа во многом зависит от CD4⁺ Т-лимфоцитов, многие исследования свидетельствуют о том, что это утверждение очевидно для CVB3-инфекции; у МНС II^{-/-} мышей (у которых CD4⁺ Т-клеточный ответ серьезно поврежден) развивается слабый, не обладающий нейтрализующими свойствами CVB3-специфический IgG-ответ. Однако другие исследователи пришли к противоположным выводам. Т-дефицитные мыши вырабатывают нейтрализующие антитела, но в более низком титре, чем дикий тип. Это доказывает, что часть CVB-специфических антител/В клеточного ответа является Т-независимыми [Hashimoto, 1978; Woodruff, 1974], и CD4^{-/-} мыши могут формировать гуморальный нейтрализующий ответ [Henke, 1995]. На мышинных моделях также были изучены гендер-специфические особенности гуморального иммунного ответа: у BALB/с-мышей женского пола преобладали Th2-лимфоциты в ответ на CVB и в основном синтезировались антитела IgG1-изотипа, в то время как у самцов имел место Th1-ответ и преобладали IgG2a-антитела [Huber, 1994].

ЭВИ не могут эффективно контролироваться в отсутствие антител. Существует ряд примеров ЭВИ у детей с агаммаглобулинемией; инфекция проникает и персистирует в ЦНС, приводя к серьезным, часто смертельным менингоэнцефалитам [Katamura, 2002]. Хронические инфекции, вызванные другими EV, часто диагностируются у пациентов с X-сцепленной агаммаглобулинемией [Misbah, 1992]. Значение антител при ЭВИ можно подтвердить следующими фактами: пассивный перенос иммуноглобулинов приводит к снижению вирусной нагрузки [Geller, 1995], и материнские антитела (преимущественно получаемые с грудным молоком) предотвращают инфицирование новорожденных мышат [Modlin, 1987].

4.3. Адаптивный иммунный ответ при инфицировании отдельными видами энтеровирусов

Человеческие энтеровирусы группы А

Наиболее хорошо изученным патогеном этого вида является EV71. Вирус индуцирует образование антител класса IgM, которые можно обнаружить на второй день после инфицирования, а также мощный нейтрализующий IgG-ответ, который направлен на эпитопы N-терминального сегмента VP1. При переносе нейтрализующие антитела обеспечивают защиту от летальной инфекции новорожденных мышей. Исследования, проведенные на knock-out-мышьях, показали, что В-клетки имеют решающее значение в иммунном ответе при EV71-инфекции, а В-дефицитные мыши, которым были введены вирус-специфические антитела либо до, либо во время EV71-инфекции, характеризовались более низкими титрами вируса и уровнем смертности. У EV71-позитивных пациентов обнаружены клетки памяти Th1-типа, специфичные трем эпитопам VP1 [Foo, 2008].

Человеческие энтеровирусы группы В

CVB — наиболее известные патогены этого вида, которые являются возбудителями острых и хронических заболеваний, включая миокардиты, DCM, панкреатиты и асептические менингиты. Инфицирование этими вирусами приводит к развитию быстрого и мощного нейтрализующего гуморального ответа. Вирус-специфические антитела класса IgM появляются в течение первой недели инфекции, вслед за чем развивается нейтрализующий IgG-ответ. Титры

CVB3-специфических IgM-антител снижаются со временем, в то время как IgG-антитела продолжают персистировать. Исследования, проведенные на Т-дефицитных (nude) мышьях, показали, что некоторые из CVB-специфичных антител являются Т-независимыми [Hashimoto, 1978]. Однако установлено и участие CD4⁺ Т-клеток в индукции гуморального иммунного ответа. В-клетки являются мишенью для CVB и могут служить резервуаром для вируса в ходе персистирующей вирусной инфекции. Клетки, содержащие вирусную RNA, возможно В-лимфоциты, обнаруживают в фолликулах селезенки и герминативных центрах [Anderson, 1996; Jarasch, 2007]. Приблизительно 1 % В-лимфоцитов инфицируются CVB3 in vivo, эти клетки могут принимать участие в системном распространении вируса в организме. Т-клетки также участвуют в контроле CVB-инфекции, хотя и менее эффективно, чем антитела. CVB индуцируют слабый CD8⁺ Т-клеточный ответ. Тем не менее обнаруживают CD4⁺ Т-клетки, специфические эпитопам, экспрессируемым CVB4 [Halim, 2000; Halim, 2001].

Человеческие энтеровирусы группы С

Наиболее известным патогеном этого вида является PV. Перенесенная инфекция и вакцинация приводят к формированию гуморального иммунитета, который тем не менее не является стерильным, и возможно повторное инфицирование. Чувствительность к реинфицированию, по-видимому, контролируется IgA [Buisman, 2008]. PV-обусловленная пролиферация Т-клеток наблюдается у вакцинированных детей. Однако PV-специфический Т-клеточный ответ у OPV-вакцинированных детей слабее, чем у взрослых. OPV индуцирует формирование МНС II-рестриктированных CD4⁺ Т-клеток памяти, специфичных эпитопам всех четырех белков капсида. CD8⁺ Т-клетки, появляющиеся после вакцинации, являются долгоживущими, но, как и в случае CVB-специфического ответа,

их детекция возможна только после нескольких рестимуляций *in vitro*; это доказывает, что число специфических Т-клеток *in vivo* очень мало. Мыши естественным образом не инфицируются PV, но PVR-трансгенные животные (PVRTg) позволяют проводить анализ Т- и В-клеточного ответа и изучать их роль в противовирусной защите. Адоптивный перенос PV-праймированных В-клеток вместе с VP4-специфическими CD4⁺ Т-клетками предотвращал развитие у PVR-Tg мышей смертельного заболевания при инфицировании PV.

Список цитируемой литературы

1. Anderson D. R., Wilson J. E., Carthy C. M., Yang D., Kandolf R., McManus B. M. Direct interactions of coxsackievirus B3 with immune cells in the splenic compartment of mice susceptible or resistant to myocarditis. *J. Virol.* 1996, 70, 4632–4645.
2. Buisman A. M., Abbink F., Schepp R. M., Sonsma J. A., Herremans T., Kimman T. G. Preexisting poliovirus-specific IgA in the circulation correlates with protection against virus excretion in the elderly. *J. Infect. Dis.* 2008, 197 (5), 698–706.
3. Cerwenka A., Carter L. L., Reome J. B. et al. In vivo persistence of CD8 polarized T cell subsets producing type 1 or type 2 cytokines. *J. Immunol.* 1998, 161, 97–105.
4. Cornell C. T., Kiosses W. B., Harkins S., Whitton J. L. Coxsackievirus B3 proteins directionally complement each other to downregulate surface MHC class I. *J. Virol.* 2007, 81, 6785–6797.
5. Cornell C. T., Kiosses W. B., Harkins S., Whitton J. L. Inhibition of protein trafficking by coxsackievirus B3: multiple viral proteins target a single organelle. *J. Virol.* 2006, 80, 6637–6647.
6. Cronin D. C., Stack R., Fitch F. W. IL-4 producing CD8⁺ N cell clones can provide B cell help. *J. Immunol.* 1995, 154, 3118.
7. Crotty S., Kersh E. N., Cannons J. et al. SAP is required for generating long-term humoral immunity. *Nature.* 2003, 421, 6785–97.

8. de Jong A. S., De M. F., van Dommelen M. M. et al. Functional analysis of picornavirus 2B proteins: effects on calcium homeostasis and intracellular protein trafficking. *J. Virol.* 2008, 82, 3782–3790.
9. de Jong A. S., Visch H. J., de Mattia F. et al. The coxsackievirus 2B protein increases efflux of ions from the endoplasmic reticulum and Golgi, thereby inhibiting protein trafficking through the Golgi. *J. Biol. Chem.* 2006, 281, 14144–14150.
10. Dörries R., Meulen V. Specificity of IgM antibodies in acute human coxsackievirus B infections analysed by indirect solid phase enzyme immunoassay and immunoblot technique. *J. Gen. Virol.* 1983, 64 (Pt 1), 159–167.
11. Foo D. G., MacAry P. A., Alonso S., Poh C. L. Identification of human CD4 T-cell epitopes on the VP1 capsid protein of enterovirus 71. *Viral Immunology.* 2008, 21 (2), 215–224.
12. Geller T. J., Condie D. A case of protracted coxsackie virus meningoencephalitis in a marginally immunodeficient child treated successfully with intravenous immunoglobulin. *J. Neurol. Sci.* 1995, 129, 131–133.
13. Halim S. S., Collins D. N., Ramsingh A. I. A therapeutic HIV vaccine using coxsackie-HIV recombinants: a possible new strategy. *AIDS Res Hum Retroviruses.* 2000, 16 (15), 1551–1558.
14. Halim S. S., Ostrowski S. E., Lee W. T., Ramsingh A. I. Immunogenicity of a foreign peptide expressed within a capsid protein of an attenuated coxsackievirus. *Vaccine.* 2001, 19 (7–8), 958–965.
15. Hashimoto I., Komatsu T. Myocardial changes after infection with coxsackie virus B3 in nude mice. *Br. J. Exp. Pathol.* 1978, 59, 13–20.
16. Henke A., Huber S. A., Stelzner A. et al. The role of CD8⁺ T lymphocytes in coxsackievirus B3-induced myocarditis. *J. Virol.* 1995, 69, 6720–6728.
17. Huber S., Polgar J., Moraska A., Cunningham M. W., Schwimmbeck P., Schultheiss P. T lymphocyte responses in CVB3-induced murine myocarditis. *Scand. J. Infect. Dis. Suppl.* 1993, 88, 67–78.
18. Huber S. A., Pfaeffle B. Differential Th1 and Th2 cell responses in male and female BALB/c mice infected with coxsackievirus group B type 3. *J. Virol.* 1994, 68, 5126–5132.
19. Huber S. A., Moraska A., Choate M. T cells expressing the $\gamma\delta$ T-cell receptor potentiate coxsackievirus B3-induced myocarditis. *J. Virol.* 1992, 66, 6541–6546.

20. Jakel S., Kuckelkorn U., Szalay G. et al. Differential interferon responses enhance viral epitope generation by myocardial immunoproteasomes in murine enterovirus myocarditis. *Am. J. Pathol.* 2009, 175, 510–518.
21. Jarasch N., Martin U., Zell R., Wutzler P., Henke A. Influence of pancaspase inhibitors on coxsackievirus B3-infected CD19⁺ B lymphocytes. *Apoptosis*. 2007, 12 (9), 1633–1643.
22. Johnston R. J., Poholec A. C., DiToro D. et al. Bcl6 and Blimp-1 are reciprocal and antagonistic regulators of T follicular helper cell differentiation. *Science*. 2009, 325 (5943), 1006–10.
23. Katamura K., Hattori H., Kunishima T., Kanegane H., Miyawaki T., Nakahata T. Non-progressive viral myelitis in X-linked agammaglobulinemia. *Brain Dev.* 2002, 24, 109–111.
24. Kemball C. C., Harkins S., Whitmire J. K., Flynn C. T., Feuer R., Whitton J. L. Coxsackievirus B3 inhibits antigen presentation in vivo, exerting a profound and selective effect on the MHC class I pathway. *PLoS Path.* 2009, 5, E1000618.
25. Kemball C. C., Harkins S., Whitton J. L. Enumeration and functional evaluation of virus-specific CD4⁺ and CD8⁺ T cells in lymphoid and peripheral sites of coxsackievirus B3 infection. *J. Virol.* 2008, 82, 4331–4342.
26. Liu S. J., Tsai J. P., Shen C. R. et al. Induction of a distinct CD8 Tnc17 subset by transforming growth factor- β and interleukin-6. *J. Leukoc. Biol.* 2007, 82, 354–360.
27. Lodge P. A., Herzum M., Olszewski J., Huber S. A. Coxsackievirus B-3 myocarditis. Acute and chronic forms of the disease caused by different immunopathogenic mechanisms. *Am. J. Pathol.* 1987, 128, 455–463.
28. Maggi, E., Giudizi M. G., Biagiotti R. et al. Th2-like CD8⁺ T cells showing B cell helper function and reduced cytolytic activity in human immunodeficiency virus type 1 infection. *J. Exp. Med.* 1994, 180, P. 489.
29. Marttila J., Hyoty H., Vilja P. et al. T cell epitopes in coxsackievirus B4 structural proteins concentrate in regions conserved between enteroviruses. *Virology*. 2002, 293, 217–224.
30. McHeyzer-Williams L. J., McHeyzer-Williams M. G. Developmentally distinct Th cells control plasma cell production in vivo. *Immunity*. 2004, 20 (2), 231–42.
31. McHeyzer-Williams L. J., Pelletier N., Mark L. et al. Follicular helper T cells as cognate regulators of B cell immunity. *Curr. Opin. Immunol.* 2009, 21 (3), 266–73.
32. Mescher M. F., Curtsinger J. M., Agarwal P. et al. Signal required for programming effector and memory development by CD8⁺ T cells. *Immunol. Rev.* 2006, 211, 81–92.
33. Miller J. D., van der Most R. G., Akondy R. S. et al. Human effector and memory CD8⁺ T cell responses to smallpox and yellow fever vaccines. *Immunity*. 2008, 28, 710–722.
34. Misbah S. A., Spickett G. P., Ryba P. C. et al. Chronic enteroviral meningoencephalitis in agammaglobulinemia: case report and literature review. *J. Clin. Immunol.* 1992, 12, 266–270.
35. Modlin J. F., Bowman M. Perinatal transmission of coxsackievirus B3 in mice. *J. Infect. Dis.* 1987, 156, 21–25.
36. Parish I. A., Kaech, S. M. Diversity in CD8 (+) T cell differentiation. *Curr. Opin. Immunol.* 2009, 21, 291–297.
37. Ramsingh A. I., Lee W. T., Collins D. N. et al. T cells contribute to disease severity during coxsackievirus B4 infection. *J. Virol.* 1999, 73, 3080–3086.
38. Sad S., Marcotte R., Mossman T. R. Cytokine-induced differentiation of precursor mouse CD8⁺ T cells into cytotoxic CD8⁺ cells secreting TH1 or TH2 cytokines. *Immunity*. 1995, 2, 271.
39. Slifka M. K., Pagarigan R. R., Mena I., Feuer R., Whitton J. L. Using recombinant coxsackievirus B3 to evaluate the induction and protective efficacy of CD8⁺ T cells during picornavirus infection. *J. Virol.* 2001 (a), 75, 2377–2387.
40. Slifka M. K., Whitton J. L. Functional avidity maturation of CD8⁺ T cells without selection of higher affinity TCR. *Nat. Immunol.* 2001 (6), 2, 711–717.
41. Varela-Calvino R., Skowera A., Arif S., Peakman M. Identification of a naturally processed cytotoxic CD8 T-cell epitope of coxsackievirus B4, presented by HLA-A2.1 and located in the PEVKEK region of the P2C nonstructural protein. *J. Virol.* 2004, 78, 13399–13408.
42. Weinzierl A. O., Szalay G., Wolburg H. et al. Effective chemokine secretion by dendritic cells and expansion of cross-presenting CD4⁻/CD8⁺ dendritic cells define a protective phenotype in the mouse model of coxsackievirus myocarditis. *J. Virol.* 2008, 82, 8149–8160.

43. Wessels E., Duijsings D., Lanke K. H. et al. Effects of picornavirus 3A proteins on protein transport and GBF1-dependent COP-I recruitment. *J. Virol.* 2006 (a), 80, 11852–11860.
44. Wessels E., Duijsings D., Niu T. K. et al. A viral protein that blocks Arf1-mediated COP-I assembly by inhibiting the guanine nucleotide exchange factor GBF1. *Dev. Cell.* 2006 (6), 11, 191–201.
45. Wessels E., Duijsings D., Notebaart R. A., Melchers W. J., van Kuppeveld F. J. A proline-rich region in the coxsackievirus 3A protein is required for the protein to inhibit endoplasmic reticulum-to-Golgi transport. *J. Virol.* 2005, 79, 5163–5173.
46. Whitmire J. K., Benning N., Eam B. et al. Increasing the CD4+T cell precursor frequency leads to competition for IFN-gamma thereby degrading memory cell quantity and quality. *J. Immunol.* 2008, 180 (10), 6777–85.
47. Whitmire J. K. Induction and function of virus-specific CD4+ T cell responses. *Virology.* 2011, 411 (2), 216–228.
48. Whitmire J. K., Benning N., Whitton J. L. Precursor frequency, non-linear proliferation and functional maturation of virus-specific CD4+T cells. *J. Immunol.* 2006, 176 (5), 3028–36.
49. Wong C. Y., Woodruff J. J., Woodruff J. F. Generation of cytotoxic T lymphocytes during coxsackievirus B-3 infection. Model and viral specificity. *J. Immunol.* 1977, 118, 1159–1164.
50. Woodruff J. F., Woodruff J. J. Involvement of T lymphocytes in the pathogenesis of coxsackie virus B3 heart disease. *J. Immunol.* 1974, 113, 1726–1734.
51. Yue Y., Xu W., Hu L., Jiang Z., Xiong S. Enhanced resistance to coxsackievirus B3-induced myocarditis by intranasal co-immunization of lymphotactin gene encapsulated in chitosan particle. *Virology.* 2009, 386, 438–447.
52. Yusuf I., Kageyama R., Monticelli L. et al. Germinal center T follicular helper cell IL-4 production is dependent on signaling lymphocytic activation molecule receptor (CD150). *J. Immunol.* 2010, 185 (1), 190–202.
53. Zhang N., Bevan M. J. CD8+T cells: foot soldiers of the immune system. *Immunity.* 2011, 35 (2), 161–168.

5. Ассоциированные с полом и возрастом особенности иммунного ответа на энтеровирусы

5.1. Ассоциированные с полом особенности иммунного ответа при энтеровирусной инфекции с серозным менингитом

Несмотря на то что представители мужского и женского пола в равной степени подвержены инфицированию EV, частота развития таких клинических форм ЭВИ, как острый миокардит и серозный менингит (СМ), выше среди лиц мужского пола [Jimenez Cabalero, 2011; Niar, 2012]. Анализ 1720 случаев заболевания ЭВИ с СМ в г. Екатеринбурге с 2003 по 2014 год показал, что представители мужского пола среди заболевших составляют в среднем 61,3% (58,1–64,3%). Соотношение случаев заболевания, зафиксированных у представителей мужского и женского пола, в среднем составляющее 1,58 (1,39–1,80), варьирует от 1,2 в возрасте до 1 года до 2,6 у детей 14 лет. Тенденция к повышению соотношения в пользу лиц мужского пола наблюдается с увеличением возраста пациентов [Харитонов, 2015].

Сравнительный анализ данных иммунологического обследования продемонстрировал, что во всех возрастных группах существует определенный комплекс показателей, характеризующих

системы как врожденного, так и адаптивного иммунитета, отличающихся у заболевших лиц мужского и женского пола. У мальчиков и юношей ЭВИ с СМ в большей степени ассоциирована с увеличением содержания клеточных компонентов противовирусного иммунного ответа: Th1 и Tc1-лимфоцитов, NK, а также поглотительной активности нейтрофилов и моноцитов, в то время как пациентки женского пола наряду с повышением содержания в периферической крови Т-хелперов, в том числе Th2-клеток, характеризуются выраженным увеличением показателей гуморального иммунного ответа: высоким содержанием В-лимфоцитов, уровнем общих иммуноглобулинов IgM-класса и ЦИК [Лагерева, 2015 (а); Лагерева, 2015 (б)]. Данные о преимущественной дифференцировке при ЭВИ Th1-лимфоцитов у особей мужского пола и Th2 у женского ранее получены на моделях CVB3-миокардита у мышей.

Как и у человека, острый энтеровирусный миокардит у мышей чаще развивается у особей мужского пола, и если у самок BALB/с-мышей преобладают Th2-лимфоциты в ответ на CVB3 и в основном синтезируются антитела IgG1-изотипа, то у самцов преимущественно имеет место Th1-ответ и преобладают IgG2a-антитела [Huber, 1994]. В экспериментах на C57Bl/6-мышьях также продемонстрировано, что CVB3-инфекция у самцов приводит к более выраженному острому воспалению миокарда, поскольку у самцов формируется Th1-воспалительный ответ, в то время как у самок развивается ответ по Th2-типу [Roberts, 2013]. Возможные механизмы ассоциированных с полом особенностей поляризации иммунного ответа на НПЭВ представлены на рис. 5.1.

Несмотря на безусловное участие половых гормонов в формировании ассоциированных с полом особенностей иммунного ответа на НПЭВ, тот факт, что характерные отличия наблюдаются и у детей в возрасте, исключая значимые отличия в базовом содержании половых стероидов, позволяет предполагать наличие механизмов, не зависящих от их участия.

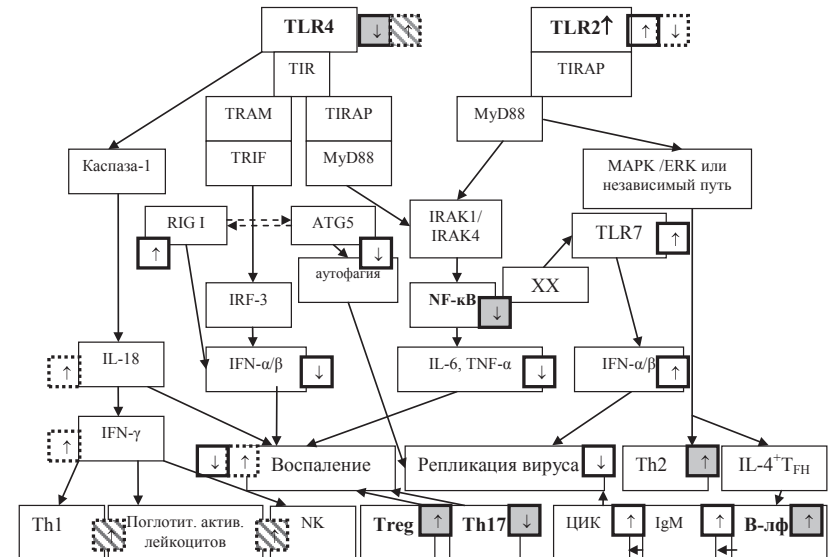


Рис. 5.1. Возможные механизмы формирования ассоциированного с полом иммунологического диморфизма при реализации иммунного ответа на неполиомиелитные энтеровирусы:

□ — изменения, наблюдаемые у представительниц женского пола, возможная регуляция с участием половых стероидов — серый цвет; ... — изменения, наблюдаемые у представителей мужского пола, возможная регуляция с участием половых стероидов — штриховка;

TLR2 — Toll-подобный рецептор 2; TLR4 — Toll-подобный рецептор 4; TLR7 — Toll-подобный рецептор 7; TIR — Toll/IL-1 рецептор резистентности; TIRAP — Toll/IL-1 рецептор домен-содержащий адаптерный белок; TRAM-TRIF — связанная адаптерная молекула; TRIF-TIR — домен-содержащий адаптер, индуцирующий IFN-β; MyD88 — белок первичного ответа миелоидной дифференцировки 88; RIG I — индуцируемый ретиноевой кислотой ген I; ATG5 — связанный с аутофагией ген 5; MAPK — митоген-активируемая протеинкиназа, ERK½ — киназы, регулируемые внеклеточными сигналами; NF-κB — ядерный фактор κB; IRAK1/IRAK4 — интерлейкин-1 рецептор-ассоциированная киназа 1 и 4; NK — естественный киллер; Treg — регуляторный Т-лимфоцит; Th1 — Т-хелпер первого типа; Th2 — Т-хелпер второго типа; IL-4⁺TFH-IL-4 — экспрессирующий фолликулярный Т-хелпер; IgM — иммуноглобулин класса М; X — половая хромосома; IFN-α/β — интерфероны 1-го типа; IFN-γ — интерферон-гамма; IL-18 — интерлейкин-18; IL-6 — интерлейкин-6; TNF-α — фактор некроза опухоли-альфа; ЦИК — циркулирующие иммунные комплексы; В-лф — В-лимфоцит

При CVB3-миокардитах у мышей показано разнонаправленное изменение экспрессии TLR2 и TLR4 на клетках врожденного и адаптивного иммунитета.

ЭВИ сопровождается увеличением экспрессии TLR2 у самок C57Bl/6-мышей, в то время как у самцов регистрируется повышение экспрессии TLR4 [Roberts, 2012]. Активация TLR4 индуцирует Th1-ответ в результате IL-18-опосредованных механизмов в большей степени, нежели классического IL-12/STAT4-IFN- γ сигнального пути [Fairweather, 2003; Frisancho-Kiss, 2006; Frisancho-Kiss, 2007]. В свою очередь, повышение при CVB3-инфекции экспрессии TLR2 у особей женского пола может быть связано с индукцией Th2-ответа [Fairweather, 2008]. Описаны механизмы Th2-поляризации с участием TLR2 путем индукции киназы, регулируемой экстраклеточными сигналами (extracellular signal-regulated kinase-ERK), и раннего ростового транскрипционного фактора c-Fos [Dillon, 2004], а также ERK-независимой индукции [Duraisingham, 2010]. Причины разнонаправленной регуляции экспрессии TLR у особей разного пола не до конца понятны. Гены, кодирующие TLR2 и TLR4, не связаны с X-хромосомой, а расположены у мышей на 3-й и 4-й хромосомах соответственно. В модулировании их экспрессии могут быть задействованы цитокины, половые гормоны и другие факторы, требующие дальнейшего изучения. В частности, к снижению экспрессии TLR4 при ЭВИ приводит повышение экспрессии T-клеточного иммуноглобулинового муцина-3 (Tim-3) на тучных клетках и макрофагах самок [Frisancho-Kiss, 2006; Frisancho-Kiss, 2007]. Возможно, в формировании ассоциированных с полом особенностей иммунного ответа при ЭВИ с CM у человека также задействована экспрессия TLR и других PRR. Однако экстраполяция результатов исследований TLR (и других механизмов врожденного иммунитета), проведенных на животных моделях, осложняется выраженными межвидовыми вариациями.

Половые стероиды оказывают иммуномодулирующее влияние на различные эффекторные клетки иммунной системы, регулируя в том числе и экспрессию TLR, и дифференцировку различных субпопуляций T-лимфоцитов. Действие эстрогенов носит комплексный, дозозависимый характер и зачастую приводит к противоположным результатам. С одной стороны, эстрадиол (E2) увеличивает экспрессию TLR4 на клетках врожденного иммунитета [Rettew, 2009]. С другой стороны, эстрогены способны ингибировать TLR4-индуцированный провоспалительный ответ у человека [Demyanets, 2006; Paimela, 2007]. Описано также про-Th1 влияние низких доз эстрогенов и ингибирующее действие E2 на Th1-ответ [Liu, 2003; Palaszynski, 2004], в том числе в результате регуляции активности NF- κ B [Feldman, 2007]. Стимуляция эстрогенами Th2-ответа продемонстрирована в исследованиях Giron-Gonzalez et al. [Giron-Gonzales, 2000], Fish et al. [Fish, 2008], Gonzalez et al. [Gonzalez, 2010]. Помимо эстрогенов в поляризации иммунного ответа у представительниц женского пола может играть роль прогестерон (P4), обладающий выраженным про-Th2 действием [Faas, 2000]. Кроме того, P4 ингибирует дифференцировку Th1-клеток [Miyaura, 2002]. Менее понятна роль андрогенов в регуляции дифференцировки T-эффекторов. Ряд исследований свидетельствует об участии тестостерона в повышении экспрессии TLR4 на APC [Frisancho-Kiss, 2007] и стимулирующем действии андрогенов на Th1-ответ у человека и грызунов [Frisancho-Kiss, 2006; Frisancho-Kiss, 2007], но эти результаты нуждаются в уточнении. Изучение влияния андрогенов затрудняет то обстоятельство, что тестостерон активировывает одновременно андрогеновые и эстрогеновые рецепторы в связи с конверсией тестостерона в эстрогены с участием ароматазы [Mendelsohn, 2005].

Влияние половых стероидов и особенности экспрессии TLR при ЭВИ создают условия для преимущественной дифференцировки Th1-лимфоцитов у представителей мужского

пола. Увеличение секреции IL-18, связанное с активацией TLR4 и дифференцировкой Th1-лимфоцитов, способствует также активации NK-лимфоцитов преимущественно у представителей мужского пола [Fairweather, 2003]. Стимулирующее действие на NK-клетки и фагоциты оказывают цитокины, синтезируемые собственно Th1 и Tc1-лимфоцитами (IFN- γ , TNF- α), что обуславливает повышение уровня показателей, характеризующих количественное содержание и функциональное состояние этих компонентов при ЭВИ с СМ, наблюдаемое у мальчиков и юношей. Повышенный уровень Th2 (Tc2)-субпопуляций у пациенток женского пола в определенной мере также является следствием уже описанного иммуномодулирующего действия половых гормонов на дифференцировку эффекторных субпопуляций T-лимфоцитов. Кроме того, половые стероиды регулируют созревание B-клеток и их функциональную активность [Sakiani, 2013], что обуславливает более эффективное формирование гуморального иммунного ответа у женщин.

В отличие от данных, полученных при CVB3-миокардитах у мышей, сопровождающихся увеличением содержания Th17-субпопуляции у инфицированных самцов и связанными с этим иммунопатологическими реакциями [Li, 2013], результаты проведенного нами исследования свидетельствуют о снижении содержания в периферической крови Th17 и Tc17-клеток при ЭВИ с СМ. При этом у мальчиков 4–7 лет содержание Th17-лимфоцитов в первую декаду заболевания было значительно ниже, чем у девочек. В течение длительного времени господствовала точка зрения, что E2 ингибирует образование Th17-клеток [Bebo, 2001] и продукцию IL-17 [Wang, 2009]. Однако Khan et al. показали, что E2 усиливает экспрессию IL-17 и ROR γ стимулированными спленоцитами мышей [Khan, 2010]. Таким образом, очевидно, что E2 регулирует образование Th17, однако эффект в данном случае также зависит от контекста. P4 ингибирует дифференцировку Th17-субпопуляций [Dosiou, 2008], в то время как действие андрогенов может при-

водить к увеличению синтеза IL-17A [Zhang, 2012]. Помимо регулирующего действия гормонов дифференцировка каждой T-хелперной линии частично зависит от ингибирующего эффекта альтернативных T-клеточных субпопуляций. Показано, что IFN- γ и IL-12, ключевые Th1-цитокины, подавляют дифференцировку Th17-клеток [Harrington, 2005]. Сниженное содержание IL-17-продуцирующих T-лимфоцитарных субпопуляций при ЭВИ с СМ, таким образом, может быть обусловлено ингибирующим действием на дифференцировку Th17/Tc17 эстрогенов и T-эффекторов первого типа.

Еще одним механизмом формирования ассоциированного с полом иммунологического диморфизма при ЭВИ является дисбаланс в экспрессии генов, кодируемых X-хромосомой [Arnold, 2009; Rubtsov, 2010]. Многие гены, кодируемые X-хромосомой, играют важную роль в модулировании ассоциированных с полом различий в формировании иммунного ответа на инфекционный агент и развитии иммуноопосредованной патологии [Libert, 2010]. К ним относятся гены таких PRR, как TLR7 и TLR8, участвующих в том числе в распознавании НПЭВ, цитокиновых рецепторов (например, Il2rg и Il13ra2) и транскрипционных факторов (например, Foxp3) [Fish, 2008]. Поэтому механизмы, связанные с частичной инактивацией генов, кодируемых X-хромосомой, также могут быть задействованы в регуляции активации, например Treg, при ЭВИ [Robinson, 2011]. Наконец, экспрессия связанных с аутофагией генов (autophagy-related genes — ATG), а именно ATG5, при ЭВИ также избирательно подавляется в основном у особей женского пола [Koenig, 2014]. Поскольку ATG5 — ATG12 ингибируют RIG-I-сигналинг, блокируя врожденный противовирусный иммунный ответ [Jounai, 2007], сниженный уровень ATG5 у самок в ходе ЭВИ обеспечивает, с одной стороны, снижение титра вируса в результате подавления процессов аутофагии, используемой НПЭВ для репликации, с другой стороны, стимулирует секрецию I IFN.

5.2. Возрастные особенности иммунного ответа при энтеровирусной инфекции с серозным менингитом

Естественные киллеры

Относительное содержание НК-клеток увеличивается в 1–10-е сутки от начала заболевания ЭВИ с СМ у детей до 14 лет. Абсолютное содержание НК достигает максимальных значений у детей 8–14 лет на 11–20-е сутки от начала заболевания и стабильно снижено у подростков и взрослых пациентов. Активное участие компонентов врожденного иммунитета в противовирусном иммунном ответе при ЭВИ с СМ у детей дошкольного возраста отмечено Хамановой Ю. Б. [Хаманова, 2013]. Низкий уровень НК-клеток описан у подростков с энтеровирусными менингитами [Бацкалевич, 2009]. Таким образом, значение НК-иммунитета в иммунном ответе при ЭВИ с СМ отличается у детей младшего возраста и в старших возрастных группах.

Содержание про- и противовоспалительных цитокинов в периферической крови

Данные о содержании цитокинов в периферической крови при ЭВИ с СМ чрезвычайно разнородны и носят порой противоречивый характер, в отличие от четких закономерностей, описанных для изменения их концентраций в ЦСЖ. Увеличение концентрации TNF- α при ЭВИ с СМ продемонстрировано в работах Ешмолова С. Н. [Ешмолов, 2013], Протасени И. И. [Протасеня, 2010 (а)] и Хамановой Ю. Б. [Хаманова, 2013]. Мишакина Н. О. описывает стабильное снижение уров-

ня данного цитокина у детей дошкольного возраста и подростков с ЭВИ с СМ [Мишакина, 2012]. В отношении IFN- γ и IL-4 отмечено и снижение, и повышение, и отсутствие изменения их концентрации при ЭВИ с СМ [Ешмолов, 2013; Мишакина, 2012; Протасеня, 2010 (а); Протасеня, 2010 (б)]. В исследованиях Ешмолова С. Н. [Ешмолов, 2013] и Протасени И. И. [Протасеня, 2010 (а)] описано повышение в крови уровня IL-1b и IL-8. Кроме того, исследователями отмечено увеличение в остром периоде заболевания уровня IL-6 [Мишакина, 2012; Протасеня, 2010 (а)].

Полученные нами данные демонстрируют, что ЭВИ с СМ почти во всех возрастных группах сопровождается увеличением содержания в периферической крови концентрации IFN- γ (с первой или со второй декады заболевания), при этом концентрация IFN- α значимо не отличается от показателей групп сравнения. Теоретически индукция синтеза I IFN должна происходить после распознавания НПЭВ TLR-3, RIG-I и MDA5. Однако в результате блокирования EV путей индукции синтеза I IFN практически не образуется IFN- β mRNA [Negishi, 2008]. Примечательно, что CVB3-репликация более эффективно происходит в TLR3-дефицитных (TLR3^{-/-}) спленоцитах, свидетельствуя о том, что CVB3-опосредованная активация TLR3 вносит вклад в противовирусный ответ. У TLR3-Tg Ifnar1^{-/-} мышей при введении анти-II IFN блокирующих антител титр вируса в сыворотке увеличивался в сотни раз. Данный факт подтверждает, что II IFN является основной эффекторной молекулой активации TLR3 in vivo [Negishi, 2008]. Поскольку RIG-I/MDA5-I IFN-путь — ключевой момент в противовирусном иммунном ответе, TLR3-II IFN-путь может быть задействован в распознавании и ответе на те вирусы (в том числе и EV), в отношении которых не формируется выраженный I IFN-ответ.

Дополнительным механизмом, активизирующим синтез IFN- γ как клетками врожденного иммунитета (NK), так

и дифференцирующимися в ходе адаптивного иммунного ответа Th1 и Tc1-лимфоцитами, является действие IL-18. Увеличение уровня IL-18 при НПЭВ-инфекциях описано при СМ у детей [Протасеня, 2010 (а); Хаманова, 2013] и на мышинных моделях CVB3-миокардита [Fairweather, 2003] и, по-видимому, является универсальной реакцией на НПЭВ. Подобно IL-1 β , IL-18 синтезируется в виде неактивного предшественника, нуждающегося в процессинге с помощью каспазы-1. Но в отличие от IL-1 β предшественник IL-18 конститутивно присутствует практически во всех клетках организма человека и животных, в том числе эндотелиальных клетках, кератиноцитах и интестинальных эпителиальных клетках в ЖКТ. Одним из возможных путей активации синтеза IL-18 является взаимодействие EV с TLR4, стимулирующее протеолитическое расщепление каспазы-1 подобно механизму, описанному для респираторно-синцитиального вируса [Kurt-Jones, 2000]. IL-18 способен индуцировать синтез IFN- γ , действуя синергично с IL-12, повышая экспрессию IL-12R β 2, а также STAT-независимым путем [Fairweather, 2003]. Кроме того, IL-18 проявляет характеристики других провоспалительных цитокинов, т. е. повышает экспрессию адгезионных молекул, синтез оксида азота и продукцию хемокинов [Dinarello, 2013].

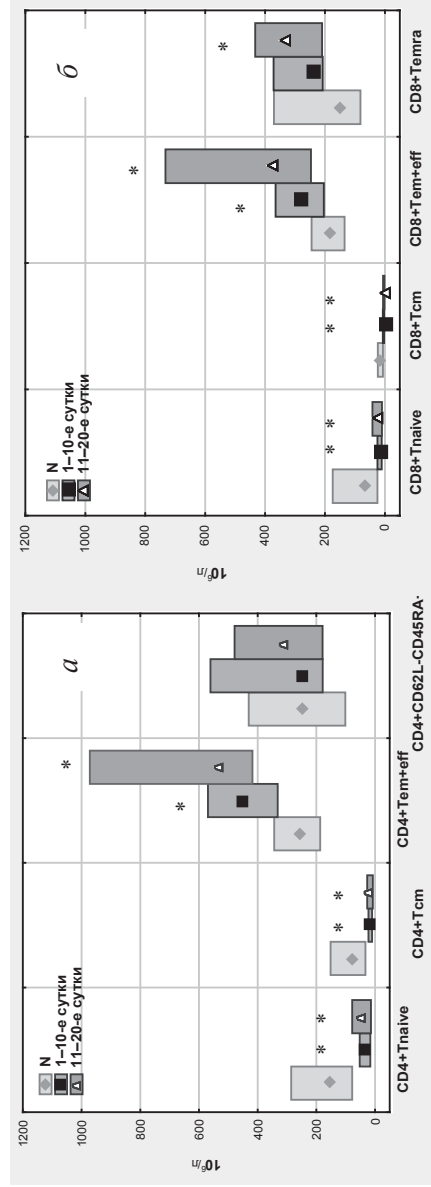
Особенности изменения содержания субпопуляций Т-лимфоцитов при ЭВИ с СМ в разных возрастных группах

Содержание основных Т-лимфоцитарных субпопуляций в остром периоде ЭВИ с СМ также зависит от возраста пациентов [Лагерева, 2014 (а)]. Феномен транзитной относительной Т-лимфопении наблюдается у детей вплоть до 14-летнего возраста и не характерен только для подростков и взрослых. Абсолютное содержание Т-лимфоцитов снижено у детей 1–7 лет.

Содержание в периферической крови различных субпопуляций Т-лимфоцитов в остром периоде инфекционного заболевания представляет собой результат их динамического перераспределения в ходе активной миграции наивных лимфоцитов в периферические лимфоидные органы при формировании иммунного ответа; пролиферации и выхода примированных антигеном Т-лимфоцитов из периферических лимфоидных органов в кровь; миграции в ткани-мишени; специфического удерживания Т-лимфоцитов в тканях; выхода в периферический кровоток, возвращения в периферические лимфатические органы, апоптоза и т. д. [Marelli-Berg, 2010].

Транзитное снижение в периферической крови содержания Т-лимфоцитов при ЭВИ с СМ обусловлено снижением уровня наивных CD4⁺ и CD8⁺ Т-лимфоцитов, а также CD4⁺ и CD8⁺ центральных Т-лимфоцитов памяти (T_{CM}) (рис. 5.2) [Лагерева, 2014 (б)]. T_{CM} сохраняют экспрессию хоминговых рецепторов: L-селектина и хемокинового рецептора (CCR7) и подобно наивным клеткам способны мигрировать в периферические лимфоидные органы в ходе формирования иммунного ответа, а также локализоваться в очагах воспаления. Поскольку наивные Т-лимфоциты и T_{CM} в ответ на TCR-активацию синтезируют в основном IL-2 [McKinstry, 2010], снижение их содержания в остром периоде ЭВИ с СМ коррелирует с уменьшением численности IL-2⁺ Т-хелперов и Т-цитотоксических лимфоцитов.

В отличие от наивных CD4⁺ и CD8⁺ Т-лимфоцитов и T_{CM}, содержание коротко живущих Т-эффекторов (T_{EFF}) и эффекторных Т-лимфоцитов памяти (T_{EM}) (как CD4⁺, так и CD8⁺ фенотипа) в динамике заболевания увеличивается.



Примечание: $p < 0,05$ к показателям группы сравнения (N)

Рис. 5.2. Абсолютное содержание наивных Т-лимфоцитов и различных субпопуляций Т-клеток памяти в пуле клеток $CD3^+CD4^+$ (а) и $CD3^+CD8^+$ (б) в динамике острого периода энтеровирусной инфекции с серозным менингитом у детей 8–14 лет (◇, □, Δ — Me, LQ-UQ)

T_{EFF} и $CD62L^-$ -эффекторные клетки памяти обладают большим количеством функций по сравнению с T_{CM} : они поляризованы в отношении продукции цитокинов и продуцируют не только $IL-2$, но и эффекторные цитокины: $IFN-\gamma$, $IL-4$, $TNF-\alpha$ и т. д. Таким образом, пул T_{EFF} и T_{EM} у человека включает в себя дифференцированные Th1, Th2, а также другие субпопуляции Т-хелперов и CTL. Образование в динамике инфекционного процесса при ЭВИ с СМ коротко живущих T_{EFF} и T_{EM} приводит к восстановлению общей численности лимфоцитов в периферическом кровотоке уже на 11–20-е сутки от начала заболевания и сопровождается изменением содержания в периферической крови основных эффекторных субпопуляций Т-лимфоцитов.

В остром периоде заболевания ЭВИ с СМ происходит значимое повышение относительного и абсолютного содержания $IFN-\gamma^+$ и $TNF-\alpha^+$ Тс1-лимфоцитов (у детей до 14 лет). В отличие от цитотоксических Т-лимфоцитов, содержание $IFN-\gamma^+$ Th1-субпопуляции в остром периоде ЭВИ с СМ значительно увеличивается только у детей до 7 лет, а содержание $CD3^+CD4^+TNF-\alpha^+$ -лимфоцитов снижено у детей старше 7 лет на протяжении всего периода обследования. Описанный феномен может быть обусловлен и активной миграцией данных субпопуляций лимфоцитов в «заинтересованные» ткани, в т. ч. ЦНС, и меньшей активацией $CD4^+$ Т-клеточного ответа. В частности, последние исследования показывают, что для антигенной презентации с помощью МНС II класса важную роль играет аутофагия [Lee H. K., 2010], поэтому логично предположить, что влияние НПЭВ на аутофагию может оказывать подавляющее действие на вирус-специфический $CD4^+$ Т-клеточный ответ [Kemball, 2010]. Повышение численности Th2 и Тс2-субпопуляций характеризует противовирусный иммунный ответ при ЭВИ с СМ во всех возрастных группах. Увеличение содержания Th2-лимфоцитов ранее отмечено при ЭВИ, в частности в остром периоде болезни HFMD (hand, foot

and mouth disease), вызванной EV71 [Wei, 2013]. Об активации канонических Th2-субпопуляций при ЭВИ с СМ свидетельствует эозинофилия в остром периоде энтеровирусных менингитов. Одним из вероятных механизмов Th2-поляризации дифференцировки Т-эффекторов при ЭВИ может быть индукция под действием dsRNA НПЭВ на PRR эпителиальных клеток, базофилов и ДК синтеза тимического стромального лимфопоэтина (TSLP) [Окоуе, 2011]. Опубликованы данные, свидетельствующие о том, что к экспрессии TSLP приводит активация TLR3 [Kato, 2007] и RIG-I [Lee H. C., 2012] — основных сенсоров RNA-содержащих вирусов, в том числе НПЭВ. TSLP воздействует на антигенпредставляющие клетки или непосредственно на Т-лимфоциты, повышая экспрессию OX40L, приводя к индукции синтеза CCL17 и CCL22 и подавляя продукцию IL-12 [Ito, 2005], что создает оптимальные условия для дифференцировки IL-4⁺ предшественников Th2-лимфоцитов и одновременно может быть причиной снижения уровня дифференцировки Th1 и других эффекторных субпопуляций Т-хелперов. В остром периоде ЭВИ с СМ установлено снижение содержания Th17-лимфоцитов у детей 1–14 лет. Абсолютное содержание Tnc17-клеток значительно не изменяется ни в одной возрастной группе.

Список цитируемой литературы

1. Arnold A. P., Chen X. What does the “four core genotypes” mouse model tell us about sex differences in the brain and other tissues? *Front. Neuroendocrinol.* 2009, 30, 1–9.
2. Bebo B. F., Fyfe-Johnson A., Adlard K. et al. Low-dose estrogen therapy ameliorates experimental autoimmune encephalomyelitis in two different inbred mouse strains *J. Immunol.* 2001, 166 (3), 2080–2089.
3. Demyanets S., Pfaffenberge S., Kaun C. et al. The estrogen metabolite 17 β -dihydroequilenin counteracts interleukin-1 α induced expres-

- sion of inflammatory mediators in human endothelial cells in vitro via NF- κ B pathway. *Thromb. Haemost.* 2006, 95, 107–116.
4. Dillon S., Agrawal A., van Dyke T. et al. A Toll-like receptor 2 ligand stimulates Th2 responses in vivo via induction of extracellular signal-regulated kinase mitogen-activated protein kinase and c-Fos in dendritic cells. *J. Immunol.* 2004, 172, 4733–4743.
 5. Dinarello C. A., Novick D., Kim S. et al. Interleukin-18 and IL-18 binding protein. *Front. Immunol.* 2013, doi: 10.3389/fimmu.2013.00289.
 6. Dosiou C., Hamilton A. E., Pang Y. et al. Expression of membrane progesterone receptors on human T lymphocytes and Jurkat cells and activation of G-proteins by progesterone. *J. Endocrinol.* 2008, 196 (1), 67–77.
 7. Duraisingham S. S., Hornig J., Gotch F., Patterson S. CD34-derived human Langerhans cells stimulate a T helper type 2 response independently of extracellular-signal-regulated kinase phosphorylation. *Immunology.* 2010, 131 (2), 210–219.
 8. Faas M., Bouman A., Moes H. et al. The immune response during the luteal phase of the ovarian cycle: a th2-type response? *Fertil Steril.* 2000, 74, 1008–1013.
 9. Fairweather D., Yusing S., Frisancho-Kiss S. et al. IL-12R β 1 and TLR4 increase IL-1 β and IL-18-associated myocarditis and coxsackievirus replication. *J. Immunol.* 2003, 170, 4731–4737.
 10. Fairweather D., Frisancho-Kiss S., Rose N. R. Sex differences in autoimmune disease from a pathological perspective. *Am. J. Pathol.* 2008, 173 (3), 600–609.
 11. Feldman I., Feldman G. M., Mobarak C. et al. Identification of proteins within the nuclear factor-kappa B transcriptional complex including estrogen receptor-alpha. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 2007, 196, 394.e1–394.e11.
 12. Fish E. N. The X-files in immunity: sex-based differences predispose immune responses. *Nat. Rev. Immunol.* 2008, 8, 737–744.
 13. Frisancho-Kiss S., Davis S. E., Nyland J. F. et al. Cutting edge: cross-regulation by TLR4 and T cell Ig mucin-3 determines sex differences in inflammatory heart disease. *J. Immunol.* 2007, 178, 6710–6714.
 14. Frisancho-Kiss S., Nyland J. F., Davis S. E. et al. Sex differences in coxsackievirus B3-induced myocarditis: IL-12R β 1 signaling

- and IFN-gamma increase inflammation in males independent from STAT4. *Brain Res.* 2006, 18, 1126 (1), 139–47.
15. Giron-Gonzales J. A., Moral F. J., Elvira J. et al. Consistent production of a higher TH1: TH2 cytokine ratio by stimulated T cells in men compared with women. *Eur. J. Endocrinol.* 2000, 143, 31–36.
 16. Gonzalez D. A., Diaz B. B., Rodriguez Perez Mdel C. et al. Sex hormones and autoimmunity. *Immunol. Lett.* 2010, 133, 6–13.
 17. Harrington L. E., Hatton R. D., Mangan P. R. et al. Interleukin 17-producing CD4⁺ effector T cells develop via a lineage distinct from the T helper type 1 and 2 lineages. *Nat. Immunol.* 2005, 6, 1123–1132.
 18. Hiar R. E. L., Haddad S., Jaidne H. et al. Enteroviral central nervous system infections in children of region of Monastir Tunisia: diagnosis laboratory findings of cerebrospinal fluid and clinical manifestations. *Indian J. Virol.* 2012, 23 (3), 294–302.
 19. Huber S. A., Pfaeffle B. Differential Th1 and Th2 cell responses in male and female BALB/c mice infected with coxsackievirus group B type 3. *J. Virol.* 1994, 68, 5126–5132.
 20. Ito T., Wang Y. H., Duramad O. et al. TSLP-activated dendritic cells induce an inflammatory T helper 2 cell response through OX40 ligand. *J. Exp. Med.* 2005, 202, 1213–23.
 21. Jimenez Cabalero P. E., Munoz Escudero F., Murcia Carretero S. et al. Descriptive analysis of viral meningitis in a general hospital: differences in the characteristics between children and adults. *Neurologia.* 2011, 26 (8), 468–473.
 22. Jounai N., Takeshit F., Kobiyama K. et al. The Atg5 Atg12 conjugate associates with innate antiviral immune responses. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2007, 104 (35), 14050–14055.
 23. Kato A., Favoreto S. J. et al. TLR3-and Th2 cytokine-dependent production of thymic stromal lymphopoietin in human airway epithelial cells. *J. Immunol.* 2007, 15, 179 (2), 1080–1087.
 24. Kembell C. C., Mehrdad A., Whitton J. L. Type B coxsackieviruses and their interactions with the innate and adaptive immune systems. *Future Microbiol.* 2010, 5 (9), 1329–1347.
 25. Khan D., Dai R., Karpuzoglu E. et al. Estrogen increases whereas IL-27 and IFN-gamma decrease splenocyte IL-17 production in WT mice. *Eur. J. Immunol.* 2010, 40 (9), 2549–56.
 26. Koenig A., Sateriale A., Budd R. C. et al. The role of sex differences in autophagy in the heart during coxsackievirus B3 induced myocarditis. *J. Cardiovasc. Transl. Res.* 2014, 7 (2), 182–191.
 27. Kurt-Jones E. A., Popova L., Kwinn L. et al. Pattern recognition receptors TLR4 and CD14 mediate response to respiratory syncytial virus. *Nat. Immune.* 2000, 1, 398.
 28. Lee H. C., Headley M. B., Loo Y. M. et al. Thymic stromal lymphopoietin is induced by respiratory syncytial virus-infected airway epithelial cells and promotes a type 2 response to infection. *J. Allergy Clin. Immunol.* 2012, 130 (5), 1187–1196.
 29. Lee H. K., Mattei L. M., Steinberg B. E. et al. In vivo requirement for Atg5 in antigen presentation by dendritic cells. *Immunity.* 2010, 32, 227–239.
 30. Li Z., Yue Y., Xiong S. Distinct Th17 inductions contribute to the gender bias in CVB3-induced myocarditis. *Cardiovasc. Pathol.* 2013, 22 (5), 373–82.
 31. Libert C., Dejager L., Pinheiro I. The X chromosome in immune functions: when a chromosome makes the difference. *Nat. Rev. Immunol.* 2010, 10, 594–604.
 32. Liu H. B., Loo K. K., Palaszynski, K. et al. Estrogen receptor α mediates estrogen's immune protection in autoimmune disease. *J. Immunol.* 2003, 171, 6936–6940.
 33. Marelli-Berg F. M., Fu H., Vianello F. et al. Memory T-cell trafficking: new directions for busy commuters. *Immunology.* 2010, 130, 158–165.
 34. McKinstry K. K., Strutt T. M., Swain S. L. The potential of CD4 T-cell memory. *Immunology.* 2010, 130, 1–9.
 35. Mendelsohn M. E., Karas R. H. Molecular and cellular basis of cardiovascular gender differences. *Science.* 2005, 308, 1583–1587.
 36. Miyaura H., Iwata M. Direct and indirect inhibition of Th1 development by progesterone and glucocorticoids. *J. Immunol.* 2002, 168 (3), 1087–9410.
 37. Negishi H., Osawa T., Ogami K. et al. A critical link between Toll-like receptor 3 and type II interferon signaling pathways in antiviral innate immunity. *Proc. Natl Acad. Sci. USA.* 2008, 23, 105 (51), 20446–51.

38. Okoye I. S., Wilson M. S. CD4⁺T helper 2 cells — microbial triggers differentiation requirements and effector functions. *Immunology*. 2011, 134, 368–377.
39. Paimela T., Ryhanen T., Mannermaa E. et al. The effect of 17beta-estradiol on IL-6 secretion and NF-kappaB DNA-binding activity in human retinal pigment epithelial cells. *Immunol. Lett.* 2007, 110, 139–144.
40. Palaszynsk, K., Liu H. B., Loo K. K., Voskuhl R. R. Estriol treatment ameliorates disease in males with experimental autoimmune encephalomyelitis: implications for multiple sclerosis. *J. Neuroimmunol.* 2004, 149, P.84–89.
41. Rettew J. A., Huet Y. M., Marriott I. Estrogens augment cell surface TLR4 expression on murine macrophages and regulate sepsis susceptibility in vivo. *Endocrinology*. 2009, 150, 3877–3884.
42. Roberts B. J., Moussawi M., Huber S. A. Sex differences in TLR2 and TLR4 expression and their effect on coxsackievirus-induced autoimmune myocarditis. *Exp. Mol. Pathol.* 2013, 94 (1), 58–64.
43. Roberts B. J., Dragon J. A., Moussawi M., Huber S. A. Sex-specific signaling through Toll-Like Receptors 2 and 4 contributes to survival outcome of Coxsackievirus B3 infection in C57Bl/6 mice. *Biol. Sex Differ.* 2012, 15, 3 (1), 25. doi: 10.1186/2042–6410–3–25.
44. Robinson D. P., Huber S. A., Moussawi M. et al. Sex chromosome complement contributes to sex differences in coxsackievirus B3 but not influenza A virus pathogenesis. *Biology of Sex differences*. 2011, 2, 8 <http://www.bsd-journal.com/content/2/1/8>
45. Rubtsov A. V., Rubtsova K., Kappler J. W. et al. Genetic and hormonal factors in female-biased autoimmunity. *Autoimmun. Rev.* 2010, 9, 494–498.
46. Sakiani S., Olsen N. J., Kovacs W. J. Gonadal steroids and humoral immunity. *Nat. Rev. Endocrinol.* 2013, 9, 56–62.
47. Wang C., Dehghani B., Li Y. et al. Oestrogen modulates experimental autoimmune encephalomyelitis and interleukin-17 production via programmed death 1. *Immunology*. 2009, 126 (3), 329–35.
48. Wei R., Xu L., Zhang N. et al. Elevated antigen-specific Th2 type response is associated with the poor prognosis of hand foot and mouth disease. *Virus Res.* 2013, 177 (1), 62–65.
49. Zhang M. A., Rego D., Moshkova M. et al. Peroxisome proliferator-activated receptor (PPAR) alpha and -gamma regulate IFNgamma-

- ma and IL-17A production by human T cells in a sex-specific way. *Proc. Natl Acad. Sci. USA.* 2012, 109, 9505–9510.
50. Бацкалевич Н. А. Клинические, иммунологические особенности и прогностическая оценка показателей врожденного и адаптивного иммунитета у подростков с энтеровирусным менингитом : дис. ... канд. мед. наук: 14.00.09 / Бацкалевич Наталья Александровна ; Урал. гос. мед. акад. Росздрава. Екатеринбург, 2009. 109 с.
51. Ешмоллов С. Н. Клинико-лабораторные особенности и оптимизация терапии энтеровирусных менингитов у детей на современном этапе : дис. ... канд. мед. наук: 14.01.09 / Ешмоллов Сергей Николаевич ; Ярослав. гос. мед. академия МЗ РФ. М., 2013. 149 с.
52. Лагерева Ю. Г., Бейкин Я. Б. Ассоциированные с полом особенности иммунного ответа при менингеальной форме энтеровирусной инфекции // *Лабораторная диагностика инфекционных и соматических заболеваний* : сб. науч. трудов / под ред. Я. Б. Бейкина, В. В. Фомина, В. А. Шалаева. Екатеринбург : Граффика, 2015 (6). С. 31–54.
53. Лагерева Ю. Г., Бейкин Я. Б. Ассоциированный с полом иммунологический диморфизм при менингитах энтеровирусной этиологии // *Российский иммунологический журнал*. 2015 (а). Т. 9 (18), № 2 (2). С. 53–56.
54. Лагерева Ю. Г., Бейкин Я. Б., Ищенко Н. В., Сбитнева Н. Н., Оленькова О. М. Содержание наивных и Т-лимфоцитов памяти в динамике острого периода энтеровирусных менингитов у детей // *Журнал инфектологии*. 2014 (6). Т. 6, № 2. С. 63–64.
55. Лагерева Ю. Г., Черешнев В. А., Сбитнева Н. Н., Оленькова О. М., Павленко Т. П., Бейкин Я. Б. Содержание различных субпопуляций лимфоцитов в динамике острого периода менингеальной формы энтеровирусной инфекции у детей // *Российский иммунологический журнал*. 2014 (а). Т. 8 (17), № 2. С. 177–185.
56. Мишакина Н. О. Клинико-патогенетические особенности острого и отдаленного периодов при серозном менингите энтеровирусной этиологии у детей : дис. ... канд. мед. наук: 14.01.08 / Мишакина Наталья Олеговна ; Тюменская гос. мед. академия МЗ и СР РФ. Тюмень, 2012. 150 с.

57. Протасеня И. И. Энтеровирусная инфекция у детей (на примере Хабаровского края) : дис. ... д-ра мед. наук: 14.01.09 / Протасеня Ирина Ивановна ; Дальневосточный гос. мед. ун-т Росздрава. Москва, 2010. 319 с.
58. Хаманова Ю. Б. Клиника, иммунопатогенез и оптимизация лечения энтеровирусных менингитов у детей : дис. ... д-ра мед. наук: 14.01.08 / Хаманова Юлия Борисовна ; Урал. гос. мед. академия МЗ РФ. Екатеринбург, 2013. 279 с.
59. Харитонов А. Н., Искакова М. Т., Рыбинскова Э. А., Бейкин Я. Б., Праздничкова Т. И., Лагерева Ю. Г., Оленькова О. М. Эпидемиологические проблемы профилактики энтеровирусных инфекций // Лабораторная диагностика инфекционных и соматических заболеваний : сб. науч. трудов/под ред. Я. Б. Бейкина, В. В. Фомина, В. А. Шалаева. Екатеринбург : Граффика, 2015. С. 157–165.

6. Иммуногенетические ассоциации при энтеровирусных менингитах

Т-лимфоциты распознают отдельные эпитопы антигена в контексте специфических молекул главного комплекса гистосовместимости (МНС), поэтому возможность ответа на данный эпитоп и «качество» этого ответа будут зависеть от наличия МНС-молекул, способных его связать. В связи с этим изучение ассоциаций отдельных аллелей HLA I и II класса с устойчивостью, восприимчивостью, а также клиническим течением различных заболеваний представляет собой активно развиваемую и перспективную область исследования.

МНС у человека (гены HLA) картирован на 6-й хромосоме [Janeway, 2004] и представляет собой наиболее плотный регион человеческого генома, охватывающий ~4 Mbps, или 0,1 % всего генома, но содержащий в шесть раз больше генов (0,6 % от общего числа генов). Большинство из этих генов кодируют белковые молекулы, участвующие в иммунном ответе. HLA комплекс делится на три основных региона: HLA I, II и III класса. Гены I и II класса — наиболее полиморфные во всем человеческом геноме. Высокий полиморфизм возник в результате селективного отбора, возникшего из-за расселения человека, взаимодействия с множеством инфекционных патогенов, в том числе и вновь возникающих, что привело к разнообразию генов МНС в результате мутаций, дупликаций и конверсий [Trowsdale, 2011]. HLA II класса состоят из двух полипептидных

цепей (α и β). Каждая α и β -цепь имеет два домена — высоко консервативные α_2 и β_2 -регионы и чрезвычайно полиморфные α_1 и β_1 -домены [Janeway, 2004]. Так как α_1 и β_1 вместе формируют антиген-связывающий участок, полиморфизм определяет образование разнообразных молекул II класса, способных распознать различные эпитопы. Молекулы HLA II класса экспрессируются на APC, таких как В-лимфоциты, макрофаги, DC, эндотелиальные клетки и другие органспецифические APC, имеют один антиген-связывающий участок, который вмещает различные пептиды от 14 до 25 аминокислот, в зависимости от заряда, стабильности и силы связи. Во II регионе содержатся гены, кодирующие три класса молекул DP, DQ, и DR. DR β 1-гены наиболее полиморфны, для них в настоящее время известны почти 450 аллелей. HLA-DR, DP и DQ-гены связаны не равновесно и наследуются как гаплотип.

Интерес к генетическим ассоциациям при ЭВИ обусловлен, прежде всего, неоднократно отмеченной этиологической связью с аутоиммунными заболеваниями, например сахарным диабетом 1-го типа (T1D). С одной стороны, проведенные исследования позволили установить, что гаплотипы с разным риском развития T1D (HLA-DR4; DQ8, HLA-DR3; DQ2) статистически значимо не связаны с наличием ЭВИ [Witso, 2012]. С другой стороны, показано, что T1D-ассоциированный генетический полиморфизм может вносить вклад в развитие аутоиммунной патологии посредством модуляции цитокинового ответа. В частности, протективный гаплотип HLA-DR2; DQ6 связан с повышенной продукцией IFN- γ и IL-2 в ответ на PV [Walldén, 2008]. Опубликованы также результаты исследований, касающиеся HLA-ассоциаций при T1D с выраженностью гуморального иммунного ответа на антигены EV: диабет-ассоциированные HLA-DR-аллели связаны с выраженным гуморальным иммунным ответом, в то время как протективные аллели — со слабым иммунным ответом на антигены EV [Sadeharju, 2003].

Помимо генетически обусловленных механизмов развития аутоиммунной патологии на фоне ЭВИ активно изучалась роль молекул HLA в чувствительности к различным EV. В частности, установлено, что молекулы HLA I участвуют в инфицировании EV11, действуя как корецепторы [Chevaliez, 2008]. Кроме того, показано, что HLA-A33 и HLA-DR17 тесно ассоциированы с чувствительностью к EV71.

Тем не менее, несмотря на разнообразие подходов к оценке HLA-ассоциаций при ЭВИ, связь полиморфизма HLA с развитием ЭВИ с CM и иммунопатогенетические механизмы, лежащие в ее основе, остаются неизученными.

6.1. Связь полиморфизма HLA с чувствительностью к энтеровирусным менингитам

В результате типирования HLA I (A, B, Cw) и II класса (DRB1, DQA1 и DQB1) у пациентов с ЭВИ с CM получены данные, характеризующие частоту аллелей HLA I и II класса, суммированные в табл. 6.1–6.5.

Таблица 6.1

Распределение HLA-A аллелей у пациентов с энтеровирусной инфекцией с серозным менингитом и в группах сравнения

HLA-A	Частота аллелей, (% носителей аллелей)			Odds Ratio (95% CI)	P
	ЭВИ с CM <i>n</i> = 50	Группа сравнения 1 <i>n</i> = 2856	Группа сравнения 2 <i>n</i> = 207		
A1	0,0945 (18,0)	0,1170 (22,06)	0,1810 (31,9)	0,776 ₁ (0,375–1,604) 0,469 ₂ (0,215–1,021)	0,6101 0,0276

Окончание табл. 6.1

HLA-A	Частота аллелей, (% носителей аллелей)			Odds Ratio (95% CI)	P
	ЭВИ с СМ n = 50	Группа сравне- ния 1 n = 2856	Группа сравне- ния 2 n = 207		
A2	0,1876 (34,0)	0,2870 (49,12)	0,2970 (51,7)	0,533₁ (0,295–0,962) 0,482₂ (0,252–0,918)	0,0480 0,0276
A3	0,2517 (44,0)	0,1430 (26,58)	0,1590 (29,0)	2,171₁ (1,234–3,818) 1,925₂ (1,021–3,629)	0,0058 0,0444
A11	0,0305 (6,0)	0,0620 (12,01)	0,0460 (8,7)	0,467 ₁ (0,145–1,511) 0,670 ₂ (0,189–2,371)	0,2794 0,5891
A23	0,0000 (0,0)	н. д.	0,0220 (4,3)	–	–
A24	0,1515 (28,0)	н. д.	0,0890 (17,4)	1,847 (0,904–3,774)	0,1104
A25	0,0408 (8,0)	н. д.	0,0430 (8,7)	0,913 (0,295–2,827)	1,0000
A26	0,0726 (14,0)	н. д.	0,0390 (7,7)	1,943 (0,753–5,014)	0,1717
A28	0,0513 (10,0)	0,0260 (5,15)	н. д.	2,048 (0,801–5,235)	–
A29	0,0202 (4,0)	0,0110 (2,17)	0,0100 (1,9)	1,878 ₁ (0,446–7,899) 2,115 ₂ (0,376–11,884)	– 0,6002
A30	0,0000 (0,0)	н. д.	0,0140 (2,9)	–	0,3590
A31	0,0835 (16,0)	н. д.	0,0190 (3,9)	4,738 (1,683–13,338)	0,0044
A32	0,0100 (2,0)	н. д.	0,0340 (6,3)	0,304 (0,039–2,385)	0,3162

Примечание. Шрифтом выделены значимые различия с группами сравнения, $p < 0,05$

Для сравнения частот аллелей и их носителей использованы результаты обследования практически здоровых детей и взрослых (HLA-DRB1); данные, полученные при типировании лимфоцитов периферической крови по HLA-антигенам I класса 2856 жителей г. Екатеринбурга [Черешнев, 2005]. Кро-

ме того, использовались базы данных HLA «Allele Frequency Search» Classical ресурса <http://www.allelefrequencies.net>.

Таблица 6.2

Распределение HLA-B-аллелей у пациентов с энтеровирусной инфекцией с серозным менингитом и в группах сравнения

HLA-B	Частота аллелей, (% носителей аллелей)			Odds Ratio (95% CI)	P
	ЭВИ с СМ n = 50	Группа сравне- ния 1 n = 2856	Группа сравне- ния 2 n = 207		
B7	0,1055 (20,0)	0,1310 (24,42)	0,1470 (24,6)	0,774 ₁ (0,385–1,556) 0,765 ₂ (0,357–1,638)	0,5776 0,5805
B8	0,0726 (14,0)	0,0610 (11,79)	0,0770 (15,5)	1,217 ₁ (0,543–2,727) 0,890 ₂ (0,368–2,153)	0,7913 0,8322
B12 (44, 45)	0,0945 (18,0)	0,0870 (16,61)	н. д.	1,103 (0,533–2,285)	0,9203
B13	0,0305 (6,0)	0,0560 (10,84)	0,0530 (10,6)	0,524 ₁ (0,162–1,694) 0,537 ₂ (0,154–1,869)	0,3865 0,4303
B14	0,0202 (4,0)	0,0260 (5,10)	0,0170 (3,4)	0,773 ₁ (0,186–3,213) 1,190 ₂ (0,239–5,913)	– 1,0000
B15 (62)	0,0304 (6,0)	0,0500 (9,75)	0,0820 (15,5)	0,592 ₁ (0,183–1,914) 0,349 ₂ (0,102–1,190)	– 0,1065
B16 (38, 39)	0,0619 (12,0)	0,0610 (11,79)	н. д.	1,019 (0,431–2,410)	0,8625
B17 (57)	0,0726 (14,0)	0,0520 (10,20)	н. д.	1,435 (0,639–3,219)	0,5169
B18	0,1056 (20,0)	0,0550 (10,66)	0,0560 (11,1)	2,099 ₁ (1,039–4,239) 2,000 ₂ (0,883–4,529)	0,0599 0,1016
B21 (49,50)	0,0304 (6,0)	0,0210 (4,12)	н. д.	1,481 (0,454–4,828)	–
B22 (54, 55, 56)	0,0304 (6,0)	0,0190 (3,77)	н. д.	1,624 (0,498–5,301)	–
B27	0,0619 (12,0)	0,0640 (12,39)	0,0530 (9,7)	0,964 ₁ (0,408–2,278) 1,275 ₂ (0,483–3,362)	0,8875 0,7944

Окончание табл. 6.2

HLA-B	Частота аллелей, (% носителей аллелей)			Odds Ratio (95% CI)	P
	ЭВИ с СМ n = 50	Группа сравне- ния 1 n = 2856	Группа сравне- ния 2 n = 207		
B35	0,1754 (32,0)	0,1170 (22,13)	0,0970 (17,4)	1,656 ₁ (0,908–3,019) 2,235 ₂ (1,116–4,476)	0,1362 0,0299
B37	0,0000 (0,0)	0,0030 (0,63)	0,0120 (2,4)	— —	— 0,5864
B40 (60)	0,0514 (10,0)	0,0850 (16,25)	0,0480 (9,7)	0,573 ₁ (0,226–1,451) 1,039 ₂ (0,369–2,917)	0,3197 1,0000
B41	0,0100 (2,0)	0,0350 (6,76)	0,0310 (6,3)	0,282 ₁ (0,038–2,050) 0,305 ₂ (0,039–2,385)	— 0,3162
B51	0,0619 (12,0)	н. д.	0,0430 (8,7)	1,432 (0,537–3,817)	0,5871

Таблица 6.3

Распределение HLA-Cw-аллелей у пациентов с энтеровирусной инфекцией с серозным менингитом и в группах сравнения

HLA-Cw	Частота аллелей, n аллелей/2n (% носителей аллелей)		Odds Ratio (95% CI)	P
	ЭВИ с СМ n = 50	Группа сравнения 3 n = 100		
Cw1	0,0619 (12,0)	0,0450 (9,0)	1,378 (0,462–4,117)	0,7741
Cw2	0,0619 (12,0)	0,0400 (8,0)	1,568 (0,513–4,796)	0,5524
Cw3	0,0835 (16,0)	0,1450 (26,0)	0,542 (0,225–1,305)	0,2157
Cw4	0,2000 (36,0)	0,1300 (24,0)	1,781 (0,852–3,724)	0,1764
Cw5	0,0304 (6,0)	0,0600 (12,0)	0,468 (0,126–1,741)	0,3871
Cw6	0,1168 (22,0)	0,1100 (22,0)	1,000 (0,441–2,269)	1,0000
Cw7	0,3519 (58,0)	0,2650 (48,0)	1,496 (0,754–2,968)	0,2993

Таблица 6.4

Распределение HLA-DRB1-аллелей у пациентов с энтеровирусной инфекцией с серозным менингитом и в группах сравнения

HLA-DRB1	Частота аллелей, n аллелей/2n (% носителей аллелей)			Odds Ratio (95% CI)	P
	ЭВИ с СМ n = 70	Группа сравне- ния n = 143	Группа сравне- ния 2 n = 207		
*01	0,2500 (50,0)	0,0944 (18,2)	0,1570 (28,5)	4,500₁ (2,391–8,471) 2,508₂ (1,437–4,379)	<0,0001 0,0013
*03	0,0643 (12,9)	0,0909 (17,5)	0,0940 (18,4)	0,696 ₁ (0,306–1,585) 0,656 ₂ (0,299–1,436)	0,4327 0,3585
*04	0,0929 (17,1)	0,1329 (21,7)	0,1090 (19,8)	0,747 ₁ (0,357–1,563) 0,837 ₂ (0,412–1,703)	0,4734 0,7263
*07	0,0857 (15,7)	0,1993 (38,5)	0,1350 (26,6)	0,298₁ (0,144–0,617) 0,515 ₂ (0,252–1,052)	0,0008 0,0747
*08	0,0357 (7,1)	0,0315 (6,3)	0,0430 (7,7)	1,145 ₁ (0,369–3,555) 0,918 ₂ (0,324–2,605)	1,0000 1,0000
*09	0,0143 (2,9)	0,01140 (2,8)	0,0140 (2,9)	1,022 ₁ (0,183–5,719) 0,985 ₂ (0,194–4,997)	1,0000 1,0000
*10	0,0214 (4,3)	0,0035 (0,7)	0,0170 (3,4)	6,385 ₁ (0,649–62,27) 1,279 ₂ (0,322–5,088)	0,1049 0,9999
*11	0,1286 (22,9)	0,1189 (20,9)	0,0970 (18,8)	1,116 ₁ (0,561–2,221) 1,276 ₂ (0,661–2,464)	0,8594 0,4900
*12	0,0286 (5,7)	0,0210 (4,2)	0,0100 (1,9)	1,384 ₁ (0,378–5,072) 3,076 ₂ (0,748–12,642)	0,7323 0,2083
*13	0,0857 (17,1)	0,1154 (22,4)	0,1260 (24,2)	0,718 ₁ (0,344–1,497) 0,649 ₂ (0,323–1,306)	0,4717 0,2494
*14	0,0143 (2,9)	0,0000 (0,0)	0,0170 (3,4)	— 0,840 ₂ (0,170–4,143)	0,1069 1,0000
*15	0,1357 (25,7)	0,1538 (28,7)	0,1470 (28,5)	0,861 ₁ (0,451–1,645) 0,868 ₂ (0,469–1,606)	0,7451 0,7579
*16	0,0429 (8,6)	0,0245 (4,2)	0,0340 (6,8)	2,141 ₁ (0,664–6,896) 1,292 ₂ (0,477–3,504)	0,2146 0,7901

Примечание. Шрифтом выделены значимые различия с группами сравнения, $p < 0,05$

Таблица 6.5

**Распределение HLA-DQA1 и DQB1-аллелей
у пациентов с энтеровирусной инфекцией с серозным менингитом
и в группах сравнения**

	Частота аллелей, <i>n</i> аллелей/ <i>2n</i> (% носителей аллелей)		Odds Ratio (95% CI)	P
	ЭВИ с СМ <i>n</i> = 50	группа срав- нения 2 <i>n</i> = 207		
HLA-DQA1 *01:01	0,2600 (50,0)	0,1900 (34,3)	1,919 (1,026– 3,576)	0,0492
*01:02	0,2300 (42,0)	0,1760 (32,4)	1,513 (0,804–2,848)	0,2448
*01:03	0,0500 (10,0)	0,1010 (18,8)	0,479 (0,178–1,285)	0,1498
*02:01	0,1100 (20,0)	0,1330 (26,1)	0,708 (0,331–1,513)	0,4669
*03:01	0,1100 (18,0)	0,1250 (23,2)	0,727 (0,329–1,603)	0,4575
*04:01	0,0200 (4,0)	0,0350 (6,3)	0,622 (0,136–2,848)	0,7425
*05:01	0,2200 (38,0)	0,2340 (44,0)	0,781 (0,415–1,472)	0,5248
HLA-DQB1 *02	0,1300 (24,0)	0,1980 (36,7)	0,544 (0,268–1,105)	0,0987
*03:01	0,1600 (30,0)	0,1780 (33,3)	0,857 (0,438–1,676)	0,7381
*03:02	0,0900 (16,0)	0,0720 (14,5)	1,124 (0,481–2,627)	0,8247
*03:03	0,0700 (14,0)	0,0430 (8,7)	1,709 (0,672–4,348)	0,2869
*04:01/04:02	0,0200 (4,0)	н. д.	—	—
*05:01	0,2500 (50,0)	0,1810 (32,4)	2,089 (1,117–3,908)	0,0222
*05:02/05:04	0,0500 (10,0)	н. д.	—	—
*05:03	0,0100 (2,0)	0,0140 (2,9)	0,684 (0,080–5,810)	1,0000
*06:02–8	0,2200 (42,0)	0,2070 (38,2)	1,173 (0,626–2,198)	0,6308

Примечание. Шрифтом выделены значимые различия с группами сравнения, $p < 0,05$

В качестве группы сравнения выбрана популяция, обследованная в г. Челябинске (54° 32' N, 60° 20' E. Sample Size: 207. Loci typed: A, B, DQA1, DQB1, DRB1. Author (s): Т. А. Suslova, А. L. Burmistrova, М. S Chernova, Е. В. Khromova, Е. I. Lupar, S. V. Timofeeva, М. N. Vavilov, I. V. Devald & С. Darke) и евро-

пеоидная популяция г. Санкт-Петербурга (59° 58' N, 30° 18' E. Sample Size: 100. Loci typed: A, B, C, DQB1, DRB1. Author (s): Ludmila Bubnova, Poster presentation P28 EFI 2012).

Из 14 аллелей HLA-A (A1, A2, A3, A11, A19, A23, A24, A25, A26, A28, A29, A30, A31, A32) HLA-A3 и HLA-A31 имели положительную ассоциацию с заболеванием, HLA-A2, напротив, отрицательную. Распределение аллелей HLA-B и HLA-Cw в группе пациентов с ЭВИ с СМ значимо не отличалось от показателей групп сравнения. Наиболее существенные отличия получены в частоте аллелей HLA II класса (DRB1, DQA1 и DQB1). Так, в группе пациентов с ЭВИ с СМ у 50 % заболевших присутствовал HLA-DRB1*01, при этом средняя частота этого аллеля в группе сравнения составила 18,2 % (OR = 4,500; 95 % CI = 2,391–8,471; $p < 0,0001$). Эти же пациенты характеризовались присутствием аллелей HLA-DQA1*01:01 и HLA-DQB1*05:01. Таким образом, частота гаплотипа HLA-DRB1*01; DQA1*01:01; DQB1*05:01 (соответствует варианту HLA-DR1;DQ5) составила 25 %, что значительно превышает его частоту в популяции европеоидов (8,5 %) [Kapustin, 1999]. Это дает основание рассматривать данное сочетание HLA II в качестве гаплотипа-провокатора, ассоциированного с высокой чувствительностью к ЭВИ с СМ (OR = 3,588; 95 % CI = 1,916–6,718; $p < 0,0001$).

После выделения пациентов-носителей HLA-DR1; DQ5 в отдельную подгруппу вновь определены частоты аллелей HLA I и II класса. Помимо 100 % носительства гаплотипа HLA-DR1;DQ5 для пациентов первой подгруппы чаще, чем в группе сравнения, характерно присутствие аллелей HLA-A31, HLA-B35, HLA-Cw4. Напротив, частота носительства HLA-DRB1*04, HLA-DRB1*07 оказалась значимо ниже. У пациентов с ЭВИ с СМ, не имеющих в генотипе HLA-DR1;DQ5, значимо реже, чем в группах сравнения, встречался аллель HLA-A2. Выше, чем в среднем в популяции, была частота носительства HLA-A31 и HLA-B18. Из аллелей локусов, относящихся

ко второму классу HLA, в данной подгруппе помимо HLA-DRB1*01, HLA-DQA1*01:01 и HLA-DQB1*05:01, входящих в отсутствующий в данной подгруппе гаплотип, выше, чем в группе сравнения, была частота HLA-DQB1*03:02.

Помимо аллелей, входящих в гаплотип, используемый в качестве дискриминатора (HLA-DRB1*01, HLA-DQA1*01:01, HLA-DQB1*05:01), в анализируемых группах отличалась частота носительства HLA-B35, HLA-Cw4, HLA-DRB1*04 и HLA-DQA1*03:02.

6.2. Особенности иммунного ответа у пациентов с гаплотипом HLA-DR1;DQ5

Для того чтобы оценить особенности иммунного ответа в остром периоде ЭВИ с СМ у пациентов-носителей гаплотипа-провокатора и заболевших детей, не имеющих в генотипе HLA-DR1;DQ5, проведено сравнение иммунологических показателей в группах детей 4–7 и 8–14 лет с гаплотипом HLA-DR1;DQ5 и без него в остром периоде ЭВИ с СМ.

Субпопуляционный состав лимфоцитов периферической крови в остром периоде ЭВИ с СМ в обеих анализируемых группах детей 4–7 лет характеризовался в 1–10-е сутки от начала заболевания снижением относительного содержания Т-лимфоцитов, относительного и абсолютного содержания Т-хелперов и увеличением относительного и абсолютного содержания В-лимфоцитов, активированных Т-лимфоцитов и НК-клеток. Причем в группе детей HLA-DR1;DQ5 (–) уровень НК в периферической крови был значимо выше в первую декаду заболевания по сравнению с группой HLA-DR1;DQ5 (+). На 11–20-е сутки в обеих группах сохранялся повышенный уровень активированных Т-лимфоцитов и НК (рис. 6.1).

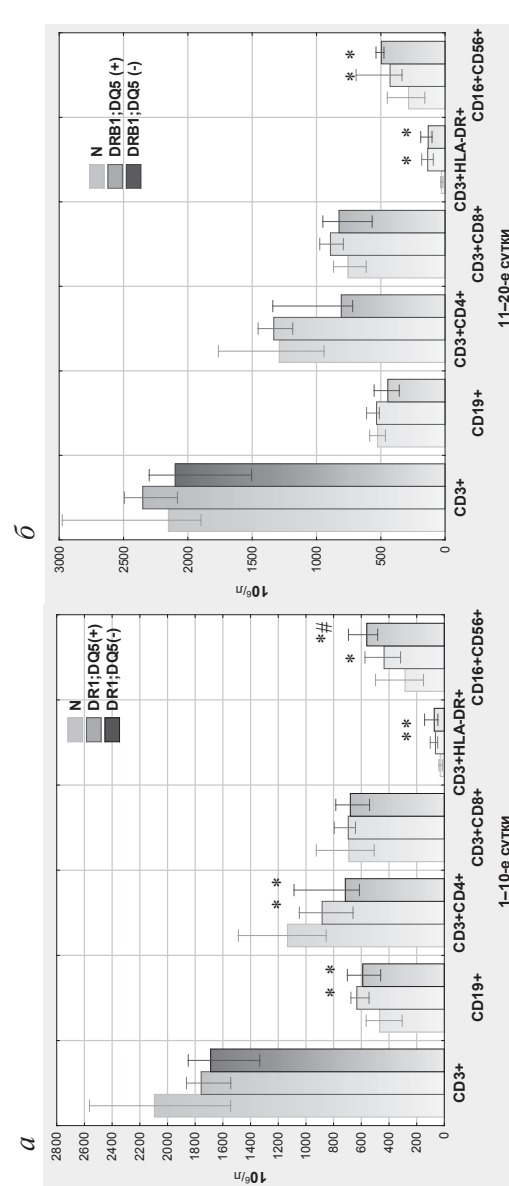


Рис. 6.1. Субпопуляционный состав лимфоцитов периферической крови в группах HLA-DR1;DQ5 (+) и HLA-DR1;DQ5 (–) 4–7-летних детей в 1–10-е сутки (а) и 11–20-е сутки (б) острого периода энтеровирусной инфекции с серозным менингитом, (Me, LQ-UQ):

* — $p < 0,05$ к показателям группы сравнения (N), # — $p < 0,05$ между группами DRB1;DQ5 (+) и DRB1;DQ5 (–)

Результаты внутриклеточного окрашивания цитокинов в активированных Т-лимфоцитах периферической крови свидетельствуют о повышении содержания IFN- γ - и TNF- α -экспрессирующих цитотоксических лимфоцитов в остром периоде заболевания как в группе HLA-DR1;DQ5-положительных детей 4–7 лет, так и HLA-DR1;DQ5-отрицательных. Количество Th1-лимфоцитов увеличивалось в обеих группах во вторую декаду заболевания, содержание TNF- α -положительных Т-хелперов значимо не изменялось.

Значительные отличия обнаружены в содержании Th2-субпопуляции. В обеих группах содержание Th2-клеток увеличивалось в 1–10-е сутки от начала заболевания, однако содержание Th2-лимфоцитов было значимо ниже у детей — носителей гаплотипа HLA-DR1;DQ5 (рис. 6.2). На 11–20-е сутки количество Th2-клеток в группе HLA-DR1;DQ5-положительных детей увеличивалось, превышая показатель в группе HLA-DR1;DQ5 (-). Показатели общего уровня иммуноглобулинов классов IgA, IgM, IgG, IgE, средний титр вирус-специфических нейтрализующих антител к аутоштаммам, а также содержание циркулирующих иммунных комплексов значимо не отличались в исследуемых группах, при этом содержание иммуноглобулинов IgE-класса и ЦИК в обеих группах превышало показатели в группе сравнения.

Аналогичный комплекс исследований выполнен в группе 8–14-летних детей в острый период ЭВИ с СМ. У 8–14-летних детей в обеих анализируемых группах наблюдали снижение относительного содержания Т-лимфоцитов и Т-хелперов, при этом абсолютное количество этих лимфоцитарных субпопуляций в периферической крови не отличалось от их уровня в группе относительно здоровых детей. На протяжении всего периода обследования в обеих группах было повышено относительное и абсолютное содержание НК и активированных Т-лимфоцитов. Кроме того, на 11–20-е сутки от начала заболевания у детей — носителей гаплотипа HLA-DR1; DQ5 значимо повышалось содержание цитотоксических Т-лимфоцитов (рис. 6.3).

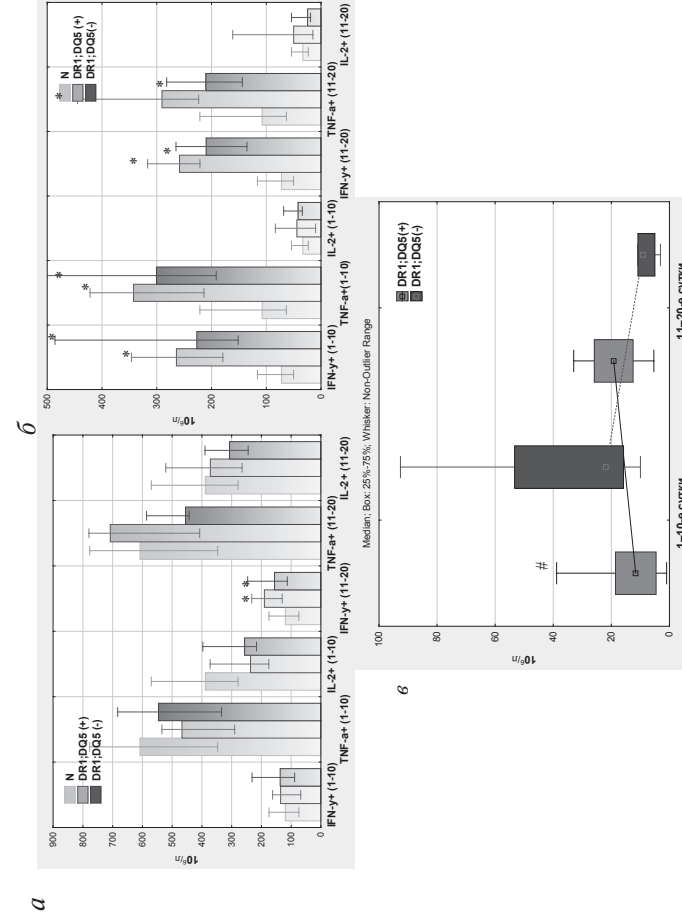


Рис. 6.2. Содержание Т-эффекторов: CD3⁺CD4⁺IL-4⁺ (Th2) (Me, LQ-UQ, min-max) (а) в периферической крови детей 4–7 лет в острый период энтеровирусной инфекции с серозным менингитом:

* — $p < 0,05$ к показателям группы сравнения (N); # — $p < 0,05$ в группах HLA-DR1; DQ5 (+) и HLA-DR1; DQ5 (-)

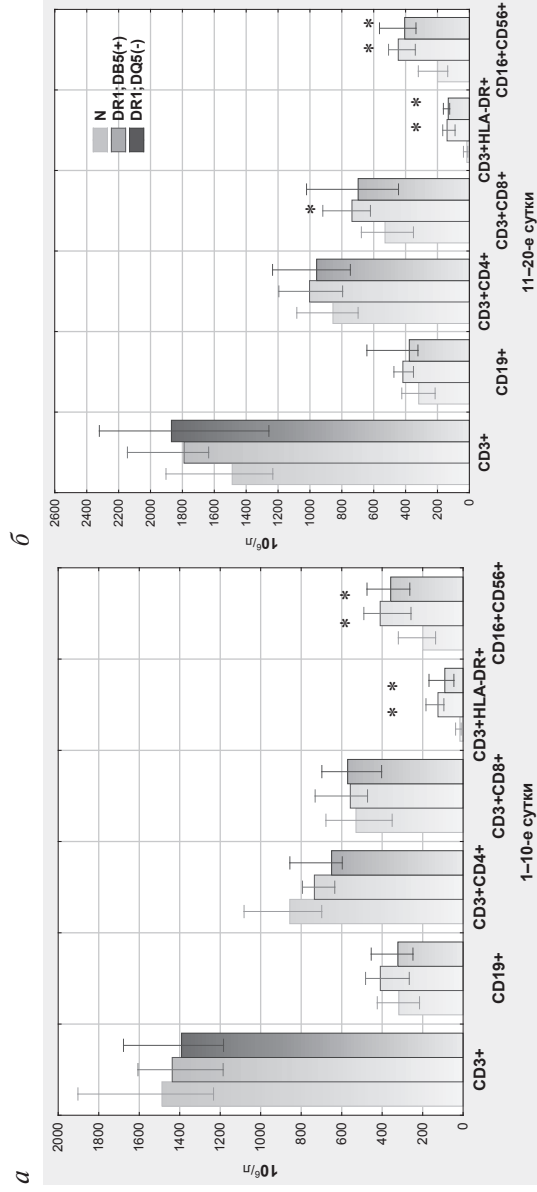


Рис. 6.3. Субпопуляционный состав лимфоцитов периферической крови в группах HLA-DR1;DQ5 (+) и HLA-DR1;DQ5 (-) 8–14-летних детей в 1–10-е сутки (а) и 11–20-е сутки (б) острого периода энтеровирусной инфекции с серозным менингитом, (Me, LQ-UQ):

* — $p < 0,05$ к показателям группы сравнения (N)

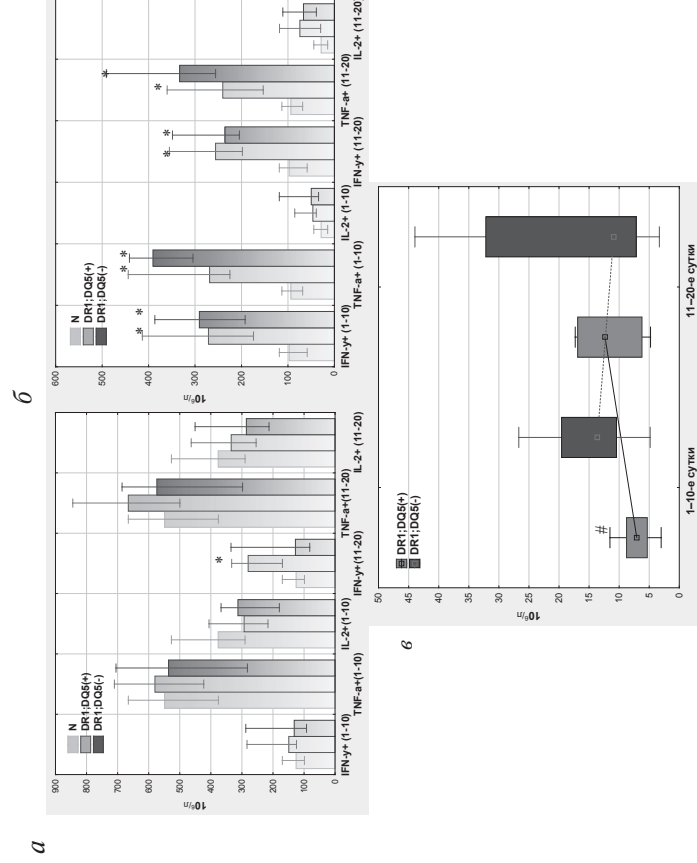


Рис. 6.4. Содержание Т-эффекторов: CD3⁺CD4⁺ (Me, LQ-UQ) (а); CD3⁺CD4⁺ (Me, LQ-UQ) (б); CD3⁺CD4⁺IL-4⁺ (Th2) (Me, LQ-UQ, min-max) (в) в периферической крови детей 8–14 лет в острый период энтеровирусной инфекции с серозным менингитом:

* — $p < 0,05$ к показателям группы сравнения (N); # — $p < 0,05$ в группах HLA-DR1;DQ5 (+) и HLA-DR1;DQ5 (-)

Повышение содержания IFN- γ - и TNF- α -экспрессирующих цитотоксических лимфоцитов в остром периоде заболевания наблюдали как в группе HLA-DR1;DQ5-положительных 8–14-летних детей, так и HLA-DR1;DQ5-отрицательных. Количество Th1-лимфоцитов во вторую декаду заболевания увеличивалось только у носителей гаплотипа-провокатора. Содержание TNF- α ⁺ Т-хелперов значимо не изменялось. Относительное содержание IL-2⁺ Т-хелперов было снижено в течение всего периода обследования (рис. 6.4).

Значительные отличия, как и у детей младшего возраста, обнаружены в содержании Th2-субпопуляции. В обеих группах содержание Th2-клеток увеличивалось в 1–10-е сутки от начала заболевания, однако содержание Th2-лимфоцитов было значимо ниже у детей — носителей гаплотипа HLA-DR1;DQ5 (рис. 6.4). Кроме того, у детей старшего возраста обнаружены статистически значимые отличия и в содержании иммуноглобулинов основных классов. Ниже, чем в группе здоровых детей, у носителей HLA-DR1;DQ5 был уровень иммуноглобулинов класса IgM, и только у детей без данного гаплотипа значимо повышалось содержание общих IgG-антител (табл. 6.6).

Таблица 6.6

Содержание гуморальных факторов иммунитета в периферической крови при энтеровирусной инфекции с серозным менингитом у детей 8–14 лет в динамике острого периода заболевания, Me (LQ-UQ)

Показатель	Периоды обследования от начала заболевания				
	HLA-DR1;DQ5 (+) 1 (n = 12)		HLA-DR1;DQ5 (-) 2 (n = 13)		Группа сравнения 3 (n = 30)
	1–10-е сутки	11–20-е сутки	1–10-е сутки	11–20-е сутки	
IgA, г/л	1,80 (3) (1,40–2,40)	1,40 (1,15–2,20)	1,95 (3) (1,42–2,50)	1,80 (1,40–2,00)	1,10 (0,80–1,97)
IgM, г/л	1,60 (1,10–1,80)	1,30 (1,10–1,65)	1,65 (1,20–2,32)	1,80 (1,3) (1,70–2,00)	1,30 (1,20–1,77)

Окончание табл. 6.6

Показатель	Периоды обследования от начала заболевания				Группа сравнения 3 (n = 30)
	HLA-DR1;DQ5 (+) 1 (n = 12)		HLA-DR1;DQ5 (-) 2 (n = 13)		
	1–10-е сутки	11–20-е сутки	1–10-е сутки	11–20-е сутки	
IgG, г/л	12,00 (10,50–14,90)	13,00 (9,85–13,85)	14,00 (3) (11,90–15,65)	13,00 (3) (11,50–15,30)	11,35 (10,47–12,55)
IgE, МЕ/мл	107,50 (3) (80,22–339,75)	73,70 (40,40–238,00)	119,50 (3) (31,57–303,00)	111,00 (48,30–304,00)	48,30 (23,90–65,40)
ЦИК, ед.	90,00 (3) (71,00–109,00)	70,00 (3) (38,50–99,50)	102,00 (3) (70,50–114,75)	88,50 (3) (51,00–129,75)	22,50 (16,00–36,00)

Примечание. Значения в скобках указывают на значимые различия в группах, $p < 0,05$

Сравнение средних геометрических титров вирус-нейтрализующих антител к аутоштаммам в группах 4–7 и 8–14-летних детей с гаплотипом HLA-DR1;DQ5 и без него показало, что носителей HLA-DR1;DQ5 также отличают в старшей возрастной группе более низкие титры специфических противовирусных антител к аутоштаммам в 1–10-е сутки от начала заболевания (табл. 6.7).

Таким образом, частота гаплотипа HLA-DR1;DQ5 у пациентов с ЭВИ с СМ значительно превышает среднепопуляционную, с высокой вероятностью ассоциации с чувствительностью к заболеванию. Пациентов-носителей HLA-DR1;DQ5 характеризует эффективное образование Th1 и Tc1-лимфоцитов (IFN- γ ⁺ и TNF- α ⁺) в остром периоде заболевания, в то время как содержание Th2-клеток значимо снижено по сравнению с детьми того же возраста, не имеющими в генотипе HLA-DR1;DQ5. Кроме того, в группе детей 8–14 лет HLA-DR1;DQ5 (+) со сниженным содержанием Th2-лимфоцитов отмечен низкий уровень общих иммуноглобулинов IgM и IgG-классов и средний

титр специфических противовирусных нейтрализующих антител. По-видимому, гаплотип HLA-DR1;DQ5 является одним из факторов, который со стороны хозяина влияет на эффективность дифференцировки Th2 и T_{ФН} и в конечном итоге на интенсивность гуморального противовирусного ответа. Если он оказывается недостаточно эффективным, происходит дальнейшая диссеминация вируса, в клиренсе которого принимают активное участие Т-хелперы и цитотоксические Т-лимфоциты 1-го типа.

Таблица 6.7

Значения отрицательных логарифмов (\log_2) и средних геометрических титров вирус-нейтрализующих антител к аутоштаммам ($M \pm m$) у детей с энтеровирусной инфекцией с серозным менингитом

Возрастные группы	Показатели	HLA-DR1; DQ5 (+) 1–10-е сутки 1	HLA-DR1; DQ5 (+) 11–20-е сутки 2	HLA-DR1; DQ5 (-) 1–10-е сутки 3	HLA-DR1; DQ5 (-) 11–20-е сутки 4	P
4–7 лет	\log_2	3,36±1,17	4,43±1,10	3,42±1,33	4,46±1,21	$P_{12}=0,2000$ $P_{13}=0,9481$ $P_{34}=0,2700$ $P_{24}=0,2665$
	титр	1:10,6	1:21,1	1:10,6	1:22,6	
8–14 лет	\log_2	1,36±1,15	3,55±0,93	3,47±1,31	4,14±0,61	$P_{12}=0,0096$ $P_{13}=0,0269$ $P_{34}=0,3702$ $P_{24}=0,3065$
	титр	1:2,6	1:12,1	1:11,3	1:17,1	

В свою очередь, у пациентов, не имеющих в генотипе HLA-DR1;DQ5 (у которых реже, чем в группах сравнения, встречается аллель HLA-A2, выше — частота носительства HLA-A31 и HLA-B18), на фоне повышенного содержания Th2-лимфоцитов и факторов специфического гуморального иммунитета менее эффективна дифференцировка Th1-субпопуляции лимфоцитов.

Список цитируемой литературы

1. Chang L. Y., Chang I. S., Chen W. J. et al. HLA-A33 Is Associated With Susceptibility to Enterovirus 71 Infection. *Pediatrics*. 2008, 122 (6), 1271–1276.
2. Chevaliez S., Balanant J., Maillard P. et al. Role of class I human leukocyte antigen molecules in early steps of echovirus infection of rhabdomyosarcoma cells. *Virology*. 2008, 25; 381 (2), 203–14.
3. Janeway C. A., Travers P., Walport M. et al. *Immunobiology: The Immune System in Health and Disease*. Churchill Livingstone; 6th Revised edition. 2004, 848 p.
4. Kapustin S., Lyschov A., Alexandrova J. et al. HLA class II molecular polymorphisms in healthy Slavic individuals from North-Western Russia. *Tissue Antigens*. 1999, 54 (5), 517–20.
5. Sadeharju K., Knip M., Hiltunen M. et al. The HLA-DR phenotype modulates the humoral immune response to enterovirus antigens. *Diabetologia*. 2003, 46 (8), 1100–5.
6. Trowsdale J. The MHC, disease and selection. *Immunol Lett*. 2011, 37, 1–8.
7. Walldén J., Ilonen M., Roivainen J. et al. Effect of HLA genotype or CTLA-4 polymorphism on cytokine response in healthy children. *Scand. J. Immunol*. 2008, 68 (3), 345–50.
8. Witso E., Cinek O., Tapia G. et al. HLA-DRB1-DQA1-DQB1 genotype and frequency of enterovirus in longitudinal monthly fecal samples from healthy infants. *Viral Immunol*. 2012, 25 (3), 187–92.
9. Черешнев В. А., Рыбина И. В., Бейкин Я. Б., Обоскалова Т. А. Иммунологические и генетические факторы нарушения репродуктивной функции. Екатеринбург : УрО РАН, 2005. 176 с.

7. Особенности локального иммунного ответа в центральной нервной системе при энтеровирусных менингитах

Несмотря на то, что фундаментальные принципы иммунологического реагирования действуют и в ЦНС, жестко контролируемая избирательная проницаемость ГЭБ ограничивает доступ инфекционных агентов в ЦНС, а также иммунный ответ хозяина на вирусные антигены. Соответствующая регуляция в ЦНС имеет критическое значение, поскольку повреждение тканей может приводить к некорректируемым нарушениям когнитивных и моторных функций. Микроглия и астроциты — основные типы клеток в ЦНС, которые экспрессируют PRR и способны поддерживать иммунологические реакции против нейротропных вирусов. После распознавания патогена активированная микроглия аккумулируется в местах повреждения ткани, участвуя в образовании и секреции молекул, связанных с воспалением: провоспалительных цитокинов/хемокинов, энзимов, адгезионных молекул и свободных радикалов. В результате реакций врожденного иммунитета происходит также рекрутирование в ЦНС лейкоцитов и формирование той среды, которая регулирует функционирование инфильтрующих ЦНС клеток.

Инфильтрация ЦНС иммунными клетками часто регистрируется при поражении EV ЦНС. Лимфоцитарная инфильтрация наблюдается в течение 2–3 недель после развития паралитической симптоматики у инфицированных PV мышей

[Ogra, 1973]. EV71-инфекция также приводит к инфильтрации большим количеством нейтрофилов серого вещества с периваскулярным скоплением лимфоцитов у пациентов, погибших от неврологических осложнений [Hsueh, 2000]. Инфильтрация ЦНС лейкоцитами связана с развитием воспаления [Frohman, 2006; Carrithers, 2000]. Блокирование CD146, адгезионного рецептора, экспрессируемого на эндотелиоцитах, снижает уровень воспаления, препятствуя миграции лейкоцитов в ЦНС [Duan, 2013].

Наибольшей выраженности воспалительная реакция в ЦНС при ЭВИ с СМ достигает в 1–10-е сутки от начала заболевания. Максимальный плеоцитоз в этот период обусловлен активной миграцией в ЦНС из периферической крови клеточных компонентов как врожденного (нейтрофильные гранулоциты, моноциты, НК), так и адаптивного иммунитета (Т-лимфоциты) [Лагерева, 2014 (6)]. Стимуляция клеточной миграции происходит прежде всего под действием цитокинов и хемокинов, синтезируемых резидентными макрофагами (микроглией) наряду с активными формами кислорода, глутаматом и металлопротеиназами, которые могут быть задействованы в нарушении целостности ГЭБ [Persidsky, 2003]. Высокие уровни MCP-1 (monocyte chemoattractant protein-1), IP-10 (interferon γ -induced protein 10) и RANTES (regulated on activation, normal T-cell expressed and secreted) образуются в ЦНС при CVB3-инфекции [Feuer, 2009]. Увеличение экспрессии CCL12 (C–C motif ligand 12) может приводить к увеличению миграции через ГЭБ нестин⁺-миелоидных клеток. Концентрации других хемокинов (CCL4 (C–C motif ligand 4), CCL7 (C–C motif ligand 7), CCL2 (C–C motif ligand 2), CXCL4 (C–X-C motif ligand 4), CXCL10 (C–X-C motif ligand 10) и CCL9 (C–C motif ligand 9)) также повышались в ЦНС CVB3-инфицированных мышей. Миграции клеток воспаления через ГЭБ также способствуют IL-6 и IL-8 [Banks, 2010; Bergmann, 2006]. ЭВИ с СМ на ранних этапах сопровождается значительным увеличением концентрации IL-6

и IL-8 в ЦСЖ [Алексеева, 2012; Лагерева, 2014 (б), Хаманова, 2013; Sato, 2003]. Существует мнение, что продукция IL-6 необходима на ранних стадиях постинфекции для индукции противовирусного иммунного ответа посредством активации и привлечения иммуноцитов [Lokensgard, 2001], но длительно поддерживаемый высокий уровень IL-6 может приводить к повреждению тканей и иммунопатологии [Wang, 2012]. К основным эффекторным функциям IL-8 относятся активация и привлечение в очаг воспаления нейтрофилов. Кроме того, синтез IL-8 вносит вклад в индуцируемое вирусом действие на цитоскелет и плотные контакты, что в конечном итоге повышает трансэндотелиальную проницаемость [Talavera, 2004].

В соответствии с нашими данными, ЭВИ с СМ не сопровождаются увеличением содержания IFN- α в ЦСЖ. Таким образом, развитию ЭВИ с СМ может способствовать нарушение раннего контроля вирусной репликации, в то время как концентрация IFN- γ , отвечающего за клиренс вирусов из ЦНС и долговременный контроль за вирусной репликацией [Stubblefield Park, 2011], значимо повышена в ЦСЖ в первую декаду заболевания ЭВИ с СМ. Основным источником IFN- γ , в том числе в пределах ЦНС, являются NK-клетки и активированные T-лимфоциты (Th1, Tc1). Миграция NK из периферической крови в ЦСЖ осуществляется в 1–10-е сутки от начала заболевания ЭВИ с СМ, далее (11–20-е сутки) их уровень в ЦСЖ резко снижается. Помимо секреции противовирусных цитокинов, таких как IFN- γ , NK-клетки подавляют вирусную инфекцию прямым цитотоксическим действием (чаще перфорин-опосредованным), что может приводить к развитию нежелательных иммунопатологических последствий в ЦНС. По-видимому, участие NK в противовирусном иммунном ответе в ЦНС при ЭВИ с СМ ограничивается самыми ранними этапами воспалительной реакции. Наряду с NK, моноцитами и сегментоядерными нейтрофилами, в ЦСЖ на ранних этапах заболевания мигрируют T-лимфоциты. Несоответствие

относительного содержания лимфоцитарных субпопуляций в ЦСЖ и периферической крови свидетельствует о селективной миграции в ЦНС их отдельных субпопуляций [Хаманова, 2013; Lerej, 2007; Matsubara, 2000]. На ранних этапах ЭВИ с СМ происходит активная миграция в ЦСЖ T-хелперов с фенотипом центральных клеток памяти, а также эффекторных T-лимфоцитов памяти [Лагерева, 2014 (а); Лагерева, 2014 (б)]. Содержание CD4⁺T_{CM} (как относительное, так и абсолютное) резко снижается уже на 11–20-е сутки от начала заболевания (этот феномен наблюдается и в отношении CD8⁺T_{CM}). Данный факт, по-видимому, свидетельствует о том, что большая часть мигрирующих на ранних этапах развития заболевания в ЦНС CD4⁺T_{CM} (и CD8⁺T_{CM}) не являются вирус-специфическими. Известно, что центральные T-лимфоциты памяти обладают необходимым рецепторным аппаратом для миграции не только в лимфоидные органы, но и в очаги воспаления [Marelli-Berg, 2010]. Кроме того, трафик T-лимфоцитов в ЦНС может происходить и антиген-независимым путем, но активация, удержание и противовирусный иммунный ответ в ЦНС зависит от МНС-рестриктированной презентации антигена [Bergmann, 2006; Griffin, 2003]. Таким образом, «незаинтересованные» T_{CM} (как CD4⁺, так и CD8⁺) покидают ЦНС, приводя к резкому снижению содержания данных субпопуляций лимфоцитов в ЦСЖ во вторую декаду заболевания. Кроме того, антиген-специфические T_{CM} в результате активации могут дифференцироваться в эффекторные T-лимфоциты памяти. В отличие от центральных T-клеток памяти относительное содержание CD4⁺ T-лимфоцитов с фенотипом эффекторных T-лимфоцитов (одно из самых высоких в ЦСЖ в 1–10-е сутки от начала заболевания), а также терминально-дифференцированных T-хелперов не уменьшается в динамике заболевания. Напротив, более половины T-лимфоцитов в ЦСЖ на 11–20-е сутки представлено CD4⁺T_{EM} и CD4⁺T_{EFF}-субпопуляциями. Значительная доля TNF- α , IFN- γ и IL-4-экспрессирующих

Т-хелперов при отсутствии Th17-субпопуляции лимфоцитов в ЦСЖ позволяет предполагать, что именно CD4⁺T_{EM} и CD4⁺T_{EFF}, относящиеся к Th1 и Th2-типу, контролируют энтеровирусную инфекцию ЦНС [Лагерева, 2014 (а); Лагерева, 2014 (б)]. Мигрирующие в ЦНС на ранних этапах ЭВИ с СМ цитотоксические Т-лимфоциты представлены в основном CD8⁺-эффекторными Т-лимфоцитами/клетками памяти и CD8⁺T_{EMRA}, т.е. зрелыми цитотоксическими CD8⁺-Т-лимфоцитами, содержащими перфорин и гранзим В, экспрессирующими FasL и продуцирующими IFN-γ и TNF-α. Что касается В-лимфоцитов, то теоретически возможен диapedез стимулированных антигеном, в частности в шейных лимфоузлах, В-лимфоцитов через ГЭБ, их созревание и дифференцировка в Ig-секретирующие плазматические клетки. Более того, инфильтрация ЦНС антиген-специфическими антитела-секретирующими В-лимфоцитами необходима для элиминации многих нейротропных вирусов, включая WNV, SINV, RABV и коронавирусы [Brehin, 2008; Hooper, 2009; Metcalf, 2011]. Тем не менее содержание В-лимфоцитов в ЦСЖ при энтеровирусных менингитах ничтожно мало, что, однако, не означает, что гуморальный иммунитет не задействован в элиминации EV из ЦНС.

Список цитируемой литературы

1. Banks W. A., Erickson M. A. The blood-brain barrier and immune function and dysfunction. *Neurobiol. Dis.* 2010, 37, 26–32.
2. Bergmann C. C., Lane T. E., Stohlman S. A. Coronavirus infection of the central nervous system: host-virus stand-off. *Nat. Rev. Microbiol.* 2006, 4, 121–132.
3. Brehin A. C., Mouries J., Frenkiel M. P. et al. Dynamics of immune cell recruitment during West Nile encephalitis and identification of

- a new CD19+B220-BST-2+ leukocyte population. *J. Immunol.* 2008, 180, 6760–6767.
4. Carrithers M. D., Visintin I., Kang S. J., Janeway C. A., Jr. Differential adhesion molecule requirements for immune surveillance and inflammatory recruitment. *Brain.* 2000, 123, 1092–1101.
5. Duan H., Xing S., Luo Y., Feng L., Gramaglia I., Zhang Y., Lu D., Zeng Q., Fan K., Feng J. et al. Targeting endothelial CD146 attenuates neuroinflammation by limiting lymphocyte extravasation to the CNS. *Sci. Rep.* 2013, 3, 1687.
6. Feuer R., Ruller C. M., An N., Tabor-Godwin J. M., Rhoades R. E., Maciejewski S., Pagarigan R. R., Cornell C. T., Crocker S. J., Kiosses W. B. et al. Viral persistence and chronic immunopathology in the adult central nervous system following Coxsackievirus infection during the neonatal period. *J. Virol.* 2009, 83, 9356–9369.
7. Frohman E. M., Racke M. K., Raine C. S. Multiple sclerosis — The plaque and its pathogenesis. *N. Engl. J. Med.* 2006, 354, 942–955.
8. Griffin D. E. Immune responses to RNA-virus infections of the CNS. *Nat. Rev. Immunol.* 2003, 3, 493–502.
9. Hooper D. C., Phares T. W., Fabis M. J. et al. The production of antibody by invading B cells is required for the clearance of rabies virus from the central nervous system. *PLoS Negl. Trop. Dis.* 2009, 3, P.e535.
10. Hsueh C., Jung S. M., Shih S. R., Kuo T. T., Shieh W. J., Zaki S., Lin T. Y., Chang L. Y., Ning H. C., Yen D. C. Acute encephalomyelitis during an outbreak of enterovirus type 71 infection in Taiwan: Report of an autopsy case with pathologic, immunofluorescence and molecular studies. *Mod. Pathol.* 2000, 13, 1200–1205.
11. Lepej S. Z., Tesovic G., Sternak S. L. et al. Naïve and memory CD4+ T-cells in the cerebrospinal fluid of children with aseptic meningitis following measles-mumps-rubella vaccination and enteroviral meningitis. *Immun. Inv.* 2007, 36, 321–335.
12. Lokensgard J. R., Hu S., Sheng W. et al. Robust expression of TNF-α IL-1β RANTES and IP-10 by human microglial cells during nonproductive infection with herpes simplex virus. *J Neurovirol.* 2001, 7, 208–219.
13. Marelli-Berg F. M., Fu H., Vianello F. et al. Memory T-cell trafficking: new directions for busy commuters. *Immunology.* 2010, 130, 158–165.

14. Matsubara N., Matsuoka T., Katayama K., Yoshitomi T. et al. Mononuclear cells and cytokines in the cerebrospinal fluid of Echovirus 30 meningitis patients. *Scand. J. Infect. Dis.* 2000, 32, 471–474.
15. Metcalf T. U., Griffin D. E. Alphavirus-induced encephalomyelitis: antibody secreting cells and viral clearance from the nervous system. *J. Virol.* 2011, 85, 11490–11301.
16. Ogra P. L., Ogra S. S., Al-Nakeeb S., Coppola P. R. Local antibody response to experimental poliovirus infection in the central nervous system of Rhesus monkeys. *Infect. Immun.* 1973, 8, 931–937.
17. Persidsky, Y., Gendelman H. E. Mononuclear phagocyte immunity and the neuropathogenesis of HIV-1 infection. *J. Leukocyte Biol.* 2003, 74, 691–701.
18. Sato M., Hosoya M., Honzumi K. et al. Cytokine and cellular inflammatory sequence in enteroviral meningitis. *Pediatrics.* 2003, 112, 1103–7.
19. Stubblefield Park S. R., Widness M., Levine A. D. et al. T cell-, interleukin-12-, and gamma interferon-driven viral clearance in measles virus-infected brain tissue. *J. Virol.* 2011, 85, 3664–3676.
20. Talavera D., Castillo A. M., Dominguez M. C. et al. IL8 release tight junction and cytoskeleton dynamic reorganization conducive to permeability increase are induced by dengue virus infection of microvascular endothelial monolayers. *Journal of General Virology.* 2004, 85 (7), 1801–1813.
21. Wang S. M., Lei H. Y., Liu C. C. Cytokine Immunopathogenesis of Enterovirus 71 Brain Stem Encephalitis. *Clin. Dev. Immunol.* 2012, 2012 (2012), ID 876241, 8 pages <http://dx.doi.org/10.1155/2012/876241>.
22. Алексеева Л. А., Мазаева Е. М., Скрипченко Н. В. и др. Цитокины в цереброспинальной жидкости при менингитах у детей // *Журнал инфектологии.* 2012. Т. 6, № 1. С. 54–59.
23. Лагерева Ю. Г., Черешнев В. А., Еременко А. Ю., Бейкин Я. Б. Содержание CD4⁺ и CD8⁺ Т-клеток памяти, наивных и терминально-дифференцированных Т-эффекторов в цереброспинальной жидкости при менингеальной форме энтеровирусной инфекции у детей // *Российский иммунологический журнал.* 2014 (а). Т. 8 (17), № 3. С. 823–25.
24. Лагерева Ю. Г., Черешнев В. А., Еременко А. Ю., Бейкин Я. Б. Характеристика отдельных компонентов врожденного и адаптивного иммунитета центральной нервной системы при менингеальной форме энтеровирусной инфекции у детей // *Инфекционные болезни.* 2014 (6). Т. 12, № 2. С. 68–75.
25. Хаманова Ю. Б. Клиника, иммунопатогенез и оптимизация лечения энтеровирусных менингитов у детей : дис. ... д-ра мед. наук: 14.01.08 / Хаманова Юлия Борисовна ; Урал. гос. мед. академия МЗ РФ. Екатеринбург, 2013. 279 с.

8. Персистенция энтеровирусов

Феномен персистенции EV, по-видимому, является следствием, с одной стороны, действия иммунного ответа хозяина, направленного на элиминацию или подавление репликации вируса, и попыток вируса остаться невредимым в этих условиях, с другой. Под давлением иммунного ответа иногда наилучшим выходом для вируса является мутация. Ошибки репликации EV приводят к образованию квазивидов EV [Domingo, 2008], что расширяет их тропизм [Vignuzzi, 2006], помогает избежать иммунного ответа и может приводить к персистенции.

Несмотря на цитолитические свойства, которые проявляет и PV, и CVB по отношению к инфицированным клеткам, оба эти вируса способны персистировать, вызывая хроническую инфекцию. В клетках нейробластомы персистенция PV ассоциирована с мутациями в капсидном регионе. Кроме того, и для PV, и для CVB переход от цитолитического к персистирующему фенотипу в клеточной культуре связан со способностью вируса адсорбировать рецепторы и/или с уровнем их экспрессии [Carson, 2007]. Показано, что во время персистирующей инфекции клеток в культуре, на низком уровне экспрессирующих CAR, CVB накапливал изменения в капсиде, которые позволяли вирусным вариантам связываться с новыми (не-DAF, не-CAR) рецепторами [Carson, 2011]. Клеточные факторы также вносят свой вклад в формирование персистенции PV [Girard, 2002]. Вирус не может эффективно размно-

жаться в культуре клеток, пролиферация которых подавлена лекарственными препаратами, но после возобновления деления восстанавливает продуктивную и цитолитическую репликацию [Feuer, 2002; Feuer, 2004].

Персистирующая ЭВИ может развиваться по двум основным сценариям. Во-первых, хроническая продуктивная ЭВИ может устанавливаться в иммунокомпромитированном организме. Пациенты с агаммаглобулинемией, получившие OPV, могут выделять вирус в течение длительного времени. Гораздо более частой причиной иммуносупрессии является ВИЧ-инфекция, которая, однако, не коррелирует с персистенцией и выделением PV [Asturias, 2006; Hennessey, 2005]. Во-вторых, иммунокомпетентный хозяин может быть носителем вируса (или по крайней мере вирусной RNA) в течение нескольких лет. Принимая во внимание частоту ЭВИ, логично предположить, что это наиболее вероятный вариант вирусной персистенции. В подавляющем большинстве случаев установленной *in vivo* персистенции EV речь шла об иммунокомпетентных хозяевах, инфицирующий вирус не был идентифицирован, в основном сообщалось об обнаружении вирусного материала (наиболее часто RNA).

CVB RNA чаще всего выявляется методом PCR в биоптатах сердца от пациентов с DCM [Archard, 1987; Archard, 1998; Bowles, 1986] или при воспалительных периферических миопатиях [Bowles, 1987]. Экспериментальные модели позволили продемонстрировать персистенцию CVB3 в миокарде [Charman, 2008 (6)]. Врожденный иммунный ответ хозяина, особенно I IFN-ответ, играет важнейшую роль в контроле CV-инфекции в сердце [Deonarain, 2004]. Снижение продукции IFN- β может быть причиной формирования персистирующей CVB3-инфекции [Zhang, 2013]. Однако при персистирующих вирусных инфекциях наблюдали и высокие титры IFN [Ng, 2015]. Опубликованы также результаты, свидетельствующие о том, что I IFN-ответ оказывает селективное давление,

приводя к мутациям вирусного генома [Kim, 2005 (б)] и аттенуированию CV.

Делеции генома в 5'-UTR CVB3 наблюдали после пассажа CVB3 в первичной культуре клеток сердца. Эти делеции были связаны со снижением цитопатического эффекта вируса без снижения вирусных титров [Kim, 2005; Kim, 2008]. Очень важно, что полученные материалы обладали инфекционными свойствами, хотя репликация протекала чрезвычайно медленно. VPg-белок присутствовал на некоторых мутантных геномах с делециями. 25% RNA проходила инкапсидацию в вирионы с негативными цепочками. Авторы пришли к выводу, что инкапсидация негативных цепочек может происходить в связи с терминальными делециями, нарушающими репликацию RNA и заметно снижающими соотношение позитивных и негативных цепочек. Позитивная цепь вирусной RNA синтезируется при ЭВИ в гораздо больших количествах, чем негативная [Novak, 1991]. Однако соотношение позитивных и негативных цепей снижается при формировании персистирующей CVB3-инфекции ЦНС [Feuer, 2009]. Подобные результаты были продемонстрированы и в других тканях, в которых сформировалась персистирующая CVB3-инфекция, что свидетельствует о том, что двуцепочечный RNA-комплекс может принимать участие в ее развитии [Tam, 1999]. Впрочем, неизвестно, используют ли другие EV тот же механизм персистенции.

Варианты с 5'-терминальными делециями также были идентифицированы среди CVB2-геномов, изолированных из сердца пациентов с энтеровирусными миокардитами [Charman, 2008 (a)]. Сниженная инфекционность этих мутантных вирусов объясняет, почему инфекционный вирус не был обнаружен в подавляющем большинстве случаев, когда было описано присутствие EV RNA. На сегодняшний день нет доказательств, что мутанты с терминальными делециями могут распространяться в обычных условиях.

Персистенция CVB3 RNA была описана в ЦНС мышей после неонатального инфицирования через 90 дней после инфекции [Feuer, 2009]. Предполагается, что отдельные области ЦНС могут стать возможными местами персистенции *in vivo*. Возможно, реактивация CVB3 вызывается случайной пролиферацией и асимметричным делением покоящихся нервных стволовых клеток В типа, пораженных персистирующим вирусом. Возможная персистенция и реактивация EV имеет серьезное клиническое значение, поскольку прием иммуносупрессивных препаратов, например ритуксимаба пациентами с лимфомами, может приводить к реактивации/повышению репликации персистирующего в ЦНС вируса с развитием опасных неврологических осложнений [Schilthuisen, 2010; Servais, 2010]. Персистирующая инфекция может развиваться в EV-инфицированных клетках нейроblastомы [Colbère-Garapin, 1989; Zhang, 2013], что предоставляет возможность создания моделей *in vitro* для изучения механизмов этого явления. Например, CVB3 может персистировать в CCF-STTG1-клетках, клетках человеческой астроцитомы.

PV-персистенция и реактивация лежат в основе PPS [Vaj, 2007]. PV RNA может определяться у некоторых пациентов с PPS [Julien, 1999], хотя персистирующий вирус может отличаться от дикого типа [Vaj, 2007]. Низкая вирусная нагрузка и неизвестный механизм реактивации мутировавшего вируса у PPS-пациентов порождают споры о возможном участии персистирующего материала PV в возобновлении заболевания. Возможно, PV персистируют в аттенуированной форме в периферической нервной ткани с низким уровнем репликации; реактивационный толчок, например травма, может индуцировать увеличение уровня репликации с неврологическими повреждениями. Индуцированный травмой ретроградный аксональный транспорт PV в ЦНС был продемонстрирован Gromeier и Wimmer в 1998 году и, возможно, является механизмом, с помощью которого PV перемещается из мест персистенции в ЦНС [Gromeier, 1998].

Несмотря на то, что персистенция PV играет важную роль в патогенезе PPS, неизвестно, приводит ли персистенция других EV к развитию неврологических нарушений. Целый ряд исследований был проведен с целью изучения связи ЭВИ с развитием ALS (amyotrophic lateral sclerosis) [Berger, 2000; Woodall, 1994]. Были получены в том числе результаты, свидетельствующие, что ЭВИ не имеет отношения к поражению моторных нейронов, поскольку 5'-UTR последовательности ECHOV, CV и PV не были обнаружены в ЦНС пациентов с ALS-MND (lateral sclerosis-motor neuron disease) [Swanson, 1995].

К формированию персистирующей инфекции приводит инфицирование EV71. EV71 может в течение длительного периода выделяться из секретов и фекалий [Han, 2010]. Однако точная локализация EV71 при персистирующей инфекции не установлена. Таким образом, необходимы дальнейшие исследования для уточнения связи между персистирующей ЭВИ и различными заболеваниями.

Список цитируемой литературы

1. Archard L. C., Khan M. A., Soteriou B. A. et al. Characterization of Coxsackie B virus RNA in myocardium from patients with dilated cardiomyopathy by nucleotide sequencing of reverse transcription-nested polymerase chain reaction products. *Hum. Pathol.* 1998, 29 (6), 578–584.
2. Archard L. C., Richardson P. J., Olsen E. G., Dubowitz V., Sewry C., Bowles N. E. The role of Coxsackie B viruses in the pathogenesis of myocarditis dilated cardiomyopathy and inflammatory muscle disease. *Biochem. Soc. Symp.* 1987, 53, 51–62.
3. Asturias E. J., Grazioso C. F., LunaFineman S., Torres O., Halsey N. A. Poliovirus excretion in Guatemalan adults and children with HIV infection and children with cancer. *Biologicals.* Jun. 2006, 34 (2), 109–112.

1. Baj A., Maccari G., Toniolo A. Detection of persistent poliovirus in patients with the post-polio syndrome. In: Méndez-Vilas A., editor. *Communicating Current Research and Educational Topics and Trends in Applied Microbiology.* Formatex. 2007, 859–867.
2. Berger M. M., Kopp N., Vital C., Redl B., Aymard M., Lina B. Detection and cellular localization of enterovirus RNA sequences in spinal cord of patients with ALS. *Neurology.* 2000, 54, 20–25.
4. Bowles N. E., Dubowitz V., Sewry C. A., Archard L. C. Dermatomyositis polymyositis and Coxsackie-B-virus infection. *Lancet.* 1987, 1 (8540), 1004–1007.
5. Bowles N. E., Richardson P. J., Olsen E. G., Archard L. C. Detection of Coxsackie-B-virus-specific RNA sequences in myocardial biopsy samples from patients with myocarditis and dilated cardiomyopathy. *Lancet.* 1986, 1, 1120–1123.
6. Carson S. D., Chapman N. M., Hafenstein S. et al. Variation of coxsackievirus B3 capsid primary structure, ligands and stability are selected in a coxsackievirus and adenovirus receptor-limited environment. *J. Virol.* 2011, 85, 3306–3314.
7. Carson S. D., Kim K. S., Pirruccello S. J., Tracy S., Chapman N. M. Endogenous low-level expression of the coxsackievirus and adenovirus receptor enables coxsackievirus B3 infection of RD cells. *Journal of General Virology.* 2007, 88 (Pt 11), 3031–3038.
8. Chapman N. M., Kim K. S., Drescher K. M., Oka K., Tracy S. 5' terminal deletions in the genome of a coxsackievirus B2 strain occurred naturally in human heart. *Virology.* 2008 (a), 375 (2), 480–491.
9. Chapman N. M., Kim K. S. Persistent coxsackievirus infection: Enterovirus persistence in chronic myocarditis and dilated cardiomyopathy. *Curr. Top. Microbiol. Immunol.* 2008 (6), 323, 275–292
10. Colbère-Garapin F., Christodoulou C., Crainic R., Pelletier I. Persistent poliovirus infection of human neuroblastoma cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 1989, 86, 7590–7594.
11. Deonarain R., Cerullo D., Fuse K., Liu P. P., Fish E. N. Protective role for interferon-beta in coxsackievirus B3 infection. *Circulation.* 2004, 110, 3540–3543.
12. Domingo E., Martin V., Perales C., Escarmis C. Coxsackieviruses and quasispecies theory: evolution of enteroviruses. *Curr. Top. Microbiol. Immunol.* 2008, 323, 3–32.

13. Feuer R., Mena I., Pagarigan R. R., Hassett D. E., Whitton J. L. Coxsackievirus replication and the cell cycle: a potential regulatory mechanism for viral persistence/latency. *Medical Microbiology and Immunology* (Berlin). 2004, 193 (2/3), 83–90.
14. Feuer R., Mena I., Pagarigan R. R., Slifka M. K., Whitton J. L. Cell cycle status affects coxsackievirus replication persistence, and reactivation in vitro. *Journal of Virology*. 2002, 76 (9), 4430–4440.
15. Feuer R., Ruller C. M., An N., Tabor-Godwin J. M., Rhoades R. E., Maciejewski S., Pagarigan R. R., Cornell C. T., Crocker S. J., Kiosses W. B. et al. Viral persistence and chronic immunopathology in the adult central nervous system following Coxsackievirus infection during the neonatal period. *J. Virol.* 2009, 83, 9356–9369.
16. Girard S., Gosselin A. S., Pelletier I., Colbere-Garapin F., Couderc T., Blondel B. Restriction of poliovirus RNA replication in persistently infected nerve cells. *Journal of General Virology*. 2002, 83 (Pt 5), 1087–1093.
17. Gromeier M., Wimmer E. Mechanism of injury-provoked poliomyelitis. *J. Virol.* 1998, 72, 5056–5060.
18. Han J., Ma X. J., Wan J. F., Liu Y. H., Han Y. L., Chen C., Tian C., Gao C., Wang M., Dong X. P. Long persistence of EV71 specific nucleotides in respiratory and feces samples of the patients with hand-foot-mouth disease after recovery. *BMC Infect. Dis.* 2010, 10, 178.
19. Hennessey K. A., Lago H., Diomande F. et al. Poliovirus vaccine shedding among persons with HIV in Abidjan Cote d'Ivoire. *J. Infect. Dis.* Dec. 15, 2005, 192 (12), 2124–2128.
20. Julien J., Leparc-Goffart I., Lina B., Fuchs F., Foray S., Janatova I., Aymard M., Kopecka H. Postpolio syndrome: Poliovirus persistence is involved in the pathogenesis. *J. Neurol.* 1999, 246, 472–476.
21. Kim K. S., Tracy S., Tappich W., Bailey J., Lee C. K., Kim K., Barry W. H., Chapman N. M. 5'-Terminal deletions occur in coxsackievirus B3 during replication in murine hearts and cardiac myocyte cultures and correlate with encapsidation of negative-strand viral RNA. *J. Virol.* 2005 (6), 79, 7024–7041.
22. Kim K. S., Chapman N. M., Tracy S. Replication of coxsackievirus B3 in primary cell cultures generates novel viral genome deletions. *J. Virol.* 2008, 82, 2033–2037.
23. Kim K. S., Tracy S., Tappich W., Bailey J., Lee C. K., Kim K., Barry W. H., Chapman N. M. 51-Terminal deletions occur in coxsacki-

- evirus B3 during replication in murine hearts and cardiac myocyte cultures and correlate with encapsidation of negative-strand viral RNA. *J. Virol.* 2005 (a), 79, 7024–7041.
24. Ng C. T., Sullivan B. M., Teijaro J. R., Lee A. M., Welch M., Rice S., Sheehan K. C., Schreiber R. D., Oldstone M. B. Blockade of interferon β , but not interferon α , signaling controls persistent viral infection. *Cell. Host Microbe*. 2015, 17, 653–661.
25. Novak J. E., Kirkegaard K. Improved method for detecting poliovirus negative strands used to demonstrate specificity of positive-strand encapsidation and the ratio of positive to negative strands in infected cells. *J. Virol.* 1991, 65, 3384–3387.
26. Roussarie J. P., Ruffie C., Brahic M. The role of myelin in Theiler's virus persistence in the central nervous system. *PLoS Pathog.* 2007, 3, e23.
27. Schilthuisen C., Berenschot H. W., Levin M. D. Enteroviral encephalitis in a patient with a marginal zone lymphoma treated with rituximab. *Neth. J. Med.* 2010, 68, 221–223.
28. Servais S., Caers J., Warling O., Frusch N., Baron F., De P. B., Beuguin Y. Enteroviral meningoencephalitis as complication of Rituximab therapy in a patient treated for diffuse large B-cell lymphoma. *Br. J. Haematol.* 2010, 150, 379–381.
29. Swanson N. R., Fox S. A., Mastaglia F. L. Search for persistent infection with poliovirus or other enteroviruses in amyotrophic lateral sclerosis-motor neurone disease. *Neuromuscul. Disord.* 1995, 5, 457–465.
30. Tam P. E., Messner R. P. Molecular mechanisms of coxsackievirus persistence in chronic inflammatory myopathy: Viral RNA persists through formation of a double-stranded complex without associated genomic mutations or evolution. *J. Virol.* 1999, 73, 10113–10121.
31. Vignuzzi M., Stone J. K., Arnold J. J., Cameron C. E., Andino R. Quasispecies diversity determines pathogenesis through cooperative interactions in a viral population. *Nature*. 2006, 439, 344–348.
32. Woodall C. J., Riding M. H., Graham D. I., Clements G. B. Sequences specific for enterovirus detected in spinal cord from patients with motor neurone disease. *BMJ*. 1994, 308, 541–1543.
33. Zhang X., Zheng Z., Shu B., Liu X., Zhang Z., Liu Y., Bai B., Hu Q., Mao P., Wang H. Human astrocytic cells support persistent coxsackievirus B3 infection. *J. Virol.* 2013, 87, 12407–12421.

9. Современные подходы к терапии энтеровирусных инфекций

Несмотря на отсутствие специфической терапии ЭВИ, на сегодняшний день показана эффективность ряда препаратов *in vitro*, так же как и на животных моделях [Jain, 2014; Smee, 2016]. Кроме того, предложены перспективные направления разработки новых противовирусных средств. Потенциальные эффекторы, такие как IFN и противовирусные антитела, эффективны на ранних стадиях вирусного жизненного цикла. Проведены пилотные исследования эффективности введения внутривенных иммуноглобулинов (IVIG) новорожденным с предполагаемой ЭВИ [Abzug, 1995]. IVIG использовались и при ряде вспышек, но без доказанной связи между их использованием и благополучным исходом [Wang, 2006]. Уровень смертности варьировал в зависимости от физиологического состояния пациента и серотипа вируса и достигал 10%. После эпидемической вспышки EV68-инфекции в 2014 году коммерческие IGIV были протестированы на наличие и уровень антител к EV68, в результате продемонстрирован высокий титр нейтрализующих антител [Zhang, 2015]. Пассивная иммунизация IGIV может быть рекомендована при инфицировании EV68 в качестве дополнительной терапии.

Пулированные иммуноглобулины вводились внутривенно или через шунт в ЦСЖ пациентам с агаммаглобулинемией и хроническими энцефалитами и менингитами, ассоциированными с НПЭВ. Иммунокомпрометированные пациенты

с персистирующей ЭВИ, включая PV-инфекцию, представляют собой наиболее терапевтически сложную группу. Несмотря на то, что IVIG предупреждают развитие у данной категории больных полиомиелита, ЭВИ может прогрессировать. В некоторых случаях эффективность проводимой терапии недостаточна в связи с неадекватным содержанием соответствующих антител в используемых препаратах (т. е. в тех случаях, когда инфекция вызвана необычным и редким серотипом EV) или с проблемами в доставке адекватных количеств антител к клеткам-мишеням.

На сегодняшний день существует ряд противовирусных препаратов, мишенями которых являются EV-белки. Соединения WIN и родственные им производные, которые первоначально продемонстрировали свою эффективность в отношении риновирусов, показывают достаточно стабильные результаты. Эти препараты связываются с гидрофобным участком вириона, называемым «карманом», который лежит на дне каньона в месте прикрепления вируса к клеточным рецепторам, таким образом препятствуя прикреплению и «раздеванию» вируса. Вариации в степени эффективности соединений WIN в отношении различных пикорнавирусов, по-видимому, связаны с возможностями препаратов фиксироваться в «кармане» данного специфического штамма EV. Введение WIN 54954 значительно снижало вероятность развития респираторной инфекции при инфицировании CVA21 (у 3 из 27 пациентов в получающей препарат группе была инфекция верхних дыхательных путей против 15 из 23 в группе, получающей плацебо) со снижением соответствующих симптомов и титров вируса. Однако побочные реакции стали причиной приостановки исследования действия данной группы препаратов.

Плеконарил (Pleconaril) или VP 63843 — еще одно соединение с широкой ингибиторной активностью *in vitro*, доказанной в отношении 95% из 215 тестируемых НПЭВ [Hayden, 2003; Abzug, 2015]. Выраженная эффективность плеконарила

была показана в отношении отдельных серотипов, например ECHO11. Рандомизированное двойное слепое исследование эффективности плеконарила при CVA21-инфекции продемонстрировало статистически значимое снижение выделения вируса с назальным секретом, образования назальной слизи и в целом снижение частоты симптомов респираторного заболевания у пациентов, получавших плеконарил, по сравнению с группой, получавшей плацебо. Вторая фаза исследования данного препарата при энтеровирусных менингитах продемонстрировала значительное снижение длительности течения заболевания (9,5 дней в плацебо-группе против 4,0 дней в основной группе). Дальнейшие исследования, однако, не подтвердили клиническую эффективность использования плеконарила у детей с энтеровирусными менингитами [Abzug, 2003]. Проблемы с использованием данных противовирусных соединений связаны с тем, что в ходе лечения возникают мутантные варианты вируса, резистентные к используемым препаратам.

Энвироксим (Enviroxime) — противовирусный препарат, мишенью которого является неструктурный белок 3A, блокирует синтез положительной цепи вирусной RNA. Несмотря на то что этот препарат ингибировал EV и риновирусную инфекцию *in vitro*, он оказался токсичным и малоэффективным в исследованиях *in vivo* [Diana, 1997]. Резистентность к энвироксиму вызывалась заменой аминокислоты в белке 3A в 30-й позиции [Heinz, 1996].

Обещающие результаты на животных моделях при EV71-инфекции были получены в отношении рибавирина (Ribavirin) [Li, 2008; Gross, 2015].

К капсид-связывающим агентам относятся пиродавир (pirodavir) и вапендавир (varendavir), обладающие противовирусной активностью в отношении EV71 и PV [Bernard, 2015]. Однако клинический опыт использования этих препаратов чрезвычайно мал, не удалось также продемонстрировать значимую противовирусную активность препаратов в отношении

EV68 [Rhoden, 2015]. Существуют и другие специфические ингибиторы EV, но их клинические исследования не проводятся в связи с ограниченной антивирусной активностью, резистентностью циркулирующих штаммов и фармакоэкономическими соображениями [Abzug, 2014].

Для противовирусной терапии при ЭВИ могут быть использованы и уже существующие препараты, например, мефлохин (антималарийный препарат), антидепрессант флуоксетин и диуретик амилорид, обладающие противовирусной активностью *in vitro* в отношении одного или нескольких EV [Abzug, 2014]. Флуоксетин ингибирует EV, в том числе EV68 и CVB [Rhoden, 2015; Ulferts, 2013; Zuo, 2012]. К сожалению, концентрации флуоксетина и его активного метаболита норфлуоксетина не достигают ингибирующих пороговых значений, которые необходимы для лечения системных форм ЭВИ [Ulferts, 2013]; их концентрация в ЦСЖ выше и гипотетически может быть терапевтической [Tyler, 2015]. Мефлохин также малоэффективен в достижимых концентрациях.

Предлагаемые в последнее время стратегии противовирусной терапии включают в себя использование чувствительных к лекарственным препаратам ингибирующих вирусов, которые подавляют рост устойчивых штаммов [Crowder, 2005]. К регионам, которые могут служить в качестве мишеней для генерации таких доминантных дефектных вирусов, относятся: а) капсидный и полимеразы-кодирующий регион (возникает интерференция при взаимодействии с соответствующим диким типом белка); б) *сre* и VPg (геном-связанные вирусные белки), возможно, из-за того, что их повреждение приводит к образованию ингибирующих промежуточных соединений; в) 2A, возможно, в связи с тем, что неполное внутримолекулярное расщепление VP1–2A оказывает ингибирующее действие на сборку вирусного капсида. 2A-протеиназа является наиболее привлекательной мишенью. Введение малых интерферирующих RNA (siRNA) также использовалось

для терапии ЭВИ (при инфицировании *in vitro* PV и CVB3) [Ahn, 2005; Gitlin, 2005]. Использование пула siRNA для повреждения многочисленных регионов вирусного генома приводило к снижению частоты формирования резистентности вирусов в связи с возникновением мутаций. Возможность получения siRNA, эффективных против множества близкородственных EV, делает их чрезвычайно привлекательным средством контроля ЭВИ у человека.

Использование miRNA также представляет собой один из альтернативных терапевтических подходов при НПЭВ-инфекциях. Показано, что нейтрализация EV71-индуцированной miR-146a предупреждает гибель инфицированных EV71 мышей, восстанавливая продукцию I IFN [Ho, 2014]. Возможная токсичность и генотоксичность препарата при использовании его для лечения ЭВИ имеет не столь критическое значение, как при хронических инфекциях или опухолевых образованиях, в связи с непродолжительным периодом применения.

Список цитируемой литературы

1. Abzug M.J., Cloud G., Bradley J., et al. Double blind placebo-controlled trial of pleconaril in infants with enterovirus meningitis. *Pediatr. Infect. Dis. J.* Apr 2003, 22 (4), 335–341.
2. Abzug M. J., Keyserling H. L., Lee M. L., Levin M. J., Rotbart H. A. Neonatal enterovirus infection: virology, serology, and effects of intravenous immune globulin. *Clin. Infect. Dis.* 1995, 20 (5), 1201–1206.
3. Abzug M. J., Michaels M. G., Wald E. et al. A Randomized Double-Blind Placebo-Controlled Trial of Pleconaril for the Treatment of Neonates With Enterovirus Sepsis. *J. Pediatric. Infect. Dis. Soc.* 2015.
4. Abzug M. J. The enteroviruses: problems in need of treatments. *J. Infect.* 2014, 68 (Suppl1), 108–114.

5. Ahn J., Jun E. S., Lee H. S. et al. A small interfering RNA targeting coxsackievirus B3 protects permissive HeLa cells from viral challenge. *J. Virol.* Jul 2005, 79 (13), 8620–8624.
6. Bernard A., Lacroix C., Cabiddu M. G. et al. Exploration of the anti-enterovirus activity of a series of pleconaril/pirodavir-like compounds. *Antivir. Chem. Chemother.* 2015
7. Crowder S., Kirkegaard K. Transdominant inhibition of RNA viral replication can slow growth of drugresistant viruses. *Nat. Genet.* Jul 2005, 37 (7), 701–709.
8. Diana G. D., Pevear D. C. Antipicornavirus drugs: current status. *Antiviral Chemistry & Chemotherapy.* 1997, 8, 401–408.
9. Gitlin L., Stone J. K., Andino R. Poliovirus escape from RNA interference: short interfering RNA-target recognition and implications for therapeutic approaches. *J. Virol.* Jan 2005, 79 (2), 1027–1035.
10. Gross A. E., Bryson M. L. Oral ribavirin for the treatment of noninfluenza respiratory viral infections: a systematic review. *Ann. Pharmacother.* 2015, 49, 1125–1135.
11. Hayden F. G., Herrington D. T., Coats T. L. et al. Efficacy and safety of oral pleconaril for treatment of colds due to picornaviruses in adults: results of 2 double-blind randomized placebo-controlled trials. *Clin Infect Dis.* 2003, 36, 1523–1532.
12. Heinz B. A., Vance L. M. Sequence determinants of 3A-mediated resistance to envoxime in rhinoviruses and enteroviruses. *J. Virol.* 1996, 70 (7), 4854–4857.
13. Ho B. C., Yu I. S., Lu L. F., Rudensky A., Chen H. Y., Tsai C. W., Chang Y. L., Wu C. T., Chang L. Y., Shih S. R. et al. Inhibition of miR-146a prevents enterovirus-induced death by restoring the production of type I interferon. *Nat. Commun.* 2014, 5.
14. Jain S., Patel B., Bhatt G. C. Enteroviral encephalitis in children: clinical features, pathophysiology, and treatment advances. *Pathog. Glob. Health.* 2014, 108, 216–222
15. Li Z. H., Li C. M., Ling P. et al. Ribavirin reduces mortality in enterovirus 71-infected mice by decreasing viral replication. *J. Infect. Dis.* 2008, 197, 854–857.
16. Rhoden E., Zhang M., Nix W. A. et al. In vitro efficacy of antiviral compounds against enterovirus D68. *Antimicrob Agents Chemother.* 2015

17. Smee D. F., Evans W. J., Nicolaou K. C., Tarbet E. B., Day C. W. Susceptibilities of enterovirus D68, enterovirus 71, and rhinovirus 87 strains to various antiviral compounds. *Antiviral. Res.* 2016, 131, 61–65.
18. Tyler K. L. Rationale for the Evaluation of Fluoxetine in the Treatment of Enterovirus D68-Associated Acute Flaccid Myelitis. *JAMA Neurol.* 2015
19. Ulferts R., van der Linden L., Thibaut H. J. et al. Selective serotonin reuptake inhibitor fluoxetine inhibits replication of human enteroviruses B and D by targeting viral protein 2C. *Antimicrob. Agents. Chemother.* 2013, 57, 1952–1956.
20. Wang J. N., Yao C. T., Yeh C. N. et al. Critical management in patients with severe enterovirus 71 infection. *Pediatr. Int.* 2006, 48, 250–256
21. Zhang Y., Moore D. D., Nix W. A. et al. Neutralization of Enterovirus D68 isolated from the 2014 US outbreak by commercial intravenous immune globulin products. *J. Clin. Virol.* 2015, 69, 172–175.
22. Zuo J., Quinn K. K., Kye S. et al. Fluoxetine is a potent inhibitor of coxsackievirus replication. *Antimicrob. Agents Chemother.* 2012, 56, 4838–4844.

Заключение

По сравнению с серединой прошлого века, когда с появлением вакцин от полиомиелита появилась уверенность в том, что человек способен контролировать это тяжелое заболевание, наши представления о молекулярной биологии EV продвинулись далеко вперед. Новые технологии позволяют эффективно контролировать циркулирующие штаммы вирусов, появляются новые лекарственные препараты, обладающие активностью в отношении EV, вакцины, направленные против НПЭВ. Между тем постоянно пополняется и список вновь идентифицированных серотипов EV, и перечень вызываемых ими заболеваний. Вслед за авторами монографии, опубликованной почти 30 лет назад (Бочаров Е. Ф., Ерман Б. А., Фомин В. В. и др., 1990), следует признать, что «мы имеем дело со своеобразной и весьма опасной группой вирусов, значение которых в патологии человека еще далеко от полного понимания».

Одними из важнейших аспектов ЭВИ, привлекающих внимание исследователей, являются вопросы взаимодействия EV с иммунной системой хозяина. Интенсивно изучается роль основных сенсоров врожденного иммунитета, участвующих в распознавании EV, и разнообразие контрмеханизмов, используемых EV для противодействия реакциям врожденного противовирусного иммунитета, включая регуляцию процессов аутофагии и манипуляцию экспрессией miRNA. Не менее значимую роль в контроле ЭВИ играют реакции адаптивного

иммунитета, регулируемые различными субпопуляциями Т-лимфоцитов. Возрастные, ассоциированные с полом и HLA особенности резистентности организма, наряду с антигенными характеристиками EV, в конечном итоге определяют эффективность противовирусного иммунного ответа, программируя форму клинической манифестации заболевания, его течение и исход, в том числе в виде персистенции EV в организме хозяина.

Список сокращений

ГЭБ	гематоэнцефалический барьер
ЖКТ	желудочно-кишечный тракт
НПЭВ	неполиомиелитные энтеровирусы
СМ	серозный менингит
ЦИК	циркулирующие иммунные комплексы
ЦНС	центральная нервная система
ЦСЖ	цереброспинальная жидкость
ЭВИ	энтеровирусная инфекция
ЭПР	эндоплазматический ретикулум
АРС	антигенпредставляющая клетка
ATG	аутофагия-родственные гены
АТФ	аденозинтрифосфат
CD	кластер дифференцировки
CV	Coxsackie вирус
CTL	цитотоксический Т-лимфоцит
DC	дендритная клетка
DNA	дезоксирибонуклеиновая кислота
ECHO	(Enteric Cytopathic Human Orphan) вирус
EV	энтеровирус
HLA	лейкоцитарные антигены человека
IFN	интерферон
Ig	иммуноглобулин
IL	интерлейкин
ISGs	интерферон-стимулированные гены
MHC	главный комплекс гистосовместимости
mRNA	матричная рибонуклеиновая кислота

miRNA	микрорибонуклеиновая кислота
NK	естественные киллеры
NLR	NOD -подобные рецепторы
PAMP	патоген-ассоциированный молекулярный паттерн
PCR	полимеразная цепная реакция
PRR	паттерн-распознающий рецептор
PV	полиовирус
RNA	рибонуклеиновая кислота
Tc	цитотоксический Т-лимфоцит
TCR	Т-клеточный рецептор
T _{CM}	центральная Т-клетка памяти
T _{EFF}	Т-эффектор
T _{EM}	эффекторная Т-клетка памяти
T _{FH}	фолликулярный Т-хелпер
T _{EMRA}	терминально дифференцированная Т-клетка
TGF	трансформирующий фактор роста
Th	Т-хелпер
TLR	Toll-подобные рецепторы
TNF	фактор некроза опухолей
T _{reg}	регуляторный Т-лимфоцит

Научное издание

Лагерева Юлия Геннадьевна
Бейкин Яков Борисович
Черешнев Валерий Александрович

**ИММУНОЛОГИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ
ЭНТЕРОВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИИ
ЦЕНТРАЛЬНОЙ НЕРВНОЙ СИСТЕМЫ**

Редактор Е. Чагина
Верстка О. Игнатъевой

Подписано в печать 21.05.2018. Формат 60×84/16.
Усл. печ. л. 11,2. Тираж 500 экз. Заказ

Отпечатано в соответствии с качеством
предоставленного оригинал-макета
в ОАО «ИПП «Уральский рабочий»
620990, г. Екатеринбург, ул. Тургенева, 13.
<http://www.uralprint.ru> e-mail: [sales@ uralprint.ru](mailto:sales@uralprint.ru)