

Коров'яча губкоподібна енцефалопатія — «сказ» корів

П. Н. Кемпбелл

Відділ біохімії і молекулярної біології, Університетський коледж Лондон
Говерстрит, Лондон, WC1E6BT

Огляд дає загальне уявлення про виникнення епідемії невідомого раніше захворювання BSE (бичача губкоподібна енцефалопатія) серед великої рогатої худоби в Англії, а також знайомить з гіпотезами походження захворювання та його зв'язком з уже відомим захворюванням овець — скрейпі. В огляді узагальнено сучасні наукові поняття про природу інфекційного агента, а також представлено докази на користь існуючої гіпотези, згідно з якою причиною захворювання є конформаційні зміни білка пріону. Обговорюються також докази того, що BSE може передаватися людині з подальшим розвитком захворювання, аналогічного відомій нервовій хворобі Крейтцфельда-Якоба.

Вступ. До 1985 року мало хто з біохіміків Великої Британії добре знав про дегенеративну хворобу овець, відому під назвою скрейпі (scrapie). Ця хвороба існує у Великій Британії майже 200 років, але раніше не помічали, що вона може передаватися людям, тому дослідження в цій галузі проводилися досить повільно. Щоб знайти природу збудника, названого «повільним вірусом», Британський уряд фінансував дослідження, хоча на досить скромному рівні. Схожі роботи проводилися і в інших країнах.

Ситуація кардинально змінилася у 1985 році після події на фермі в провінції Кент, де було зареєстровано невідому досі хворобу, яку назвали «сказ корів». Після року зволікань було виявлено, що вона призвела до біологічної проблеми величезних розмірів і була пов'язана саме з харчуванням людей і тварин. Хоча центром небезпеки залишалася Велика Британія, деякі випадки були зафіксовані в Швейцарії, а сама подія знайшла відголосок у цілому світі.

Нижче наведено спробу узагальнити дослідження, котрі допомогли зрозуміти природу і можливі наслідки цієї проблеми, яка починається з опису епідеміології «сказу» корів, чи губкоподібної енцефалопатії (Bovine Spongiform Encephalopa-

thy — BSE), з подальшим оглядом стану досліджень на сьогоднішній день. Далі ви також зрозумієте, що ж спільного між скрейпі овець та BSE великої рогатої худоби і яким чином все це стосується здоров'я людини, ознайомитеся з етіологією хвороби і її можливою терапією.

Детальніше це питання висвітлено в попередніх оглядах [1—4].

Епідеміологія. Сфера дії інфекційної енцефалопатії. Симптомами скрейпі є подразнення шкіри, викликані порушеннями в нейрональних клітинах, що примушує тварин тертися об огорожі та стіни. Це і обумовило назву хвороби (scrape — скребіти, скоблити (англ.)). Той факт, що випадки скрейпі були зареєстровані в багатьох країнах Європи та Північної Америки, але не виявлені в США та Австралії, свідчить про нечутливість деяких порід овець до захворювання. Щодо шляхів передачі захворювання, то виявилось, що хвороба може бути прищеплена здоровим тваринам через внутрішньочерепну ін'єкцію екстракту мозку хворих тварин. Крім того, інші види тварин, наприклад кози, виявилися також чутливими до інфекції, хоча після першого пасажу інфекційного матеріалу з мозку овець козам інкубаційний період тривав набагато довше, ніж для овець, та зменшувався після подальших пасажів. Цей так званий видовий бар'єр є дуже важливою характеристикою хвороби і він тим триваліший, чим більша еволюційна

відстань між донором та реципієнтом. Ще в 1961 р. було встановлено, що скреїпі здатна передаватися також мишам та китайським хом'ячкам, тому саме їх і використовували як лабораторні тварини для вивчення цієї хвороби.

Зічас та Гайдушек описали схожу хворобу, у людей відому під назвою куру, що розповсюджена серед аборигенів племені Форє з Папуа Нової Гвінеї. Її симптоми дуже нагадували хворобу Крейцфельда-Якоба (CJD) — нервового захворювання, яке дуже рідко зустрічається в світі як результат спонтанної мутації. Було встановлено, що її розповсюдження серед аборигенів пов'язане з ритуальним канібалізмом, адже за звичаєм аборигени поїдали мозок померлих родичів. Згаданий звичай відійшов у минуле, але виявилось, що навіть тепер, майже через 30 років, приблизно 10 чоловік кожного року помирає від куру. Щоб підтвердити цю гіпотезу, Гайдушек прищеплював шимпанзе та іншим приматам суспензію з мозку хворого, ураженого куру. Інфіковані шимпанзе помирали через 1—5 років. За ці дослідження Гайдушек у 1976 році одержав Нобелівську премію.

Крім куру, відомо ще дві хвороби людей з подібними патологіями, які отримали назви хвороба Герстмана-Штраусслера-Шенклера (GSS) і фатальна родинна інсомія (FFI).

Хронологія епідемії коров'ячої губкоподібної енцефалопатії. Як вже згадувалося, у 1985 році з'явилися перші повідомлення про подібне захворювання у корів. У науковій літературі ця хвороба отримала назву коров'ячої губкоподібної енцефалопатії. При дослідженні померлих тварин виявлялися вражені секції мозку губчастої форми звідки і походження назви хвороби.

Число випадків BSE катастрофічно зростало, що спонукало вчених до пошуку причин захворювання. Ситуація з розповсюдженням інфекційної енцефалопатії на початку 80-х років відображена в табл. 1, а в табл. 2 наведено критичні дати епідемії.

Таблиця 1
Розповсюдження інфекційної енцефалопатії (відомості на 1985 рік)

Вид	Назва енцефалопатії
Вівці	Скреїпі
Люди	Куру в Новій Гвінеї
	Хвороба Крейцфельда-Якоба (CJD)
	Хвороба Герстмана-Штраусслера-Шейнкера (GSS) Фатальна сімейна інсомія (FFI)
Корови	Коров'яча губкоподібна енцефалопатія (BSE)

Таблиця 2
Хронологія епідемії BSE

Рік	Розповсюдження епідемії
1985	BSE вперше зареєстрована клінічно
1986	Хвороба ідентифікована як губкоподібна енцефалопатія
1987	Почалися перші епідеміологічні дослідження, які встановили, що причиною епідемії BSE є використання у тваринництві високобілкових харчових домішок тваринного походження
1988	Створено робочу групу Саусвуда
	Впроваджено заборону на використання MBM Знищено всю інфіковану велику рогату худобу
1989	Висновки групи Саусвуда: ризик захворювання для людини віддалений; кількість випадків захворювання великої рогатої худоби на BSE має досягти 17000—25000
	Заборона на вживання у їжу людини деяких внутрішніх органів тварин
1991	Європейський Союз забороняє експорт з Англії тварин віком більше 6 місяців
	Перший випадок BSE серед котів
	Заборона на вживання усіх внутрішніх органів тварин
1992	Епідемія BSE досягає 36681 випадків на рік 100000 зареєстрованих випадків BSE
	Всі тваринні харчові домішки вилучені з вживання в їжу вівцям і великій рогатій худобі
	Перші три випадки смерті серед людей від захворювання, схожого на BSE
	Підозри на зв'язок між BSE та vCJD
	Європейський Союз забороняє експорт британської яловичини
	Заборона на продаж м'яса разом з кістками у зв'язку з інфекційністю спинного мозку

Під підозрою опинилися білкові дієтичні домішки для худоби, що виготовлялися з м'яса та кісток, хворих тварин. Цей корм (MBM — meat and bone meal) використовується для годування високомолочних дійних корів, і подібна практика існувала в багатьох країнах. Виявилось, що з різних причин метод виготовлення MBM у Великій Британії у 80-х роках було змінено: гідрокарбонатну обробку жирів зменшено, а додаткову обробку паром для видалення органічних розчинників скасовано. Пізніше MBM був заборонений, а в 1988 році було сформовано робочу групу під керівництвом Саусвуда для розслідування причин захворювання. Протягом 1988 року вона випустила деякі рекомендації.

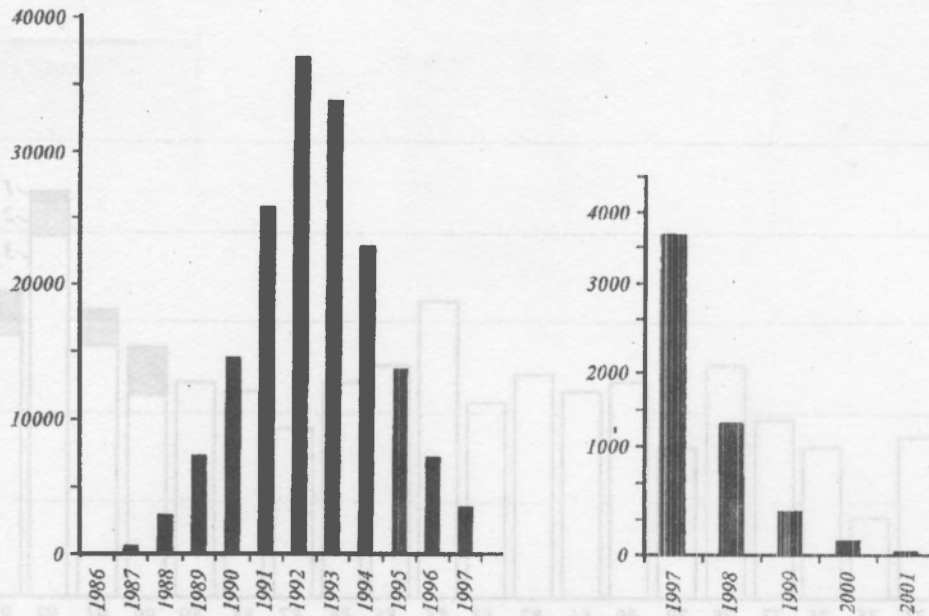


Рис. 1. Кількість випадків і рік клінічного прояву BSE: а — з 1986 по 1997 рік; б — прогнозована кількість випадків у 1997—2001 рр.

а остаточний звіт був написаний у 1989 році. Група підтвердила підозри відносно корму MBM і рекомендувала знищити всю уражену худобу.

На той час вважалося, що причиною хвороби великої рогатої худоби є зараження від овець, хворих на скреїпі, через MBM, але пізніше цю гіпотезу було відкинуто. Хоча скреїпі овець була відома протягом 200 років і випадків захворювання людей не було зареєстровано, все ж група Саусвуда зробила висновок, що передача BSE від хворих тварин людині можлива. Британський уряд взяв до уваги ці висновки і, можливо, завдяки цьому людство вбереглося від епідемії BSE. Було заборонено годівлю худоби домішками тваринного походження (MBM), а хворих тварин знищено, однак це не стосувалося свиней і курей. Повну ж заборону було запроваджено лише в 1996 році. Це пояснювалося тим, що багато хто до кінця не усвідомлював важливості такого заходу, і навіть інколи тваринні домішки, що призначалися птахам, згодували худобі. Невдовзі було також заборонено споживання людьми головного, спинного мозків та інших внутрішніх органів тварин, а м'ясокомбінати були зобов'язані знищити весь тваринний спинний мозок, який у них зберігався. Оскільки ще не було остаточно доведено передачу захворювання людям, то рекомендовані заходи виконувалися нерегуляр-

но. А між тим число випадків BSE серед великої рогатої худоби драматично зростало, що відображено на рис. 1 [5]. Кількість випадків захворювання досягла 180000. Підраховано, що приблизно 1 млн голів великої рогатої худоби було інфіковано в Великій Британії, кілька сотень випадків — у Швейцарії, поодинокі випадки реєструвалися і в інших країнах світу. Загалом 2 млн голів великої рогатої худоби було знищено, оскільки в уражених стадах знищували і хворих, і здорових тварин. Британський уряд виплатив компенсацію фермерам більш ніж мільярд фунтів стерлінгів, але, на жаль, біля 54000 інфікованих тварин таки потрапило у їжу людям.

Передача BSE іншим видам тварин та людині. Засоби щодо контролю розповсюдження BSE принесли вагомі результати, і кількість захворювань почала зменшуватися. Як передбачається, у 1998 році можливе виникнення 1741 випадку, у 1999 році — 641 і в 2000 році — лише 235 випадків.

Після 1987 року поодинокі випадки захворювання на BSE були зареєстровані і серед інших видів тварин, зокрема, різних копитних у зоопарках, а в 1991 — серед котів. Останнє викликало особливий інтерес: вперше захворіли м'ясоїдні тварини. У свою чергу зростає актуальність питання можливості захворювання на BSE людей.

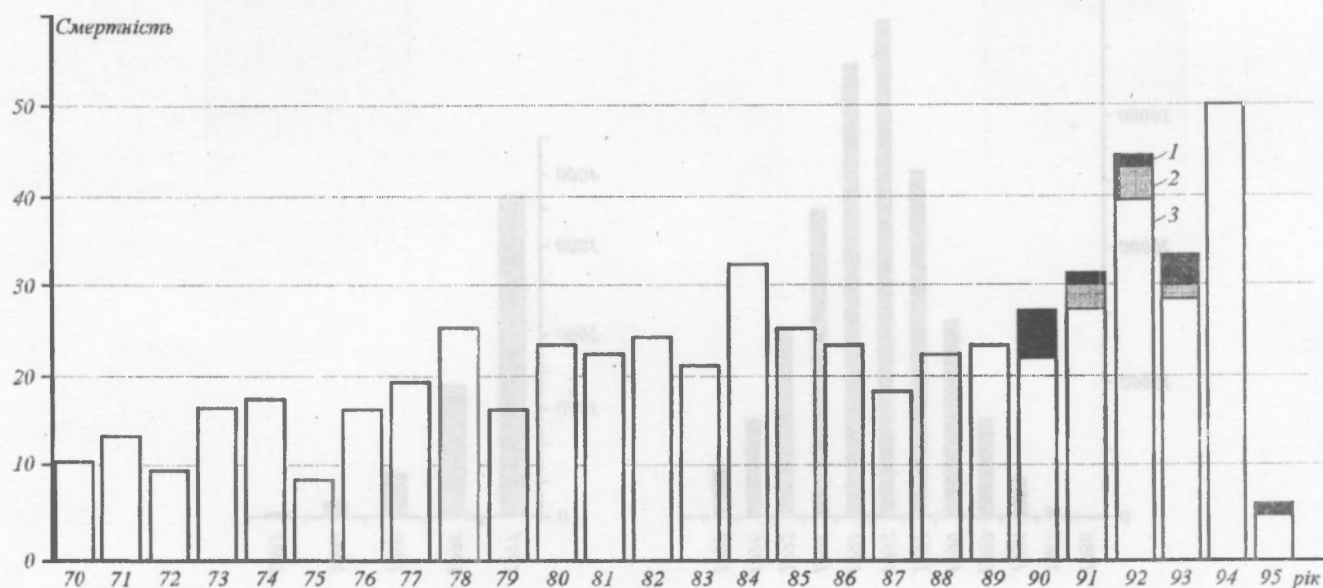


Рис. 2. Смертність від CJD у Британії з 1970 по 1995 роки: 1 — родинна; 2 — спорадична та 3 — інтрогенна форми CJD

Що стосується CJD, то, крім куру, розрізняють ще три різних типи захворювання (табл. 3). Перший, спорадичний (випадковий), є найзагальнішим і вражає, як правило, за невідомим принципом людей похилого віку. Такі хворі проживають по всьому світі. Другий, родинний, тип являє собою аутосомне домінантне захворювання і зустрічається досить рідко. Для з'ясування його природи проводиться велика кількість генетичних досліджень. Поява третього, інтрогенного, типу захворювання пов'язана з використанням препаратів гормонів серед дітей з дефектами росту, виготовлених з кадаверного мозку, і як наслідок — поява випадків захворювань на CJD у дітей в ряді країн. У Великій Британії 1908 дітей пройшли курс лікування гормонами росту, після чого було зареєстровано 10 випадків захворювання на CJD. Діаграма частоти різних типів CJD у Великій Британії представлена на рис. 2. Аналіз цих даних дозволяє зробити висновок, що до 1995 року розповсюдження CJD у Великій Британії відбувалося за міжнародним сценарієм і лише пізніше проявився ще один тип CJD.

У серпні 1995 року перша молода людина у віці 19 років померла від CJD, після чого було зафіксовано ще ряд смертельних випадків у па-

цієнтів віком біля 29 років. Мозок у них характеризувався патологічними змінами, що нагадували такі мозку корів, інфікованих BSE, і були цілком відмінними від змін мозку людей, які померли від спорадичного типу CJD. У березні 1996 року, коли 10 молодих людей померли від CJD, британський уряд, за порадою свого наукового комітету, засвідчив появу нового варіанта CJD (nvCJD), причиною якого, найімовірніше, є інфікування BSE в результаті споживання інфікованої яловичини.

З огляду на довгий інкубаційний період nvCJD — 5—10 років (вказана цифра ґрунтується на припущенні, що найвища вірогідність споживання інфікованого м'яса припадає на період з 1980 по 1988 рік, коли ще не було впроваджено заборону на MBM) жодних достовірних оцінок ймовірного масштабу епідемії на nvCJD не може бути зроблено, однак, за прогнозами, кількість випадків може сягнути тисяч. На щастя, найгірші прогнози про збільшення частоти захворювань у людей не здійснюються, оскільки на сьогодні вона складає лише один випадок на місяць, а загальна кількість випадків — 23. Переважаюча більшість їх спостерігалася у Великій Британії, і лише кілька випадків було зареєстровано у Франції.

Можливе походження BSE. Як уже згадувалося, спочатку існувала думка, що причиною BSE є передача збудника скреїпі великій рогатій худобі разом із MBM. Пізніше ж було встановлено, що BSE можна експериментально прищепити вівцям, хоча симптоми хвороби і були більше схожі на BSE, ніж на скреїпі. Таким чином, можна зробити висновок, що скреїпі і BSE є дві різні хвороби, але дуже схожі за своєю етіологією і, скоріш за все, викликаються збудником однієї природи. BSE у овець та nCJD у людей більше нагадували симптоми BSE великої рогатої худоби, аніж скреїпі овець. Найобгрунтованішою є гіпотеза, за якою BSE виникла в результаті мутації у корів, а використання хворих тварин для приготування MBM стало причиною широкого розповсюдження хвороби. Загалом етіологія цього захворювання нагадує таку вже відомого куру.

Заходи безпеки. Незважаючи на те, що на сьогодні не виявлено випадків захворювання на BSE серед овець, на споживання мозку цих тварин було розповсюджено заборону: адже існує можливість появи збудників хвороби в їхньому головному та спинному мозках.

Хоча нейропатології не є імунологічним патогенезом, існують докази того, що імунна система причетна до розповсюдження збудника в організмі від периферії до мозку [6]. Миші з природним імунodefіцитом (SCID-mice чи RAG knockout mice) не інфікувалися при підшкірному введенні збудника BSE, але при прямій ін'єкції в мозок симптоми хвороби проявлялися.

Отже, кров стає потенційно небезпечною, саме тому в Англії припинено змішування донорської крові та виробництво лікарських препаратів з вже змішаної крові. В майбутньому планується впровадити відокремлення лімфоцитарної фракції із донорської крові, призначеної для переливання людям.

Відкриття і дослідження збудника хвороби. Завдяки тому, що збудник скреїпі може інфікувати лабораторних мишей, було досить детально досліджено його природу. Так, на сьогоднішній день відомо, що він є стійким до дії формаліну і має розміри малого вірусу (пікорнавірус). Результати іррадіаційного аналізу свідчать про те, що розміри збудника скреїпі менші за будь-який відомий вірус і він більше схожий на рослинні віріони, хоча на відміну від останніх у його складі не виявлено нуклеїнових кислот, що пояснює стійкість збудника до дії нуклеаз. Інша важлива характеристика — це термостійкість збудника. Так, було встановлено, що він зберігає свою інфекційність навіть при температурах кипіння і дезактивується

лише прогріванням до 121 °С. Стає зрозумілим, чому збудник виживає в процесі приготування MBM і найімовірнішим тут є те, що широке розповсюдження хвороби серед тварин пояснюється змінами у технології приготування MBM.

Однією з важливих характеристик збудника скреїпі є його резистентність до протеолітичних ферментів, а саме — до протеїнази К. Можливо, цим пояснюється той факт, що при передачі BSE збудник не руйнується ферментами деструкції у кишковому тракті великої рогатої худоби і овець. Але оскільки худоба і вівці є травоядними тваринами, то, вірогідно, механізм руйнування тваринних білків у них інший, ніж у м'ясоїдних. Поки що це питання на стадії вивчення, але якщо це й справді так, то ферменти людини теж здатні руйнувати збудник BSE в кишковому тракті, що досить оптимістично.

Працюючи з сирійським золотистим ком'ячком, Пруснер дійшов висновку, що основним інфекційним агентом скреїпі є гідрофобний білок з високою спроможністю до полімеризації. Саме він впровадив назву пріон, що в перекладі — білковоподібна інфекційна частка [7], і згодом виділив з мозку хворих тварин білок, котрий отримав назву «головний білок пріону». За ці дослідження в 1996 році Пруснер одержав Нобелівську премію. Таким чином народилася гіпотеза — «тільки білок».

Структура пріону. Первинну структуру біологічно активного пріону було розшифровано і вона представлена на рис. 3. Молекула пріону має сигнальний пептид на N-кінці, який відсутній в активному (зрілому) білку. На C-кінці знаходиться глікозилфосфатидилінозит (GPI), який використовується для прикріплення до плазматичної мембрани клітин. Активний пріон має молекулярну масу 33—35 кДа і розщеплюється протеїназою К до білка з молекулярною масою 27—30 кДа. Використовуючи олігонуклеотидний зонд, синтезований на основі амінокислотної послідовності N-кінцевого домена, був клонований ген пріону, що кодує білок масою 27—30 кДа. Саузерн-блот-аналіз ДНК нормального та інфікованого мозку виявив єдиний ген з ідентичними рестрикційними фрагментами. Крім того, кількість пріонової мРНК була приблизно однаковою як в мозку хворих на скреїпі ком'ячків, так і в інших нормальних тканинах. За допомогою антитіл до пріонового білка було показано, що вміст пріонів в інфікованому мозку більший, ніж у нормальному. Цікаво, що обробка екстракту з інфікованого мозку протеїназою К призводила до появи протеолітичної форми 27—30 кДа, у той час як в екстрактах із здорового мозку спостерігалася повна деградація пріонового білка.

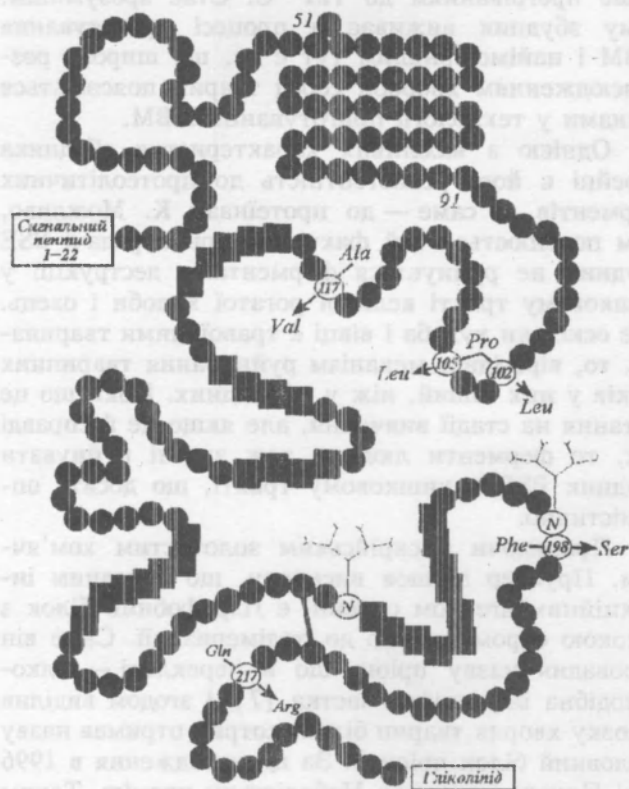


Рис. 3. Схематичне зображення 230-амінокислотного ланцюга білка PrP людини з визначенням місцезнаходження сайтів мутацій, асоційованих з виникненням GSS (102, 105, 117, 198 та 217). Сигнальний пептид з N-кінця відсутній у зрілій формі білка. На C-кінці знаходиться гліколіпід, що служить для закріплення білка на клітинній мембрані (взято з [24])

Отже, можна зробити висновок, що нормальні тканини також містять пріонові білки, котрі не відрізняються від інфекційних за амінокислотною послідовністю, але з якихось причин дуже чутливі до дії протеаз і не мають інфекційних властивостей. Нормальний білок будемо позначати як PrP^C, а інфекційний — PrP^{Sc}.

Походження інфекційного пріону. Базуючись на відомостях про структуру та властивості пріону, виникла гіпотеза стосовно появи інфекційного пріону внаслідок конверсії (переродження) нормального пріону в його інфекційну форму. Цю гіпотезу було експериментально підтверджено. Виявилось, що миші з блокованим геном пріону зовсім не чутливі до інфекції. Більш того, чутливість поверталася після розблокування гена пріону і була значнішою в гомозиготних тваринах, ніж в гетеро-

зиготних [8]. Запропоновано два можливих шляхи конверсії нормального пріону в його інфекційну форму (рис. 4). Щодо першого, то передбачалося, що завдяки якомусь механізмові PrP^{Sc} зв'язується з PrP^C і таким чином стимулює цілий ряд конверсій. За другою гіпотезою, PrP^{Sc} та PrP^C знаходяться у клітині у зворотній рівновазі. Поява якогось стимулу призводить до зв'язування цих білків і як наслідок — до кристалізації.

Третинна структура пріону. У первинній структурі обох білків відмінностей немає, а стійкість до протеїнази К, очевидно, не визначається ступенем глікозилювання, оскільки обидва білки мають по два сайти глікозилювання. Виходячи з цього зусилля були спрямовані на порівняння третинної структури.

Білок не змогли кристалізувати, тому ця робота була проведена за допомогою ЯМР (ядерного магнітного резонансу) та КД (кругового дихроїзму). Модель структури PrP^C представлено на рис. 5. Отримати модель PrP^{Sc} було досить важко, оскільки цей білок нерозчинний, а після денатурації позбавляється своїх інфекційних властивостей. Було визначено відсоток α -спіралей в обох білках. Виявилось що PrP^C містить 43 % α -спіралей і 3 % β -складок, у той час як PrP^{Sc} — 34 % α -спіралей і 43 % β -складок. Базуючись на цих моделях, було створено модель PrP^{Sc} (рис. 5) і на її основі зроблено припущення, що такий великий вміст β -складок і зумовлює стійкість до протеїнази К. Повну третинну структуру білка PrP^{Sc} було отримано за допомогою ЯМР (рис. 6) [9]. Ці дані дуже подібні до змодельованих і вказують на наявність великого вільного спірального ланцюга на N-кінці PrP^C, що перетворюється у β -складку в молекулі PrP^{Sc}.

Для вивчення конверсії нормального пріону в інфекційну форму були створені модельні системи на основі тваринних [10] та дріжджових [11] екстрактів. Таким чином, пріон не є виключно тваринним білком. Отже, той факт, що первинна структура не є вирішальним критерієм, який детермінує третинну структуру, більше не дивує після відкриття молекул шаперонів, тому закономірно, що є відомості про втручання білка X [12, 13] у конверсію нормального пріону. Чи є білок X шапероном, ще залишається з'ясувати. В усякому разі є підстави вважати, що не лише PrP^{Sc} відповідальний за інфекційність: адже ні ренатурований після денатурації, ні рекомбінантний білок не мають інфекційних властивостей. Таким чином, на сьогодні поки що неможливо отримати *in vitro* інфекційну форму пріону.

Мутації та поліморфізм пріонів. Багато зу-

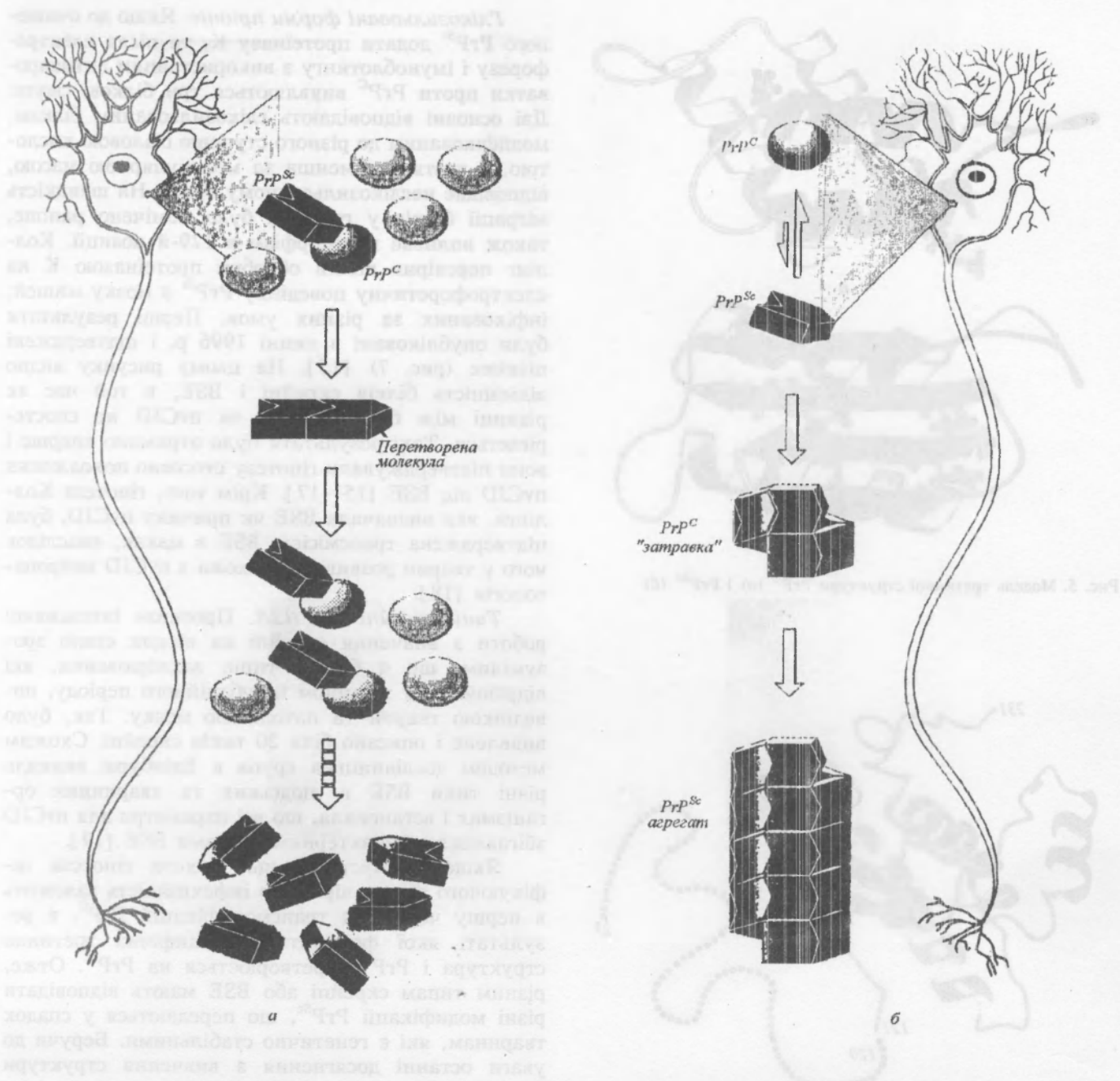


Рис. 4. Схема конверсії PrP^C в PrP^{Dc} : а — перша гіпотеза передбачає взаємодію білка PrP^{Sc} з PrP^C і перетворює останній на PrP^{Sc} ; б — альтернативна гіпотеза, згідно з якою необхідний каталізатор, за участю якого інфекційний PrP^{Sc} спричиняє швидку полімеризацію молекул, що призводить до самореплікації інфекційного агента [25]

силь було докладено для дослідження ефекту мутацій на білку PrP^C у випадку CJD. Немає сумніву в тому, що родинний CJD асоціюється зі специфічними мутаціями і що в спорадичному CJD

вони відіграють не останню роль. Детальніше це описано в [14]. Дуже сприятливим для захворювання є поліморфізм PrP^C по 129-му положенню, де розміщується Met чи Val. В усіх випадках хворі

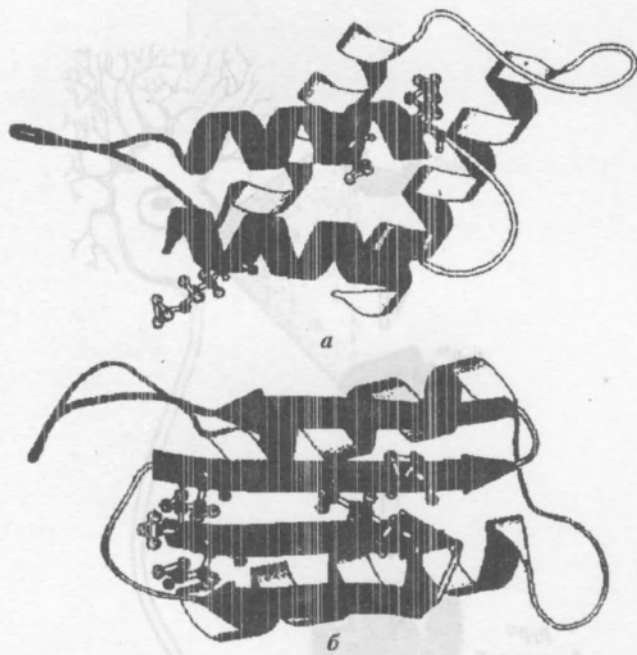


Рис. 5. Модель третинної структури PrP^C (а) і PrP^{Sc} (б)

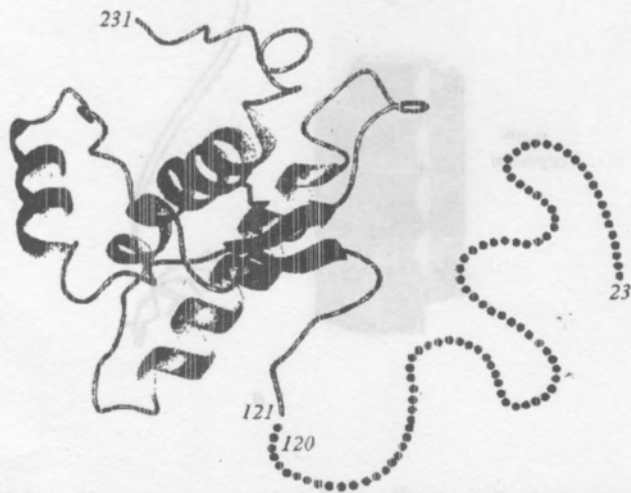


Рис. 6. Третинна структура зрілого мишачого PrP (домен 23—231) за даними ЯМР [9]. Крапки вказують на 98 амінокислотних залишків N-кінцевого фрагмента (23—120), що має тенденцію до формування спіралеподібної структури [9]

nvCJD були гомозиготами по Met в 129-му положенні. Крім того, і для спорадичної форми хвороби такий генотип був найрозповсюдженішим.

Глікозильовані форми пріонів. Якщо до очищеного PrP^{Sc} додати протеїназу К, то після електрофорезу і імуноблотингу з використанням антисироватки проти PrP^C виявляються три білкові смуги. Дві основні відповідають глікозильованим білкам, модифікованим до різного ступеню сіаловою кислотою, а третя, найменша за молекулярною масою, відповідає неглікозильованому білку. На швидкість міграції білків у гелі, як було помічено раніше, також впливає поліморфізм в 129-й позиції. Коллінг перевіряв вплив обробки протеїназою К на електрофоретичну поведінку PrP^{Sc} з мозку мишей, інфікованих за різних умов. Перші результати були опубліковані в липні 1996 р. і підтверджені пізніше (рис. 7) [15]. На цьому рисунку видно відмінність білків скреїпи і BSE, в той час як різниці між білками BSE та nvCJD не спостерігається. Такі результати було отримано вперше і вони підтверджували гіпотезу стосовно походження nvCJD від BSE [15—17]. Крім того, гіпотеза Коллінга, яка визначала BSE як причину nvCJD, була підтверджена трансмісією BSE в макак, внаслідок чого у тварин розвивалася схожа з nvCJD нейропатологія [18].

Типи скреїпи та BSE. Протягом інтенсивної роботи з вивчення скреїпи на вівцях стало зрозумілим, що є багато типів захворювання, які відрізняються терміном інкубаційного періоду, поведінкою тварин та патологією мозку. Так, було виявлено і описано біля 20 типів скреїпи. Схожим методом дослідницька група в Единбурзі виявила різні типи BSE в людських та тваринних організмах і встановила, що всі параметри для nvCJD збігаються з характерними рисами BSE [19].

Якщо припустити, що білкова гіпотеза інфікуючого агента вірна, то інфекційність залежить в першу чергу від трансмодифікації PrP^C, в результаті якої формується специфічна третинна структура і PrP^C перетворюється на PrP^{Sc}. Отже, різним типам скреїпи або BSE мають відповідати різні модифікації PrP^{Sc}, що передаються у спадок тваринам, які є генетично стабільними. Беручи до уваги останні досягнення з вивчення структури білків і генів, досить важко зрозуміти, як це може здійснюватися. Крім того, той факт, що всі випадки nvCJD були виявлені у пацієнтів, гомозиготних по Met129, свідчить про те, що поліморфізм також впливає на ймовірність перетворення PrP^C у PrP^{Sc}.

Створення моноклональних антитіл до PrP^{Sc}. Дуже важливим для вивчення пріонів було створення моноклональних антитіл, котрі можуть розпізнавати нормальну та інфекційну форми білка PrP [20]. Миші з блокованим геном (PrP-null) були імунізовані рекомбінантними коров'ячими

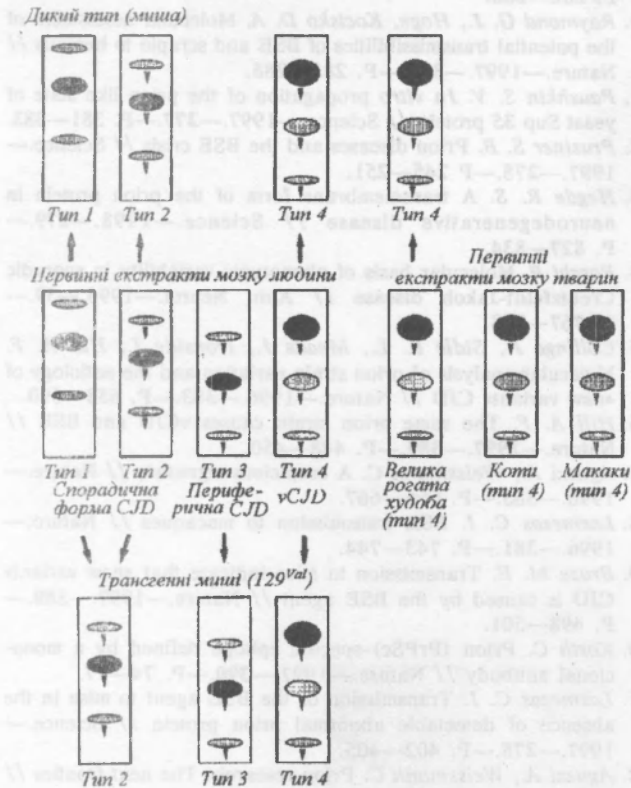


Рис. 7. Глікозилізовані форми пріонів. Вестерн-блот аналіз різних типів пріонів демонструє характерну електрофоретичну поведінку глікозилізованих форм PrP^{Sc}, що успадковується навіть після декількох пасажів інфекційного агента у різних видах тварин. Товсті стрілки показують успішне інфікування. Чорним показані основні гліколітичні форми. Маленькі стрілки вказують на підвищену рухливість у порівнянні з типом 1. Трансгенні миші — трансгенні за геном PrP людини [17]

PrP. Отримані моноклональні антитіла 15B3 були здатні розпізнавати бичачі, мишачі та людські PrP^{Sc}, але не реагували з PrP^C. Було картовано три поліпептидних сегменти PrP як епітопи 15B3. Можливість використання таких антитіл дозволить ідентифікувати наявність PrP^{BSE} у великій рогатій худобі ще до появи клінічних симптомів BSE, адже існують дані, що пріони можна виявити в сироватці крові інфікованих задовго до клінічних проявів хвороби.

Прогнози. Незважаючи на те, що епідемія BSE у Великій Британії згасає, виникнення епідемії nvCJD залишається ймовірним. Біохімікам важко погодитися з тим, що захворювання викликаються лише білками, тому багато хто з вчених зали-

шається прихильником тієї думки, що нуклеїнові кислоти також входять до складу інфекційного агента. Насправді, пріонова гіпотеза «тільки білок» ще остаточно не підтверджена, але також не було жодного повідомлення про залучення нуклеїнових кислот. Нез'ясованим на сьогодні лишається також, чому у мишей, яким вводили екстракт мозку інфікованої великої рогатої худоби BSE, неврологічні симптоми хвороби проявлялися, і смертність була більше ніж 55 %, але в їхньому мозку PrP^{BSE} знаходили лише після кількох пасажів, коли інфекційний агент якимось чином адаптувався до нового господаря [21]. Це підтримує думку про те, що, крім пріонів, у інфекційності відіграють важливу роль і інші фактори, та підтверджується тим фактом, що відношення молекул PrP^{Sc} до інфікованих утворень є лише 1:100000. На жаль, дуже мало відомо про шлях утворення амілоїду та детальний клінічний розвиток захворювання. Таким чином, лишається ще багато чого дізнатися про механізми розвитку патології, на що вказано в останніх оглядах [22, 23].

Щодо тваринництва, то насамперед необхідно ретельніше підходити до розробки раціону харчування тварин у сільському господарстві, а також ні в якому разі не забувати про те, що на сьогодні ще розповсюджені серед тварин такі хвороби, як скрейпі, а тим більше, що можливе використання хворих тварин у їжу людей, навіть якщо це і визнано безпечним. Величезні витрати на знищення хворих на BSE тварин є тому пересторогою.

На сьогодні запропоновано різні шляхи виходу з ситуації і не тільки через страх перед епідемією на nvCJD, а й через те, що досить важко погодитися з тим, що саме пріон викликає енцефалопатії.

До цього часу залишається невизначеною роль нормального PrP^C у клітині. Якщо він не має важливої фізіологічної функції, тоді можна було б запропонувати шляхом генетичних маніпуляцій вивести худобу без гена PrP^C, але це коштувало б неймовірно дорого. Найперспективнішим щодо створення лікарських препаратів проти BSE та nvCJD є пошук шляхів пригнічення трансформації нормального клітинного пріону в його інфекційну форму, тому вивчення модельних систем на бактеріях і дріжджах є дуже доречним і важливим.

П. Н. Кемпбелл

Губкоподібна енцефалопатія корів — «бешенство» корів

Резюме

Обзор дает общее представление о возникновении эпидемии неизвестного ранее заболевания BSE (бычья губкоподобная энцефалопатия) крупного рогатого скота в Англии, а также знакомит с гипотезами происхождения заболевания и его

связью с уже известным заболеванием овец — скрепи. В обзоре обобщены современные научные понятия о природе инфекционного агента, а также представлены доказательства в пользу существующей гипотезы, согласно которой причиной заболевания являются конформационные изменения белка приона. Обсуждаются также доказательства того, что BSE может передаваться человеку с дальнейшим развитием заболевания, аналогичного известной нервной болезни Крейтцфельда-Якоба.

P. Campbell

Bovine spongiform encephalopathy (BSE) — mad cow disease

Summary

The background to the epidemic of BSE among cattle in the United Kingdom is described as are the possible origins of the disease and its relationship to scrapie in sheep. Although the epidemic in cattle is virtually over there is evidence of the transmission of the infectious agent to humans to produce a new variant of Creutzfeldt-Jakob disease. The current status of our understanding of the molecular biology of the infectious agent is described as is the evidence in support of the protein only, prion, hypothesis. Study of the glycoforms of the prions supports the view that BSE has been transmitted to humans.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

- Hunter G. D. Scrapie and Mad Cow Disease.—New York: Vantage press, 1993.
- Prions Prions Prions / Ed. S. B. Prusiner.—Heidelberg: Springer, 1996.
- Update on BSC.—London: Royal Soc., 1997.
- Smith C., Collinge J. Molecular pathology of prion disease // Essays Biochem.—1995.—29.—P. 157—174.
- Donnelly C. A., Ghani A. C., Ferguson N. M., Anderson R. M. Resent trends in the BSE epidemic // Nature.—1997.—389.—P. 903.
- Klein M. A. A crucial role for B cells in neuroinvasive scrapie // Nature.—1997.—390.—P. 687—690.
- Prusiner S. B. Novel proteinaceous infectious particles cause scrapie // Science.—1982.—216.—P. 136—144.
- Bueller H. J. Mice devoid of PrP are resistant to scrapie // Cell.—1993.—73.—P. 1339—1347.
- Riek R., Hornemann S., Wider G., Glockshuber R., Wuthrich K. NMR characterization of the full-length recombinant murine prion protein, mPrP (23-231) // FEBS Lett.—1997.—413.—P. 282—288.
- Raymond G. J., Hope, Kocisko D. A. Molecular assessment of the potential transmissibilities of BSE and scrapie to humans // Nature.—1997.—388.—P. 285—288.
- Paushkin S. V. In vitro propagation of the prion like state of yeast Sup 35 protein // Science.—1997.—277.—P. 381—383.
- Prusiner S. B. Prion diseases and the BSE crisis // Science.—1997.—278.—P. 245—251.
- Hegde R. S. A transmembrane form of the prion protein in neurodegenerative disease // Science.—1998.—279.—P. 827—834.
- Parchi P. Molecular basis of phenotypic variability in sporadic Creutzfeldt-Jakob disease // Ann. Neurol.—1996.—39.—P. 767—778.
- Collinge J., Sidle K. L., Meads J., Ironside J., Hill A. F. Molecular analysis of prion strain variation and the aetiology of «new variant» CJD // Nature.—1996.—383.—P. 658—690.
- Hill A. F. The same prion strain causes vCJD and BSE // Nature.—1997.—389.—P. 448—450.
- Aguzzi A., Weissmann C. A suspicious signature // Nature.—1996.—383.—P. 666—667.
- Lasmzas C. I. BSE transmission to macaques // Nature.—1996.—381.—P. 743—744.
- Bruse M. E. Transmission to mice indicate that «new variant» CJD is caused by the BSE agent // Nature.—1997.—389.—P. 498—501.
- Korth C. Prion (PrP^{Sc})-specific epitope defined by a monoclonal antibody // Nature.—1997.—390.—P. 74—77.
- Lasmzas C. I. Transmission of the BSE agent to mice in the absence of detectable abnormal prion protein // Science.—1997.—275.—P. 402—405.
- Aguzzi A., Weissmann C. Prion research: The next frontiers // Nature.—1997.—389.—P. 795—798.
- Chesebro B. BSE and prions: Uncertainties about the agent // Science.—1998.—279.—P. 42—43.
- Transmissible spongiform encephalopathies: a summary of present // Knowledge and Research.—London: HMSO, 1994.—50 p.
- Mestel R. Putting prions to the test (news) // Science.—1996.—273.—P. 184—189.

УДК 577.322.7:578.99
Надійшла до редакції 11.06.98