

ЭРИТРОЦИТЫ В ПАТОГЕНЕЗЕ ЛИХОРАДКИ ЭБОЛА

Дадаева А.А., Субботина Е.Л., Сизикова Л.П., Бакулина А.Ю., Малкова Е.М.

ФГУН ГНЦ вирусологии и биотехнологии «Вектор» Роспотребнадзора

пос. Кольцово Новосибирской обл., Россия, 630559,

malkova@vector.nsc.ru тел: 8-(383)-336-60-10

Резюме

Начиная с 1-х суток после введения морским свинкам дикого и адаптированного штаммов вируса Эбола (ВЭ), в гепатоцитах животных наблюдали признаки активного синтеза белка и появление цитоплазматических оксифильных включений. Однако к 7-м суткам у морских свинок, инфицированных диким штаммом ВЭ, подобные изменения в гепатоцитах исчезли, тогда как у морских свинок, инфицированных адаптированным штаммом ВЭ, количество гепатоцитов с оксифильными включениями значительно увеличилось, а также было отмечено активное осаждение вышедших из гепатоцитов оксифильных структур на эритроцитах. Помимо оксифильных включений в части гепатоцитов наблюдали базофильные включения, а также наличие базофильных структур на эритроцитах. Предположено, что оксифильные и базофильные структуры содержат белки и вирионы ВЭ. Наличие таких структур на эритроцитах показывает задействованность данного вида клеток в процессах миграции белков в ходе лихорадки Эбола, а следовательно, эритроциты могут быть важным звеном патогенеза Эбола-инфекции.

Ключевые слова: вирус Эбола, лихорадка Эбола, патогенез, гепатоциты, эритроциты.

ERYTHROCYTES IN EBOLA FEVER PATHOGENESIS

Dadaeva A.A., Subbotina E.L., Sizikova L.P., Bakulina A.Yu., Malkova E.M.

FSRI SRI of virology and biotechnology “Vector” of the Federal Service for Surveillance on

Consumer Rights Protection and Human Well-being

Koltsovo, Novosibirsk region, Russia, 630559,

malkova@vector.nsc.ru phone: 8-(383)-336-60-10

Resume

Beginning from day 1 post infection of guinea pigs with wild and adapted strains of Ebola virus in hepatocytes of animals the signs of active synthesis were observed as well as the appearance of intracytoplasm oxyfill inclusions. However to day 7 post infection in guinea pigs infected with wild strain of Ebola virus such changes in hepatocytes disappeared in contrast to guinea pigs infected with adapted strain of Ebola virus, where number of hepatocytes with oxyfill inclusions raised significantly and the sedimentation of oxyfill formations on erythrocytes were registered. Besides oxyfill inclusions in some hepatocytes the basofill inclusions were met as well as basofill formations on erythrocytes. The presence of such formations on erythrocytes shows the involvement of these cells into migration of proteins during Ebola fever and, consequently, erythrocytes may be the important link of Ebola fever pathogenesis.

Key words: Ebola virus, Ebola fever, pathogenesis, hepatocytes, erythrocytes.

Введение

Лихорадка Эбола остается одной из самых загадочных инфекций в мире. Ее патогенез, несмотря на более чем 30-тилетнее изучение, по-прежнему окончательно не понят, что ставит перед исследователями задачу поиска новых подходов к его изучению. Лихорадка Эбола вызывается вирусом Эбола (ВЭ), который относится к семейству Filoviridae, роду Ebolavirus, имеющему в настоящее время 5 видов, в каждый из которых входит от 1 до 6 штаммов. Почти все они способны вызывать у человека и приматов высоколетальные лихорадки с геморрагическим синдромом.

Для изучения патогенеза лихорадки Эбола в экспериментальных условиях нужна удобная лабораторная модель. Подобной моделью могут служить морские свинки, инфицированные специально адаптированным к ним штаммом ВЭ. Такой штамм ВЭ, полученный путем селективного пассирования дикого штамма ВЭ на морских свинках, вызывает у этих животных развитие быстротечного тяжелого заболевания с летальным исходом, имеющего сходные клинические симптомы с лихорадкой Эбола, протекающей у человека и приматов. При инфицировании морских свинок диким штаммом ВЭ у них развивается нелетальное заболевание с температурной реакцией без клинических признаков лихорадки Эбола. Сравнение патологических процессов у морских свинок при введении дикого и адаптированного штаммов ВЭ, позволяет выявлять особенности

патогенеза лихорадки Эбола. Для выявления отличий в процессах, развивающихся при введении морским свинкам дикого и адаптированного штаммов ВЭ, изучены мазки-отпечатки печени и мазки крови, полученные в аналогичные сроки и у одних и тех же животных после введения вирусного материала.

Материалы и методы

Работа выполнена в специализированных помещениях ФГУН ГНЦ ВБ «Вектор», предназначенных для работы с особо опасными вирусами (уровень BSL-4) в 1999-2004 гг.

В работе использовали: 1) ВЭ, вид Заир Эбола вирус, штамм Заир, полученный из коллекции ФГУН ГНЦ ВБ «Вектор». У морских свинок вызывает нелетальную инфекцию с температурной реакцией и последующим выздоровлением. Вирус прошел 2 пассажа на приматах и был наработан на культуре клеток Vero. Далее обозначен, как дВЭ (дикий штамм ВЭ). 2) ВЭ, вид Заир Эбола вирус, штамм К-5, адаптированный к морским свинкам и вызывающий у них летальное заболевание. Получен селективным пассированием дВЭ на морских свинках, как описано в [1, 2]. Далее обозначен, как адВЭ (адаптированный штамм ВЭ).

В работе использовали нелинейных морских свинок Hartley массой 200-250 г. Животных получали из вивария ФГУН ГНЦ ВБ «Вектор» и содержали на стандартном рационе. Все болезненные процедуры проводили под прикрытием эфирного наркоза. Уход за инфицированными животными и работа с ними осуществлялись в условиях инфекционного вивария с уровнем биобезопасности BSL-4 (работа персонала в защитных костюмах «Антибелок-5») и с соблюдением рекомендаций, изложенных в [3].

Морским свинкам вводили внутрибрюшинно по 1 мл дВЭ и адВЭ (содержание вируса 10^3 БОЕ/мл). Проводили ежедневное измерение ректальной температуры. Взятие крови (от каждой морской свинки отдельно) производили кардиальной пункцией. Для гематологических исследований использовали кровь с 2%-ным раствором этилендиаминтетраацетата (ЭДТА) в соотношении 1:9 (одна часть коагулянта и 9 частей крови). Из полученной ЭДТА-крови делали тонкие мазки на предметных стеклах. После взятия крови животных усыпляли, вскрывали, готовили образцы для определения содержания вируса (10%-ный печеночный гомогенат) и делали мазки-отпечатки печени. Мазки фиксировали в парах формалина в течение 2-х суток. Далее мазки окрашивали азур-II-эозином и изучали с использованием иммерсионного масла (объектив x100, окуляр x10). Материал забирали в 0-е сутки (фоновые показатели) и 1-е, 3-и, 5-е, 7-е, 9-е, 11-е, 15-

е, 20-е сутки после инфицирования (от 4-х морских свинок из каждой группы). Группой контроля являлись интактные морские свинки, находящиеся в аналогичных условиях содержания. Взятие крови и прочие процедуры осуществлялись у интактных животных в те же сроки, что и у экспериментальных.

Содержание ВЭ в биологических образцах определяли по образованию бляшек под агаровым покрытием согласно методическим рекомендациям, изложенным в [4, 5] в модификации [6]. Для титрования дВЭ и адВЭ использовали культуру клеток Vero. Бляшки считали на 7-8-е сутки после инфицирования монослоя клеток указанными образцами.

Результаты и обсуждения

Морские свинки, инфицированные дВЭ, внешне не имели признаков заболевания, однако у половины животных повышалась ректальная температура до 39,5-39,7⁰С на 7-9-е сутки. Содержание вируса в крови и 10%-ном печеночном гомогенате на 7-9-е сутки составило 10^{2,5}-10³ БОЕ/мл. Морские свинки, инфицированные адВЭ, продемонстрировали повышение ректальной температуры до 40,0-40,5⁰С на 7-9-е сутки. Внешне животные выглядели больными, малоподвижными, у них наблюдали эффект «мокрой шерсти» и потерю аппетита. Начиная с 9-х суток, регистрировались летальные исходы. На 15-е сутки умерло последнее животное. Содержание вируса в крови и 10%-ном печеночном гомогенате на 7-9-е сутки достигало 10⁴-10⁵ БОЕ/мл.

Мазки-отпечатки органов позволяют оценивать патологические процессы, протекающие в организме инфицированных животных, минуя сложные процедуры обработки образцов тканей. При этом на мазках-отпечатках можно увидеть отдельные тканевые клетки в окружении сопутствующих эритроцитов.

В мазках-отпечатках печени морских свинок, инфицированных адВЭ, полученных на 7-е сутки после введения инфекционного материала, находились многочисленные гепатоциты с различной степенью деструкции (гепатоциты округлой формы, распадающиеся на фрагменты, с вакуолизированной цитоплазмой, нарушенной целостностью цитоплазматической мембраны). Многие из них содержали в цитоплазме оксифильные включения различной формы и интенсивности окраски (рис. 1). Мы также наблюдали аналогичные структуры, связанные с эритроцитами, окружающими инфицированные гепатоциты (рис. 1). Данные наблюдения позволяют предполагать, что оксифильные включения, выходящие из гепатоцитов, высвобождаясь во внеклеточное пространство, оседали на эритроцитах. При этом в мазках-отпечатках печени морских

свинок, инфицированных дВЭ, подобной картины не наблюдалось. Гепатоциты в подавляющем большинстве сохраняли присущую им форму. Включений оксифильного цвета в цитоплазме не было, также они отсутствовали и на эритроцитах. Но сами эритроциты при этом слипались и массивно образовывали конгломераты.

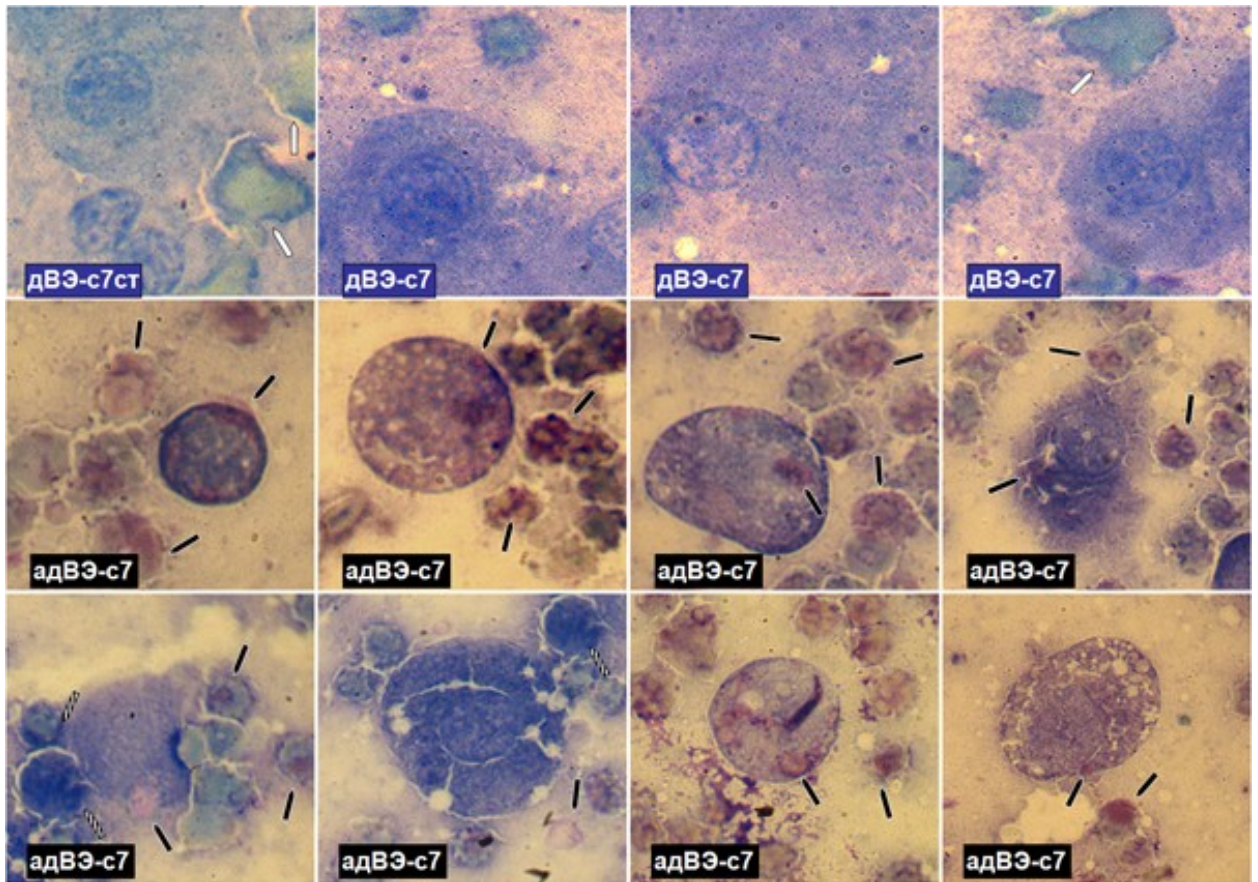


Рис 1. Гепатоциты в мазках-отпечатках печени морских свинок через 7 суток после инфицирования дВЭ или адВЭ. Буква «с» после дефиса обозначает сутки. Черные стрелки выборочно указывают на оксифильные включения в гепатоцитах и на оксифильные структуры на эритроцитах. Белые стрелки указывают на конгломераты эритроцитов. Эритроциты после обработки мазков парами формалина прокрашиваются в зеленый цвет. Окраска азур-II-эозином. Увеличение $\times 1000$.

Первые признаки появления оксифильных включений в гепатоцитах были зафиксированы уже на 1-е сутки после введения морским свинкам вируса (как дВЭ, так и адВЭ) (рис. 2). При этом гепатоцитов, содержащих оксифильные включения, было на порядок выше в мазках-отпечатках печени морских свинок, инфицированных адВЭ, в то время как в мазках-отпечатках печени дВЭ-инфицированных животных преобладали гепатоциты, в цитоплазме которых были видны спиралевидные и ветвящиеся узоры.

Подобные спиралевидные узоры в цитоплазме встречаются в клетках при многих патологических состояниях, в частности, при лимфоме Беркитта [7], и их появление связано с фазой активного синтеза белка.

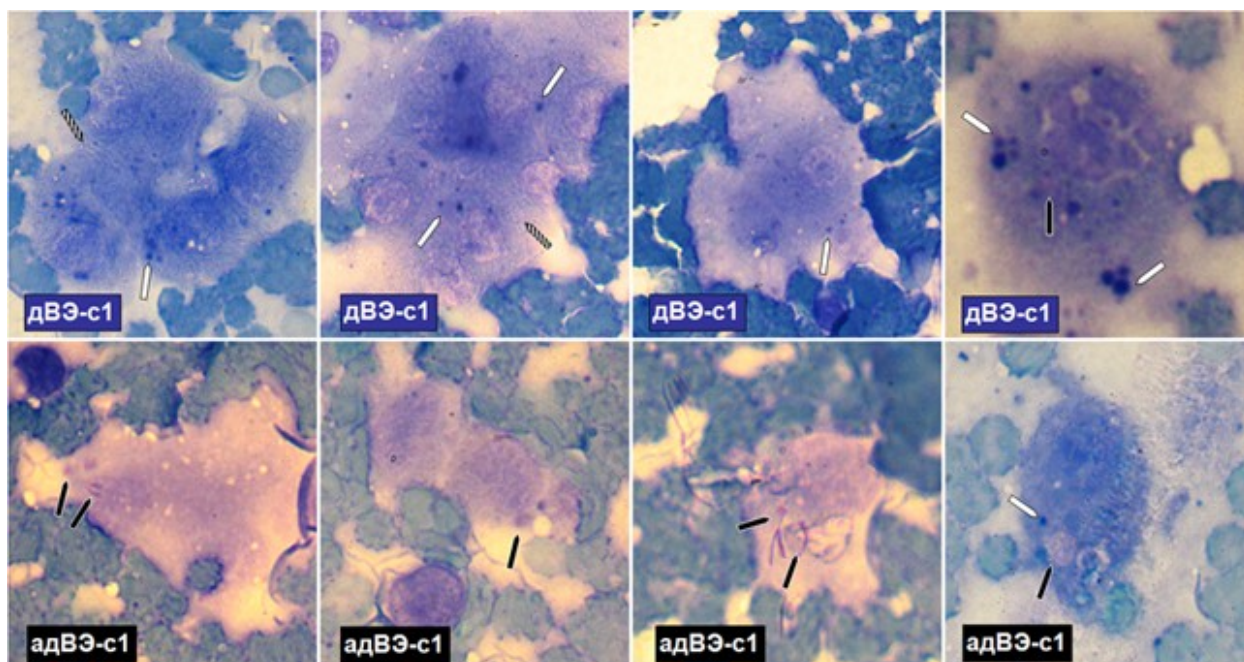


Рис 2. Гепатоциты в мазках-отпечатках печени морских свинок через сутки после инфицирования дВЭ или адВЭ. Буква «с» после дефиса обозначает сутки. Черные стрелки указывают на оксифильные включения в цитоплазме гепатоцитов, белые стрелки - выборочно на скопления базофильных гранул в цитоплазмах гепатоцитов, полосатые стрелки - выборочно на спиралевидные узоры в цитоплазме гепатоцитов. Окраска азур-П-эозином. Увеличение $\times 1000$.

Поэтому можно сказать, что видимые в нашем случае спиралевидные и ветвящиеся узоры в цитоплазмах гепатоцитов ВЭ-инфицированных морских свинок свидетельствуют о том, что данные гепатоциты на 1-е сутки после введения вирусного материала находились в фазе активного синтеза. В цитоплазме гепатоцитов также наблюдали скопления базофильных гранул различного размера. Можно предположить, что эти гранулы являлись синтезируемыми гепатоцитами белками. Появление базофильных и оксифильных включений в цитоплазме гепатоцитов могло быть и результатом нарушения синтеза собственных белков клетки и указывать на появление очагов парциального и коагуляционного некроза в цитоплазме.

В печени инфицированных животных (как дВЭ, так и адВЭ) на 1-е сутки число эритроцитов, связанных с высвободившимися из гепатоцитов оксифильными включениями было невелико, хотя вне пределов клеток оксифильные структуры встречались достаточно часто. На 7-е сутки после введения адВЭ разрушающиеся гепатоциты с оксифильными включениями занимали от 50 до 75 процентов площади мазков. Несмотря на то, что в печени морских свинок, инфицированных дВЭ, на 7-е сутки не были найдены эритроциты, связанные с оксифильными структурами, такие эритроциты присутствовали в крови животных как на 7-е сутки, так и ранее, на 1-е сутки, а также и в более поздние сроки (рис. 3, 4). Такие же эритроциты присутствовали и в крови адВЭ-инфицированных животных. Частота встречаемости подобных эритроцитов варьировала в пределах 1-2 на 10^4 эритроцитов.

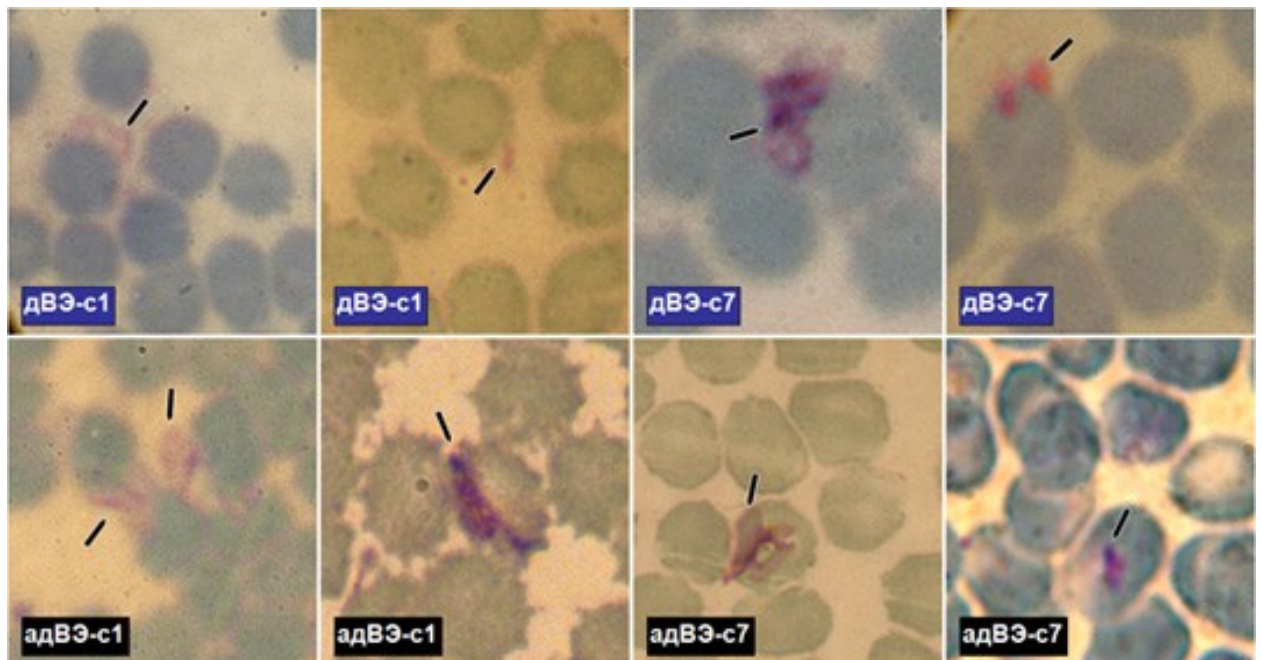


Рис.3. Оксифильные структуры на эритроцитах в крови морских свинок на 1-е и 7-е сутки после инфицирования дВЭ или адВЭ. Буква «с» после дефиса обозначает сутки. Окраска азур-II-эозином. Стрелки указывают на оксифильные структуры. Увеличение $\times 1000$.

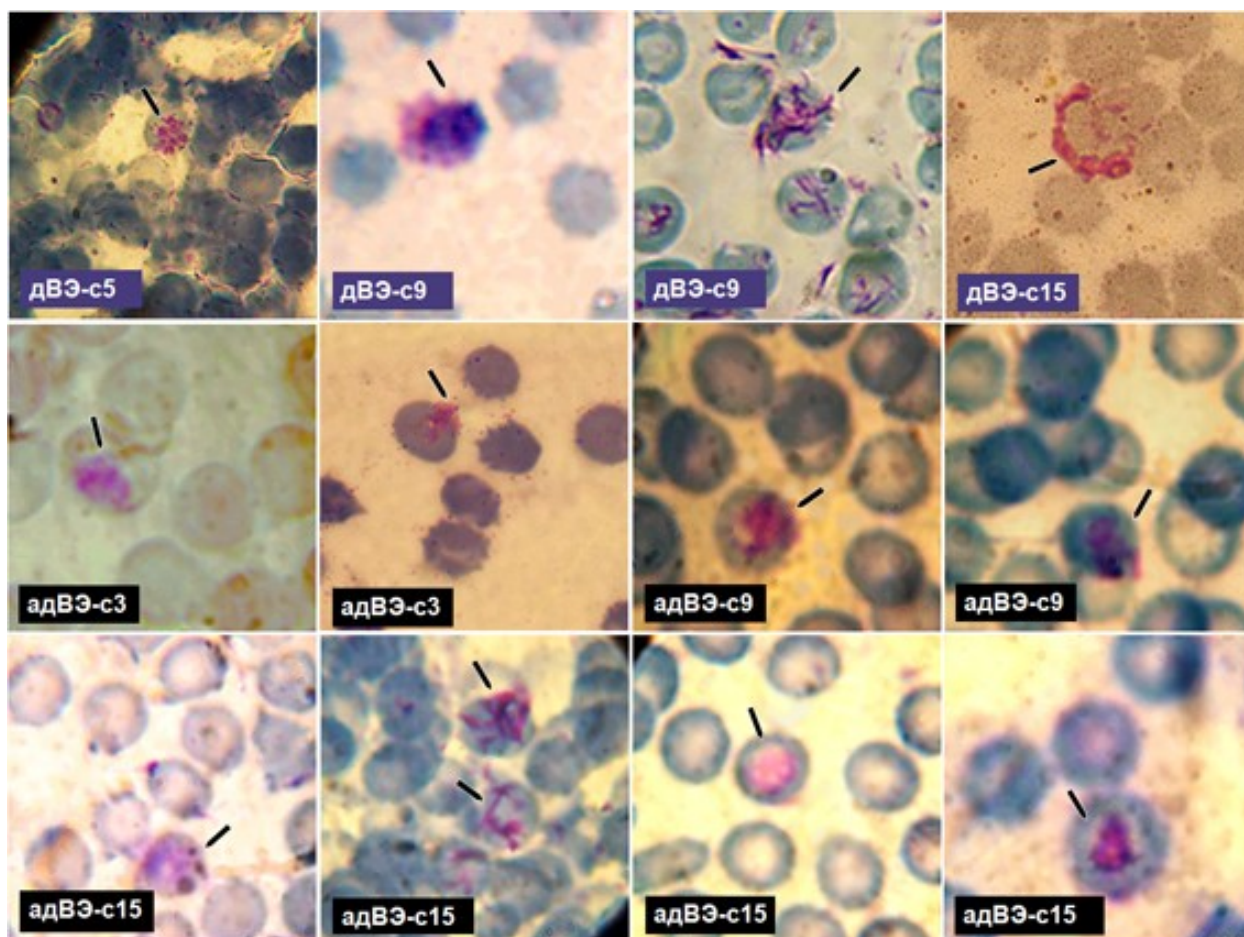


Рис.4. Оксифильные структуры на эритроцитах в крови морских свинок в разные сроки после инфицирования дВЭ или адВЭ. Буква «с» после дефиса обозначает сутки. Окраска азур-II-эозином. Стрелки указывают на оксифильные структуры. Увеличение $\times 1000$.

В крови как дВЭ-инфицированных, так и адВЭ-инфицированных животных встречались также конгломераты эритроцитов (рис. 5), представляющие слияние в одно целое нескольких эритроцитов. Таким образом, различия между дВЭ- и адВЭ-инфицированными морскими свинками, связанные с наличием в мазках-отпечатках печени эритроцитов с осевшими на них оксифильными структурами (адВЭ-инфицированные животные) и конгломератов эритроцитов (дВЭ-инфицированные животные), нивелировались присутствием в крови животных и тех и других форм эритроцитов. Надо отметить, что формирование конгломератов эритроцитов при геморрагических лихорадках является характеристикой фазы гиперкоагуляции синдрома диссеминированного внутрисосудистого свертывания.

Таким образом, в крови морских свинок, инфицированных дВЭ, на 7-е сутки от введения инфекционного материала присутствовали эритроциты с осевшими на них

оксифильными структурами, а в печени подобных эритроцитов у этих животных не было, как не было и самих оксифильных включений. Значит, эритроциты в крови этих животных, несущие на себе оксифильные структуры, транспортировали их либо из других органов организма, либо непосредственно источниками этих структур являлись циркулирующие в кровотоке клетки.

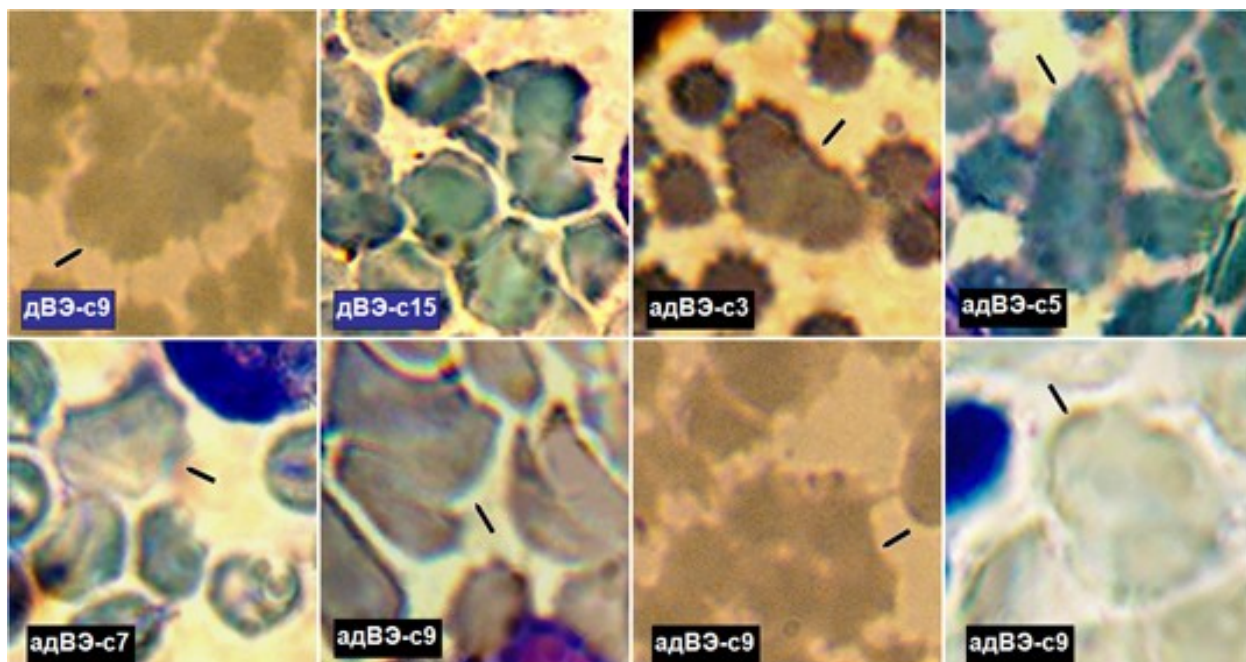


Рис.5. Конгломераты эритроцитов в крови морских свинок в разные сроки после инфицирования дВЭ или адВЭ. Буква «с» после дефиса обозначает сутки. Окраска азур-II-эозином. Стрелки указывают на конгломераты. Увеличение $\times 1000$.

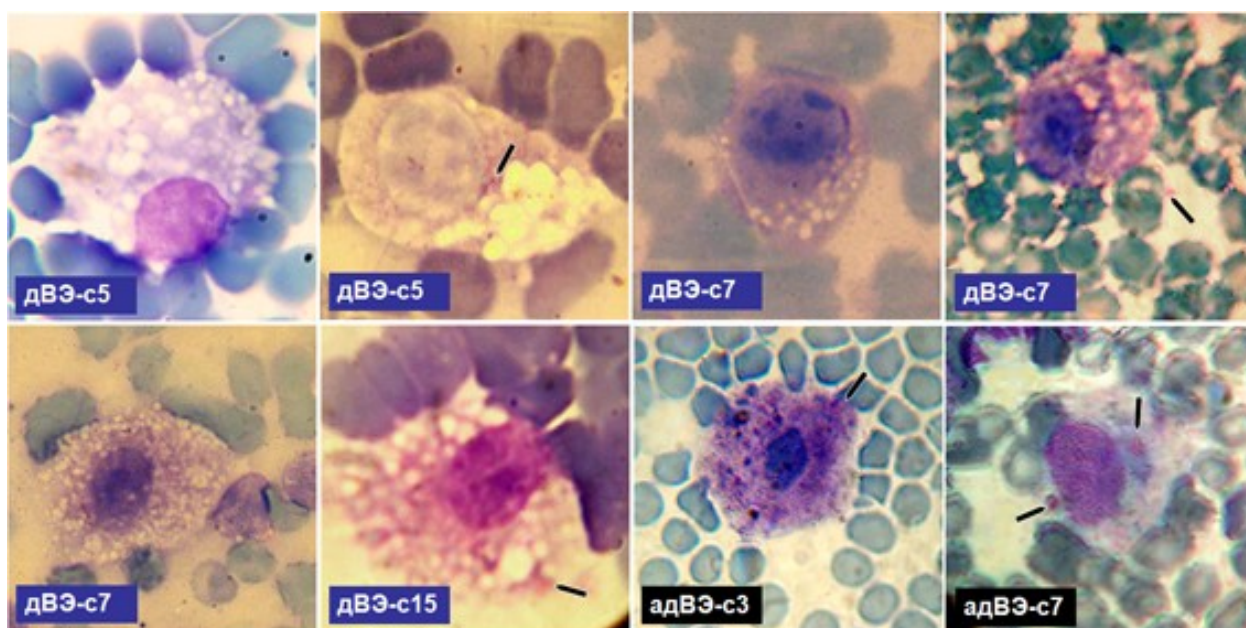


Рис. 6. Макрофаги в крови морских свинок в разные сроки после инфицирования дВЭ или адВЭ. Буква «с» после дефиса обозначает сутки. Стрелки указывают на наличие оксифильных включений в цитоплазмах макрофагов или находящихся вблизи от них. Окраска азур-II-эозином. Увеличение $\times 1000$.

Можно предположить, что источником оксифильных структур в крови являлись макрофаги. На рисунке 6 показаны циркулирующие в крови дВЭ- и адВЭ-инфицированных морских свинок макрофаги, часть из которых содержит в цитоплазме оксифильные включения.

По данным литературы цитоплазматические включения ВЭ, встречаемые в клетках различного типа при лихорадке Эбола [8, 9, 10], оксифильны, и, учитывая вышеизложенные факты, можно предположить, что наблюдаемые нами оксифильные включения в цитоплазмах гепатоцитов и макрофагов, являются вирусными включениями, а оксифильные структуры на эритроцитах - вышедшими из гепатоцитов и макрофагов конгломератами вирусных частиц.

Известно, что многие вирусы обладают способностью адсорбироваться на эритроцитах *in vitro* и *in vivo* [11, 12, 13]. Можно предположить, что ВЭ также может обладать подобной способностью и использовать эритроциты, как средство распространения вирионов по организму, либо же адсорбирование эритроцитами вирусных частиц на эритроциты - это наоборот защитная реакция организма, призванная уменьшить число циркулирующих в крови вирионов.

Возможно, мы наблюдаем скопления не полноценных вирионов, а вирусоподобных частиц или же агрегаты вирусных белков, что было показано для экспериментальных филовирусных лихорадок у морских свинок [14], а также *in vitro* при трансфекции клеток 293Т плазмидами, содержащими гены белков NP, VP35 и VP24 [15].

Необходимо отметить, что оттенки оксифильных структур, наблюдаемых в печени и крови морских свинок, инфицированных дВЭ и адВЭ, варьировали. Можно было видеть структуры ярко-оксифильные, оксифильно-бурые, оксифильно-лиловые, оксифильно-сиреневые. Мы предполагаем, что это связано с превалированием в их составе того или иного белка ВЭ. В табл. 1 приведены физико-химические параметры каждого белка ВЭ, полученные при помощи программы Vector NTI Advance 10 (InforMax, США) (InforMax, США) (табл.1).

Таблица. 1.

Физико-химические свойства белков ВЭ

Параметр	Белок ВЭ						
	NP	VP35	VP40	GP	VP30	VP24	L
Длина (а.о.)	739	340	326	364	288	251	2212
Молекулярный вес (Да)	83281,33	37360,30	35180,86	41172,37	32519,13	28217,60	252706,69
Изоэлектрическая точка	4,98	6,21	8,77	9,20	8,42	9,49	8,55
Заряд при pH 7	-44,48	-2,66	3,37	11,07	3,52	6,38	25,18

Видно, что белки ВЭ: GP, L, VP40, VP30, VP24 имеют изоэлектрические точки в щелочном диапазоне, и именно благодаря этому прокрашиваются эозином, но поскольку степень положительного заряда указанных белков разная, то и прокрашиваться эозином они должны с разной интенсивностью. А поскольку 2 других белка ВЭ - NP и VP35 – имеют изоэлектрические точки в кислотном диапазоне, то прокрашиваться в большей мере должны азуром. Учитывая высокий отрицательный заряд белка NP ВЭ, усиленный наличием отрицательно заряженных фосфатных групп, прокрашиваться азуром он должен окрашиваться особо особенно интенсивно. Кроме того, известно, что NP ВЭ обладает способностью к спонтанной гомоолигомеризации [16, 17]. В силу этого, базофильные гранулы в гепатоцитах на 1-е сутки после введения морским свинкам вирусного материала, могут являться наработанными клетками белком NP ВЭ, тем более, что этот белок начинает нарабатываться инфицированными ВЭ клетками одним из первых – уже через 6 часов после инфицирования клеток Vero в клеточных лизатах можно обнаружить NP [18]. С этой точки зрения эритроциты, находящиеся рядом с гепатоцитами на рисунке 1 (отмечены полосатыми стрелками), имеющие базофильные структуры, вполне могут быть расценены, как эритроциты, несущие на себе вирусные белки, представленные преимущественно NP ВЭ. Подобные эритроциты с базофильными структурами встречались в печени как дВЭ-инфицированных морских свинок, так и адВЭ-инфицированных животных и вне близи гепатоцитов (рис. 7), а также в крови указанных животных как на 1-е сутки после инфицирования, так и в более поздние сроки (рис. 8).

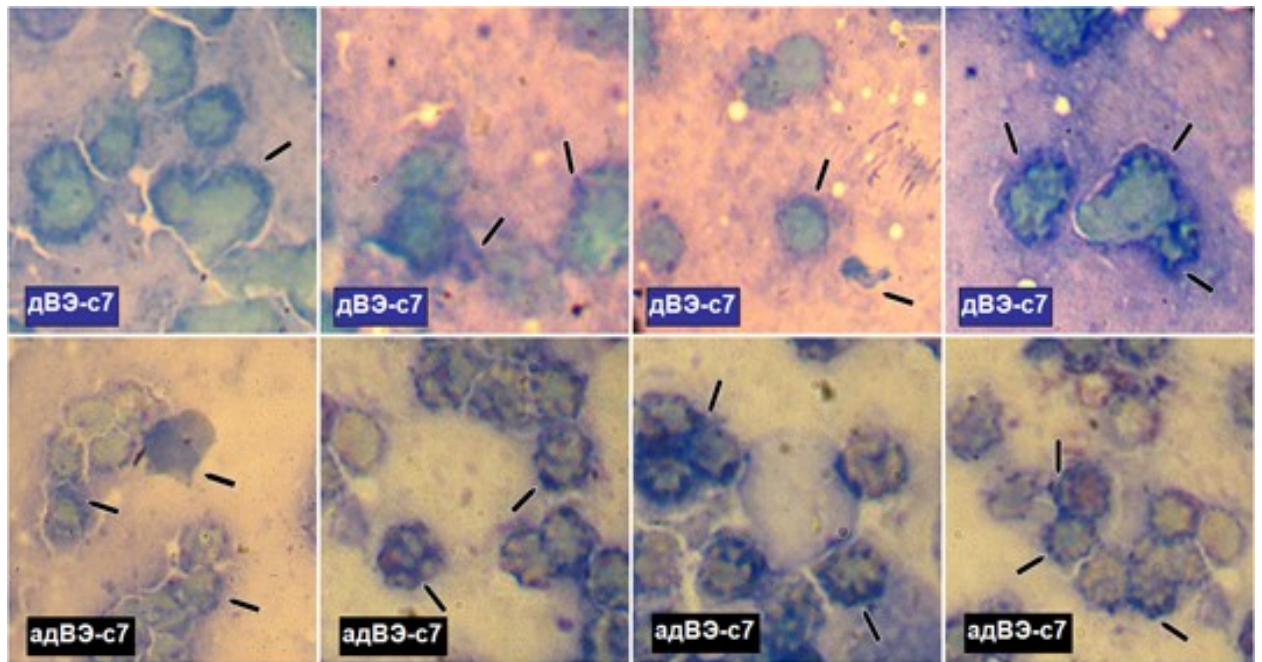


Рис. 7. Базофильные структуры на эритроцитах в печени морских свинок на 7-е сутки после инфицирования дВЭ или адВЭ. Буква «с» после дефиса обозначает сутки. Стрелки выборочно указывают на базофильные структуры. Окраска азур-II-эозином. Увеличение $\times 1000$.

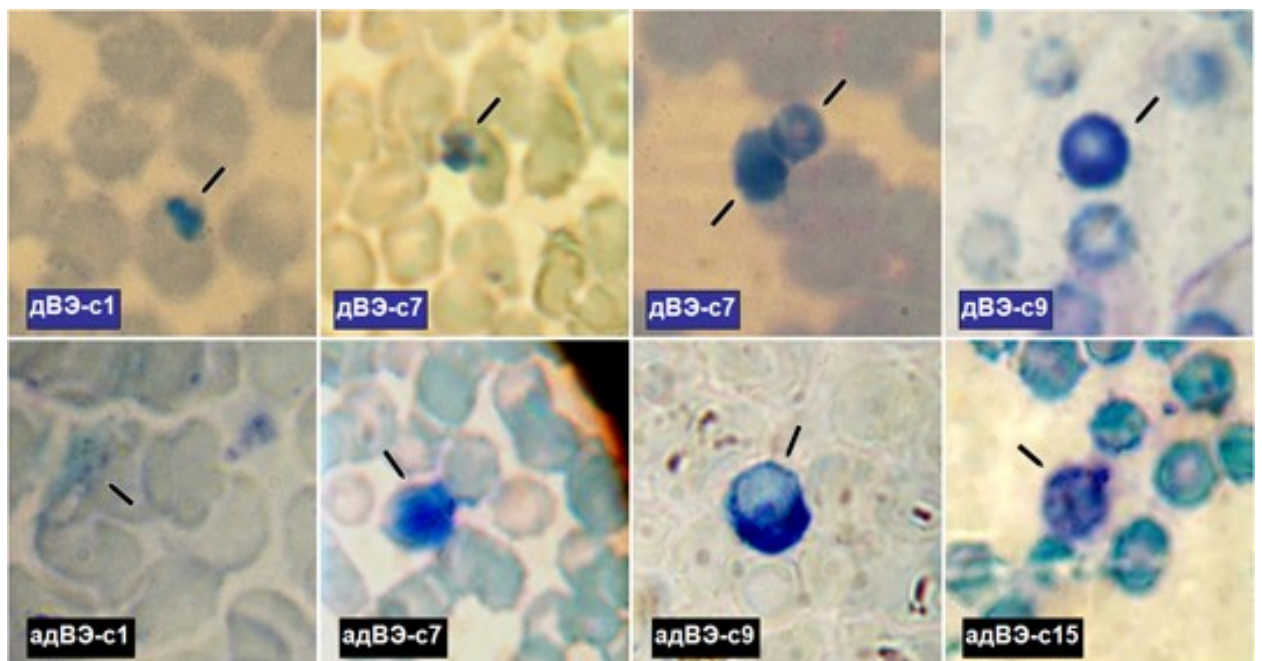


Рис. 8. Базофильные структуры на эритроцитах в крови морских свинок в разные сроки после инфицирования дВЭ или адВЭ. Буква «с» после дефиса обозначает сутки. Стрелки указывают на базофильные структуры. Окраска азур-II-эозином. Увеличение $\times 1000$.

Механизмом налипания вирусных частиц и вирусных белков на эритроциты может быть разница в зарядах между участками мембраны эритроцитов и непосредственно белками ВЭ. Известно, что 60 процентов поверхности мембраны эритроцитов заряжено отрицательно (что обусловлено остатками сиаловой кислоты в трансмембранных белках гликофоринов), а следовательно, все белки ВЭ, имеющие положительный заряд при рН=7 (рН, близкое к рН крови), могут стремиться к отрицательно заряженным участкам мембраны эритроцитов, а отрицательно заряженные белки – к положительно заряженным участкам.

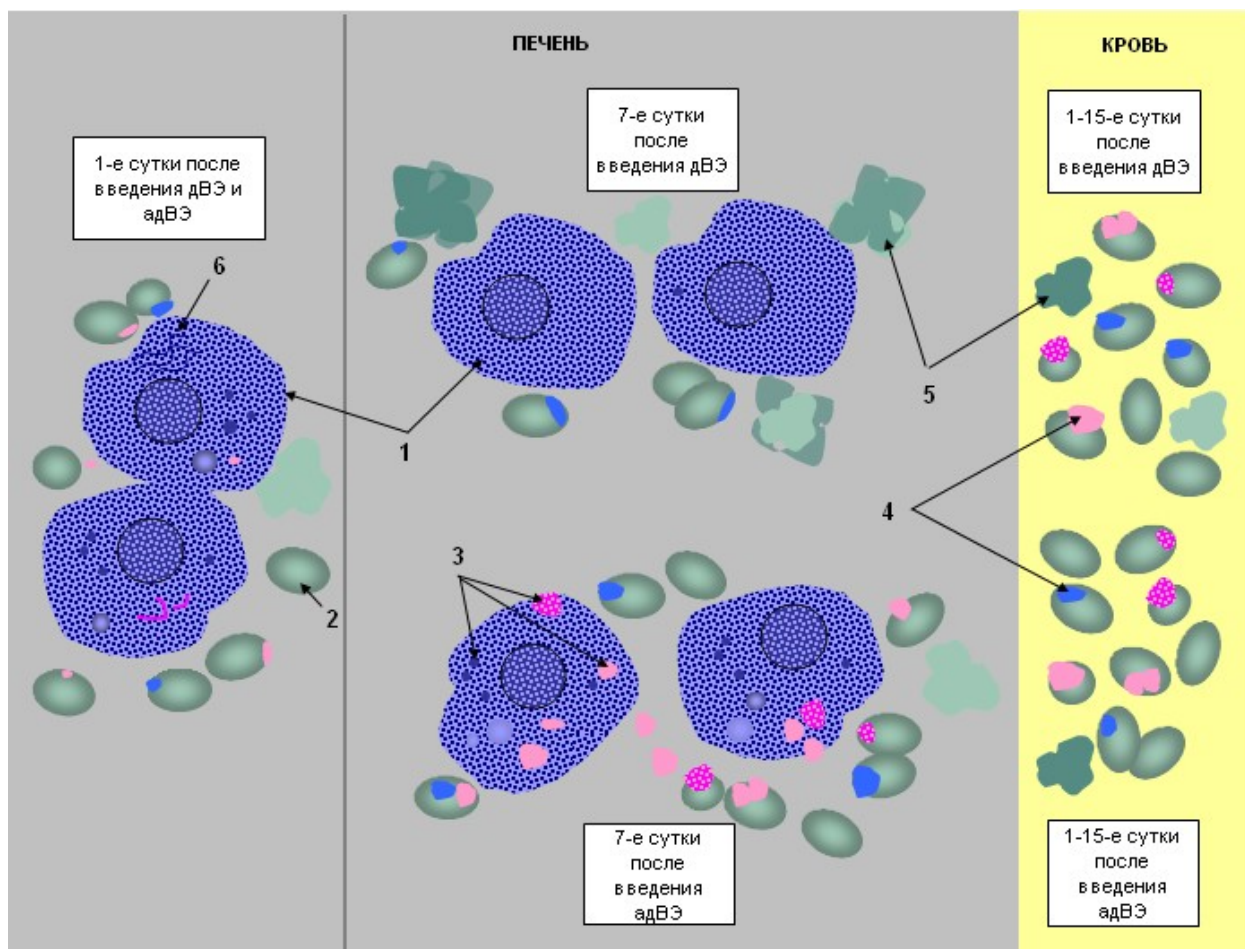


Рис. 9. Схематическое изображение различий в процессах, протекающих у дВЭ- и адВЭ-инфицированных морских свинок. 1 – гепатоциты, 2 – эритроциты, 3 - оксифильные и базофильные включения в гепатоцитах, 4 - оксифильные и базофильные структуры на эритроцитах, 5 – конгломераты эритроцитов, 6 – спиралевидные узоры в цитоплазме гепатоцитов.

На рисунке 9 показаны в схематическом виде основные факты, изложенные в статье. Можно предположить, что организм морской свинки в случае инфицирования дВЭ

обладает неким механизмом, способным блокировать появление оксифильных включений в цитоплазмах гепатоцитов и оксифильных структур на эритроцитах (в пределах печени), что, вероятно, оказывает влияние на исход заболевания – обеспечивает выживаемость животных в отличие от летального исхода при введении адВЭ. В заключении следует сказать, что чем бы ни являлись оксифильные и базофильные структуры, наблюдаемые нами в цитоплазме гепатоцитов и на эритроцитах (вирусными частицами, вирусными белками или модифицированными клеточными белками), они являются маркерным признаком лихорадки Эбола на модели морских свинок. У интактных животных нам не удалось зафиксировать появление подобных структур. Наличие таких структур на эритроцитах показывает задействованность данного вида клеток в процессах миграции белков в ходе лихорадки Эбола, а следовательно, эритроциты могут быть важным звеном патогенеза Эбола-инфекции.

Литература

1. Cherpurnov A.A., Zubavichene N.M., Dadaeva A.A. Elaboration of laboratory strains of Ebola virus and study of pathophysiological reactions of animals inoculated with these strains // Acta Trop. – 2003. – Vol. 87. – P. 321-329.
2. Cherpurnov A.A., Zubavichene N.M., Dadaeva A.A. Influence of selective passages on the change in Ebola virus properties // Infect.Dis.Rev. - 2001. - Suppl. 3. - P.30-36.
3. Руководство по содержанию и использованию лабораторных животных. National Academy Press, Washington, D.C. – 1996. – 137 с.
4. Lupton H.W. Inactivation of Ebola virus by the use of Co⁶⁰-radiation // J. Inf. Dis. - 1981. - Vol. 143. - P. 291-299.
5. Мое J.B., Lambert R.D., Lupton H. W. The plaque-forming test for Ebola virus // J.Clin. Microbiol. - 1981. - Vol. 13. - P. 791-793.
6. Устинова Е.Н., Шестопалов А.М., Бакулина Л.Ф., Чепурнов А.А. Титрование вирусов Эбола и Марбург по бляшкообразованию под полужидким агаровым покрытием // Вопр. вирусол. – 2003. – Т. 48, N 1. – С. 43-44.
7. Шлопов В.Г. Ультраструктурная патология клетки [электронный ресурс] // URL <http://nature.web.ru/db/msg.html?mid=1164653&uri=4.html> (дата обращения 26.11.2009).

8. Wyers M., Formently P., Cherel Y. et al. Histopathological and immunohistochemical studies of lesions associated with Ebola virus in a naturally infected chimpanzee // J. Infect. Dis. – 1999. – Vol. 179. – P. 54-59.
9. Connolly B., Steele K., Davis K. et al. Pathogenesis of experimental EBOLA virus infection in guinea pigs // J. Infect. Dis. – 1999. – Vol. 179. - P. 203-217.
10. Zaki S. R., Shieh W., Greer P. W. et al. A novel immunohistochemical assay for the detection of Ebola virus in skin: implications for diagnosis, spread, and surveillance of Ebola hemorrhagic fever // J. Infect. Dis. – 1999. – Vol. 179. – P. S36– S47.
11. Magill T.P. The sorption of influenza virus by chicken erythrocytes // J. Exp. Med. - 1951. - Vol. 94. – P. 31-43.
12. Reagan R.L., Stewart M.T., Brueckner A.L. Electron micrographs of erythrocytes from Swiss albino mice infected with yellow fever virus (strain 17D) // Tex. Rep. Biol. Med. – 1953. – Vol. 11. – P. 610-626.
13. Málková D. Role of free cells in the lymph and blood vessels during viraemia in animals experimentally infected with tick-borne encephalitis virus. II. Virus bound in vivo to the cellular blood component in mice // Acta Virol. - 1967. – Vol. 11. – P. 317-320.
14. Ryabchikova E.I., Price B.B.S. Ebola and Marburg viruses. A view of infection using electron microscopy. Battelle Press, Columbus, Ohio, 2004., 211 p.
15. Noda T., Aoyama K., Sagara H. et al. Nucleocapsid like structures of Ebola virus reconstructed using electron tomography // J. Med. Vet. Sci. – 2005. – Vol. 67. – P. 325- 328.
16. [Huang Y., Xu L., Sun Y. et al. The assembly of Ebola virus nucleocapsid requires virion-associated proteins 35 and 24 and posttranslational modification of nucleoprotein // Mol. Cell. – 2002. – Vol. 10. – P. 307-316.](#)
17. [Watanabe S, Noda T, Kawaoka Y. Functional mapping of the nucleoprotein of Ebola virus // J. Virol. – 2006. – Vol. 80. – P. 3743-3751.](#)
18. Elliot L.H., Kiley M.P., McCormick J.B. Descriptive analysis of Ebola virus proteins. // Virology. - 1985. - Vol.147. - P.169-176.