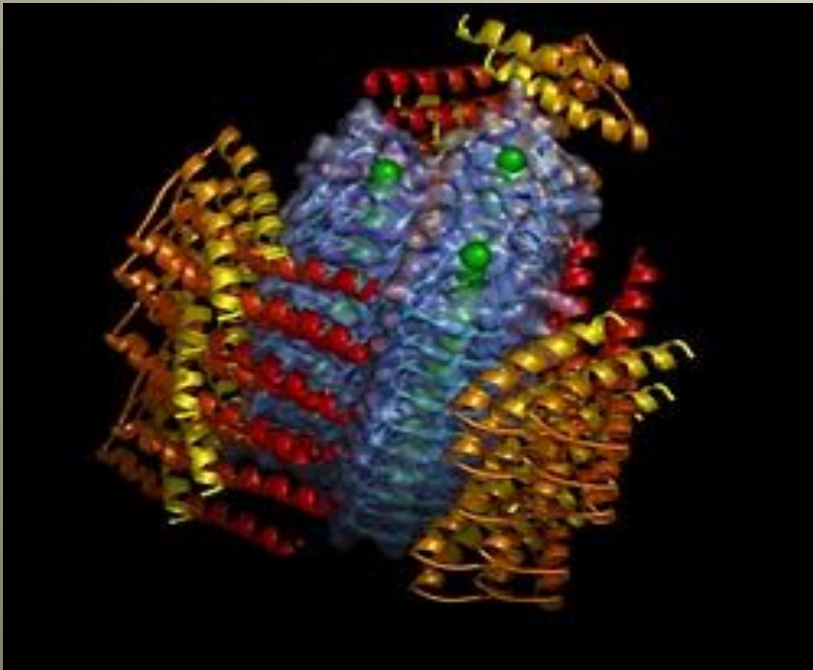


Прионы особые белковые инфекционные агенты PRION

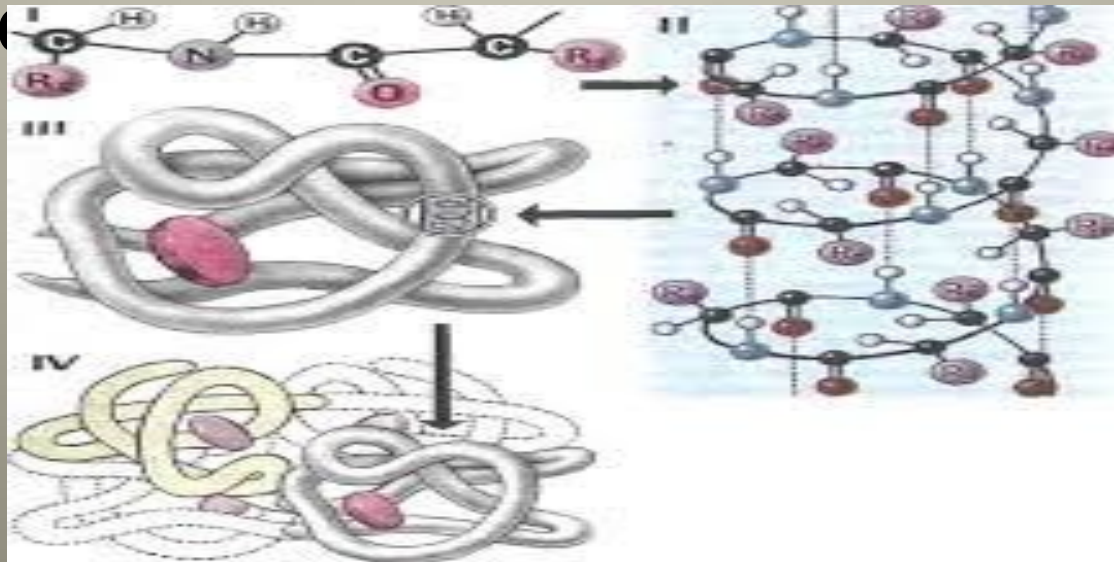


СПбГУ
2017

д.б.н., проф. Рыбальченко О.В.

PRION - акроним «Protein only infection agent»

- PR- protein
IN - infection
- Полиморфное семейство белков (инфекционных и неинфекционных), имеющих общие структурные особенности



Известные инфекционные агенты

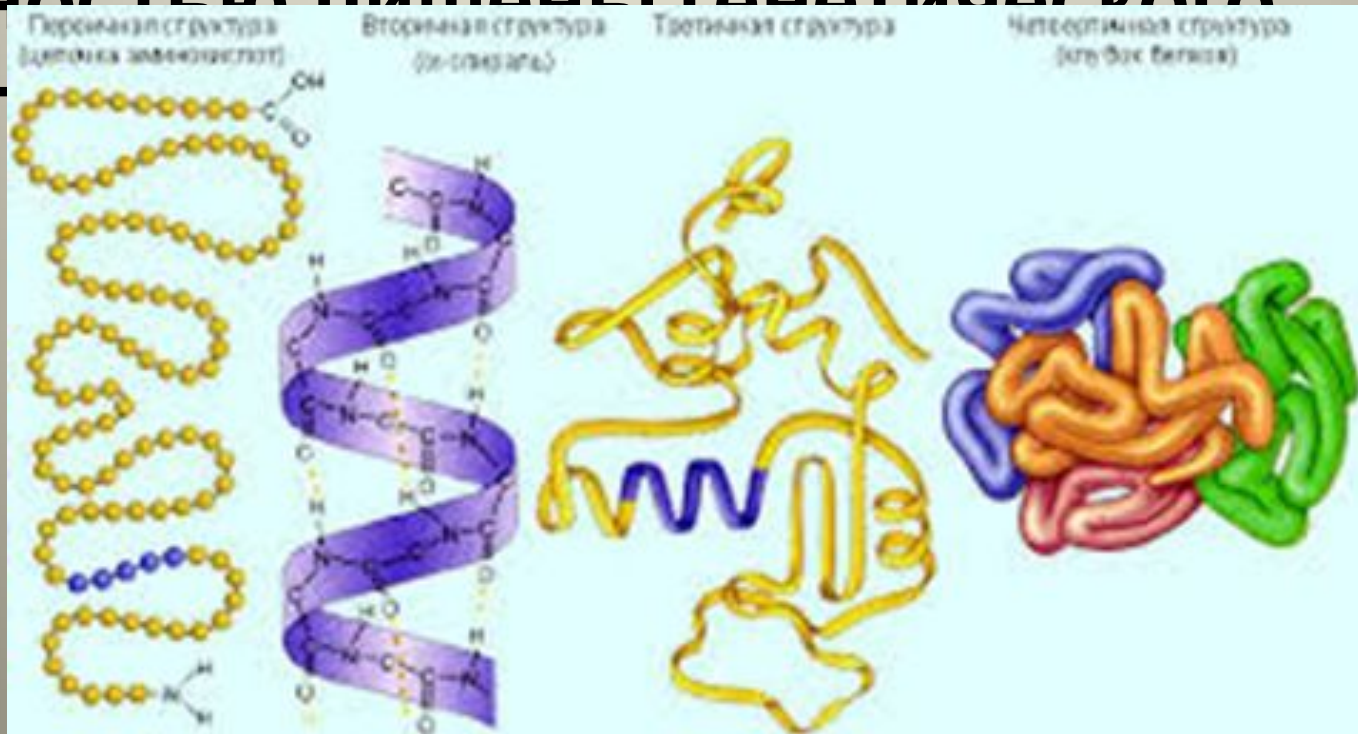
- 1. бактерии
- 2. грибы
- 3. простейшие
- 4. вирусы



Новый инфекционный агент

- 5-й инфекционный агент – Белки-прионы

полностью лишены генетического материала



Прионы

Вызывают тяжёлые заболевания центральной нервной системы человека и животных, заканчивающиеся смертельным исходом (медленные и



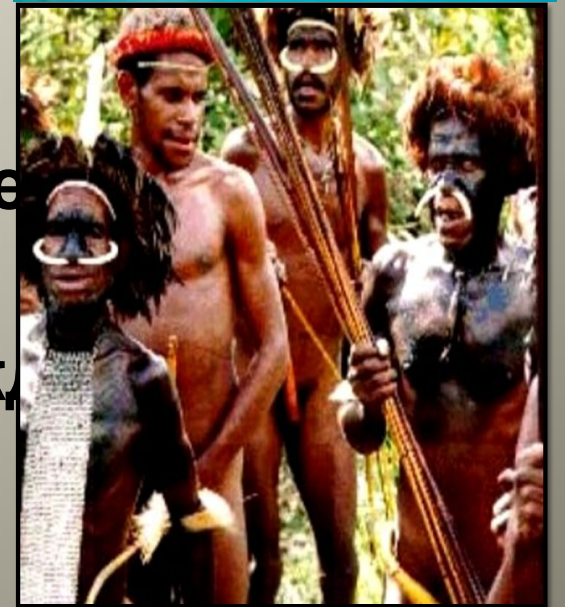
Заболевания прионовой природы человека

1. куру - болезнь каннибалов
2. болезнь Крейтцфельдта-Яка
(CDJ – Creutzfeldt-Jakob-Diseas)
3. фатальная семейная бессонница
(FFI – Fatal Familial Insomnia)
4. Синдром Герштмана-Штраусслера-Шейнкера
(GSS – Gerstmann-Straussler-Scheinker Syndrome)



Куру- тяжелое расстройство ЦНС

- Клинические проявления инк. период от 2-3 мес. до 5-10 лет. Повышенная возбудимость, долгая непроходящая улыбка, эйфория, атаксия, общее недомогание, боль в коленях, дрожь, нарушение тонких движений рук и ног, деменция, гибель от голода и жажды



Куру - болезнь каннибалов

- В 1932 г. в горах Новой Гвинеи обнаружено ранее неизвестное папуасское племя форе.
- Дэниел Гайдушек (Daniel Carleton Gajdusek) описал новое заболевание – куру.

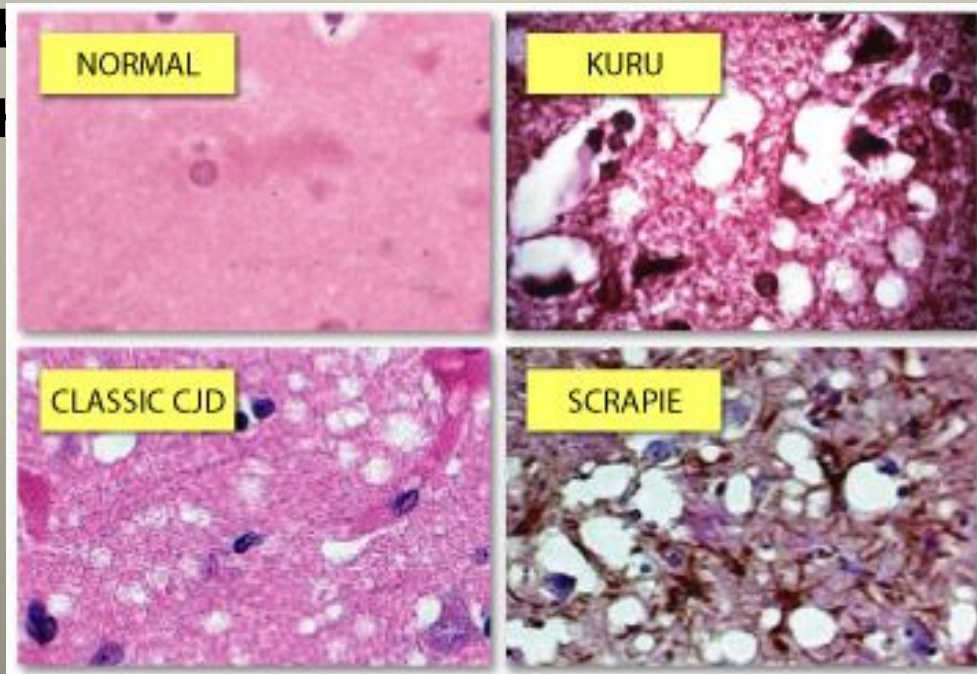


Патоморфологические изменения при куру

в коре, подкорке, мозжечке вакуолизация
нейронов – status spongiosus.

Выпадение нейронов, гипертрофия
астроцитов,

наиболее
мозжечка



IT B

Болезнь Крейтцфельдта-Якоба (БКЯ -CDJ)

- Заболевание прионовой природы с прогрессирующей деменцией и симптомами поражения пирамидальных и экстрапирамидальных путей.

- **Клинические проявления:**

инк. период от 2-3 мес. до нескольких лет.

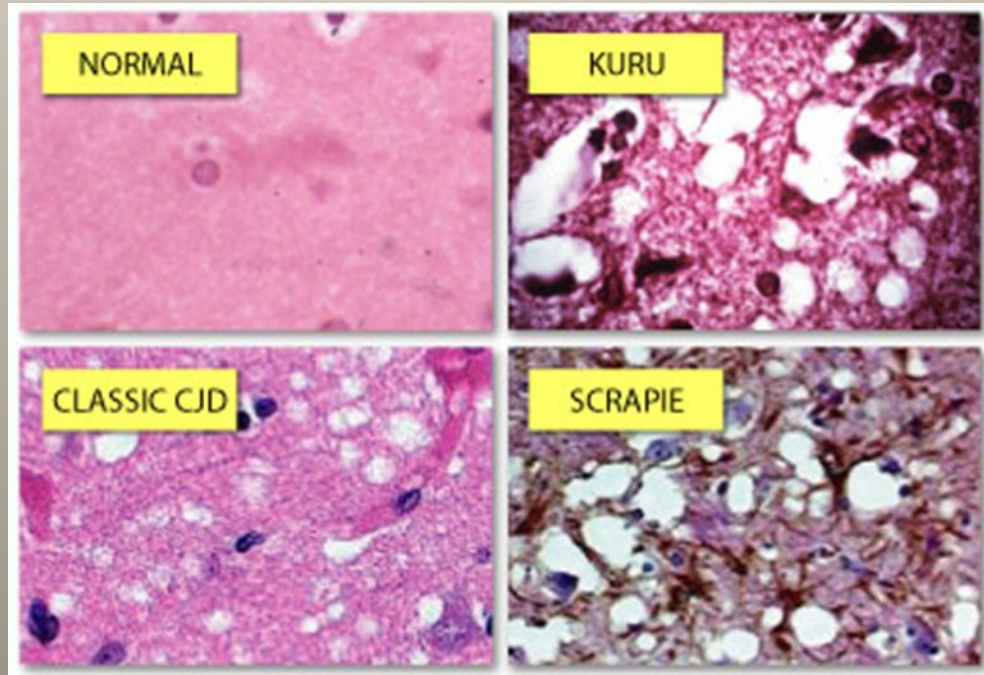
Полиморфная невралгическая симптоматика, чувствительность и боль в конечностях, нарушение зрения, тенденция к судорогам, конвульсивные движения, дрожь, атаксия, кома и смерть через несколько мес. или лет.

Ранее ср. возраст- 40-70 лет, в настоящее время 27 лет. **Заболевают не десятки (как в середине 1990-х), а единицы.**

Патоморфологические изменения при БКЯ-СДЖ

в коре, подкорке, реже в мозжечке –
status spongiosus.

Дегенерация и выпадение нейронов.



Заболевания прионовой природы

ЖИВОТНЫХ

Первые упоминания:

Англия 1732 г.,

Германия 1750 г.– скрепи (вертячка)

-заболевание овец

Современные трансмиссивные
спонгиозные энцефалопатии
(ТСЭ):

1. Хроническая изнуряющая
болезнь,
находящегося в неволе оленя
и лося

2. энцефалопатия норок

3. губкообразная энцефалопатия
крупного рогатого скота ("бешенство коров")



Скрепи

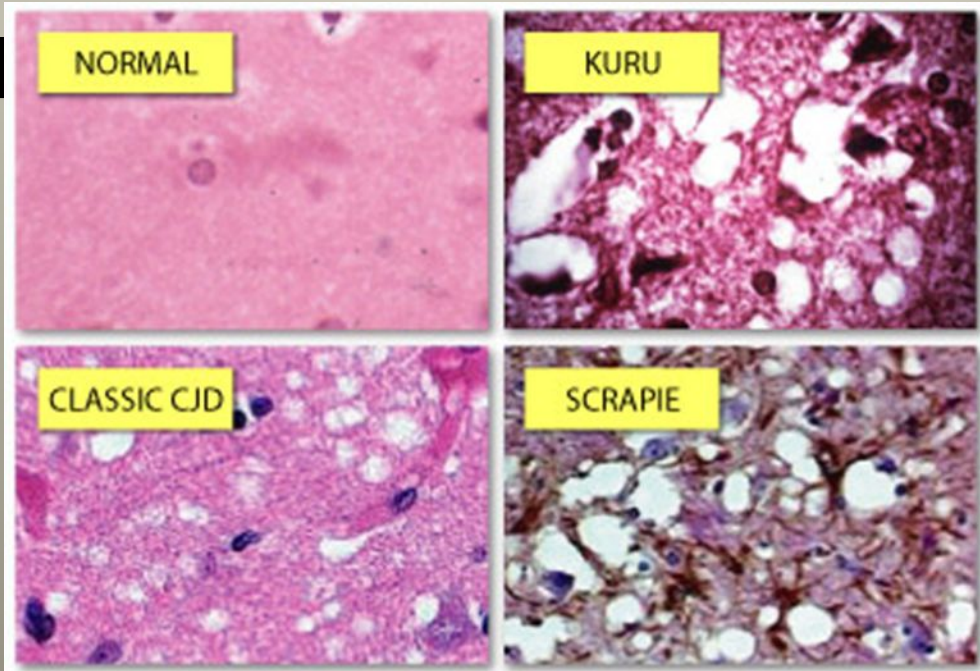
- Поражение ЦНС с развитием губкообразного состояния продолговатого мозга.
- **Клинические проявления**
инк. период от 2 мес. до 5 лет
Дрожание тела и зуд,
повышенное
возбуждение или вялость,
атаксия,
прогрессирующее истощение
и смерть.



Патоморфологические изменения при скрепи

в продолговатом мозге – status spongiosus, гипертрофия астроцитов.

Дегенерация



ронов.

Критерии медленных инфекций

- **Бьерн Сигурдсон** – в 1954 г.
- 1. продолжительный инкубационный период (несколько мес. или лет);
- 2. медленно прогрессирующий характер патологического процесса, завершающийся тяжелым расстройством или смертью;
- 3. своеобразное поражение какого-либо органа или ткани (нервно-дегенеративные процессы в органах).

Нервно-дегенеративные прионовые заболевания

- Сопровождаются не воспалительными, а нервно-дегенеративными процессами в различных органах.
- Б. Сигурдсон изучал особенности прионовых заболеваний в Исландии.

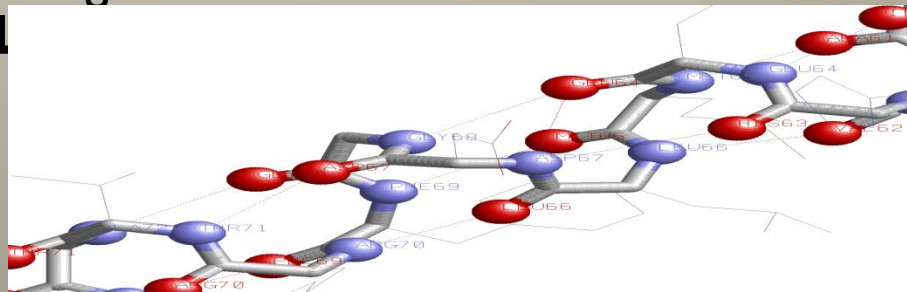


Характеристика агентов, вызывающих скрепи

- Вначале предполагали что прионы – это очень мелкие вирусы, но оказалось, что:
 - 1. 30 мин 100°C не лишает их инфекционности,
 - 2. устойчивы к УФ и ионизирующей радиации,
 - 3. устойчивы к ферментам: пепсину, трипсину, ДНК-азе, РНК-азе,
 - 4. устойчивы к формалину и многим другим, физико-химическим факторам,
 - 5. намного меньше самого маленького вируса, проходили через фильтры $\varnothing \sim 20$ нм,
 - 6. не видны в электронном микроскопе.

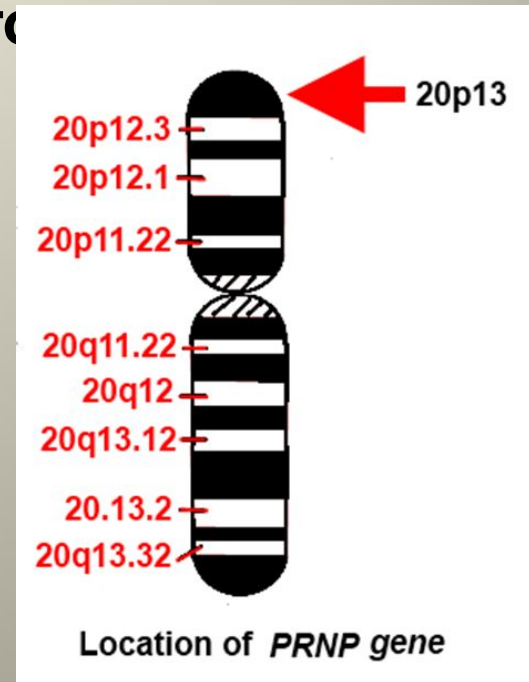
Анализ физико-химических свойств неизвестного возбудителя

- Свидетельствовал о резком их отличии от всех известных типов возбудителей,
- В пользу того, что это вирусы – малые размеры и явная инфекционная природа возбудителя,
- Против того, что это вирусы – необычная устойчивость к УФ-лучам и ионизирующ



Характеристика агентов, вызывающих скрепи

- 1966 г. Tikvah Alper установил отсутствие НК,
- 1973 г. - D. Asher – информация об этом белке заложена в геноме собственного организма
- 1985 г. – В. Oesch обнаружил ген PRNP в 20-й хромосоме, он кодирует нормальный прионовый белок – PrP^C (от cell - клетка).
- У больных выделяют инфекционный прионовый белок – PrP^{Sc} (от sc - scrapie-скрепи).



Сравнительный анализ нормальных (N) и инфекционных (In) прионов

- Общие свойства:
- N -белок – 33-35 kDa (250 АК, с концевыми повторами)
- In -белок – 27-30 kDa (250 АК, без концевых повторов)

Последовательность АК одинакова



- Отличия по физико-химическим свойствам:
- 1. термоустойчивость (пастеризация и 30 мин при 85°C их не уничтожает),
- 2. они разрушаются только при автоклавировании 135-160°C при 1 атм. 1 час,
- 3. обработка протеазой приводит к разрушению N белка,
- 4. In -белок – протеазорезистентный.

Проф. Стенли Прусинер

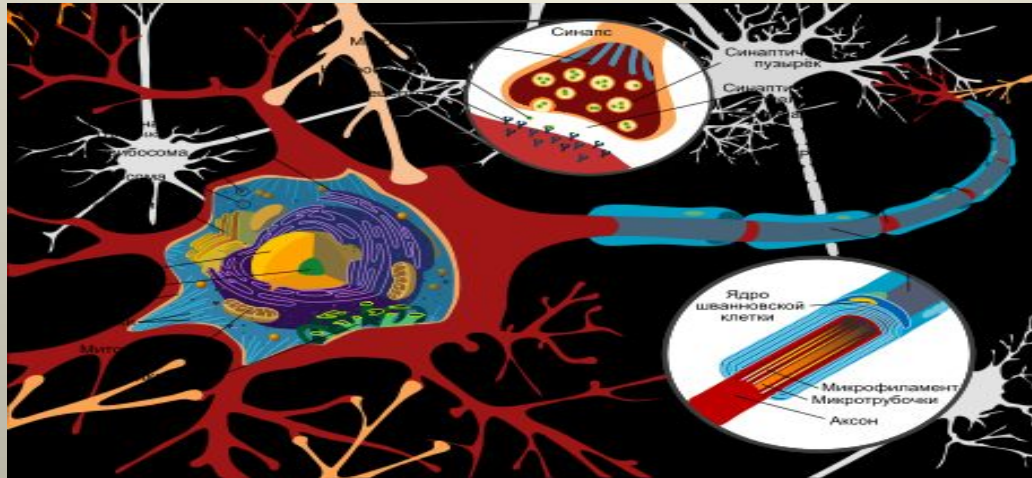
Prof. Stanley Prusiner



**В 1997 г. Нобелевская
премия за обобщение
материалов по прионам**

Обобщение материалов по прионам (по Стенли Прусинеру)

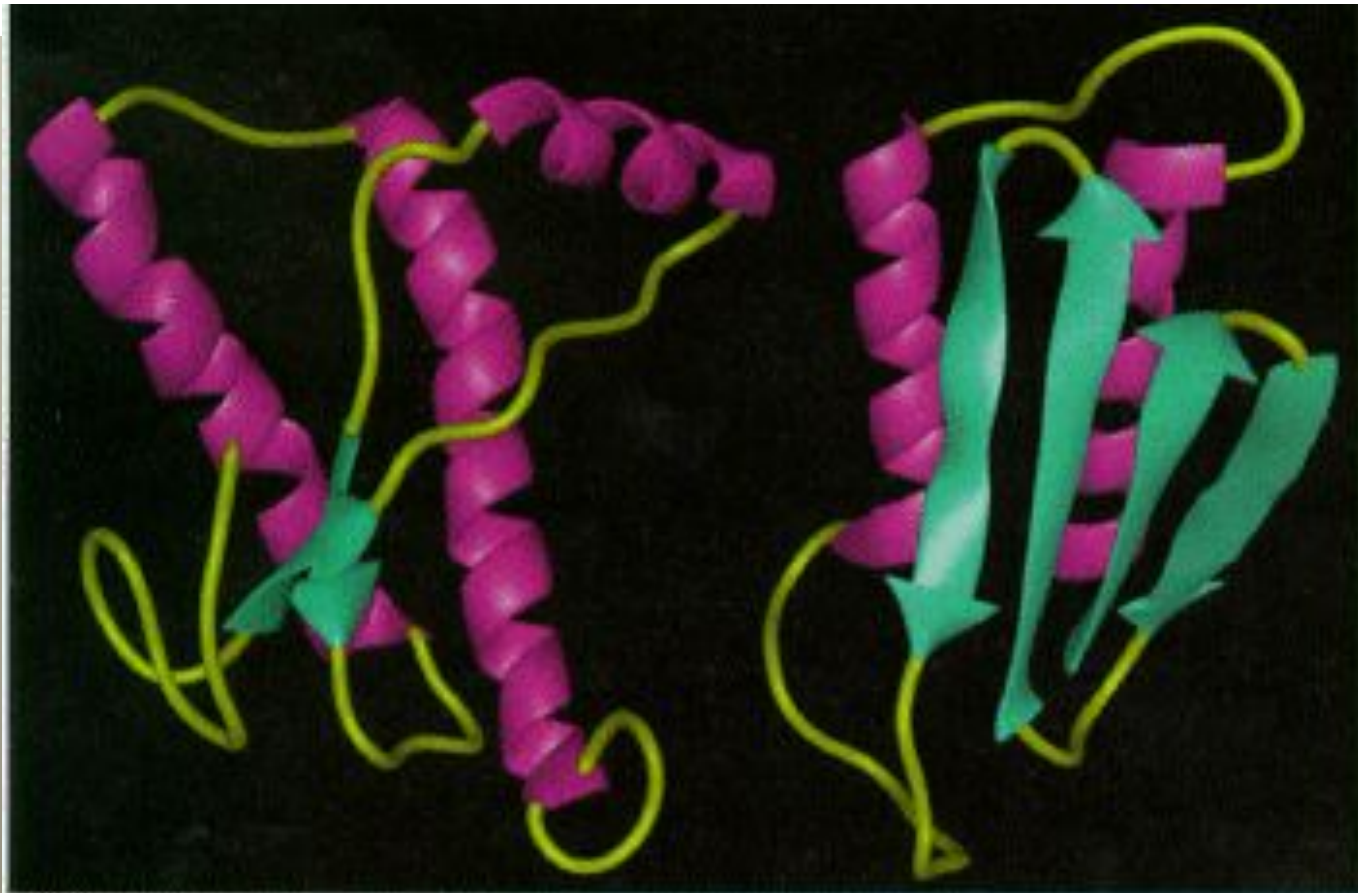
- Прионы образуются в нейронах,



- Через комплекс АГ выходят к мембранам,
- Оказываются на их поверхности,
- Функция - регуляция биологических ритмов,
- Участие в транспорте ионов Cu^{2+} ,
- Основное отличие PrP^c и PrP^{Sc} белка – в конформационном устройстве (третичной структуре).

Трёхмерная структура PrP^C (слева) и PrP^{Sc} (справа)

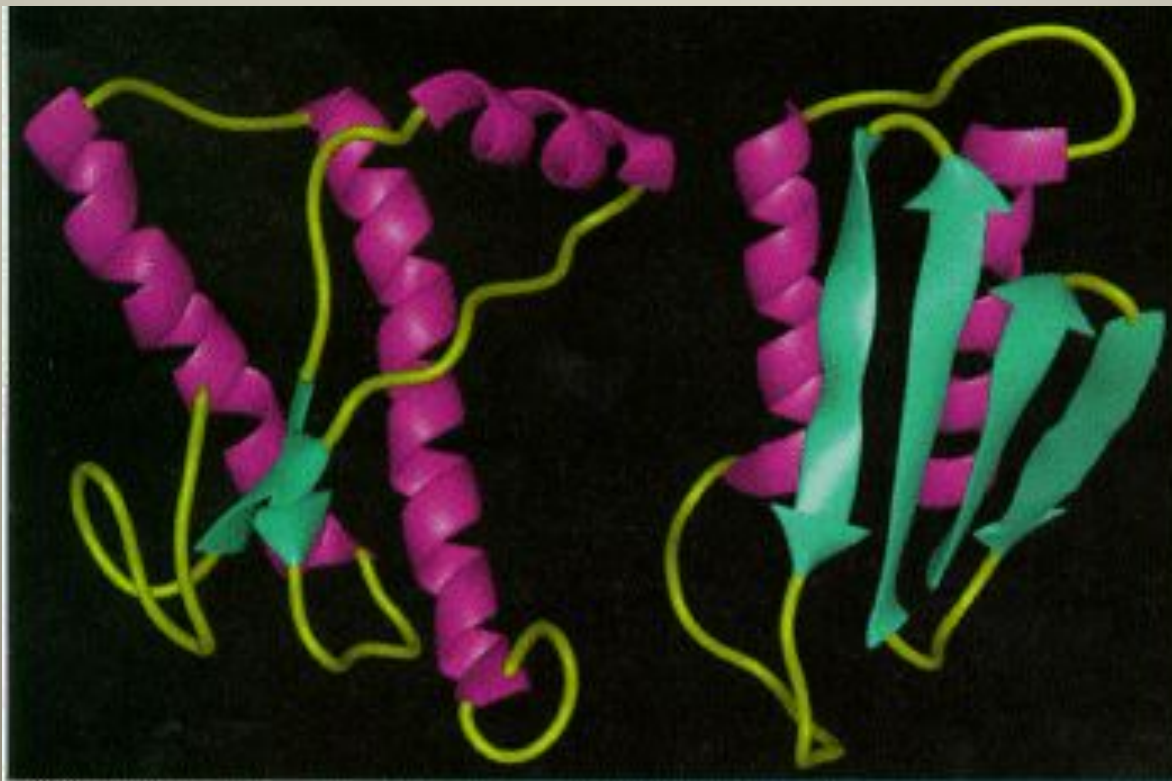
Фиолетовые - α -спирали, зелёные — β -тяжи.



Прионы, особенно PrP^{Sc}, отличаются крайней степенью гидрофобности

Различия в конформационном устройстве прионовых белков

- В PrP^C – 42% α -спиралей и 3% β -листов
- В PrP^{Sc} - 30% α -спиралей и 43% β -листов



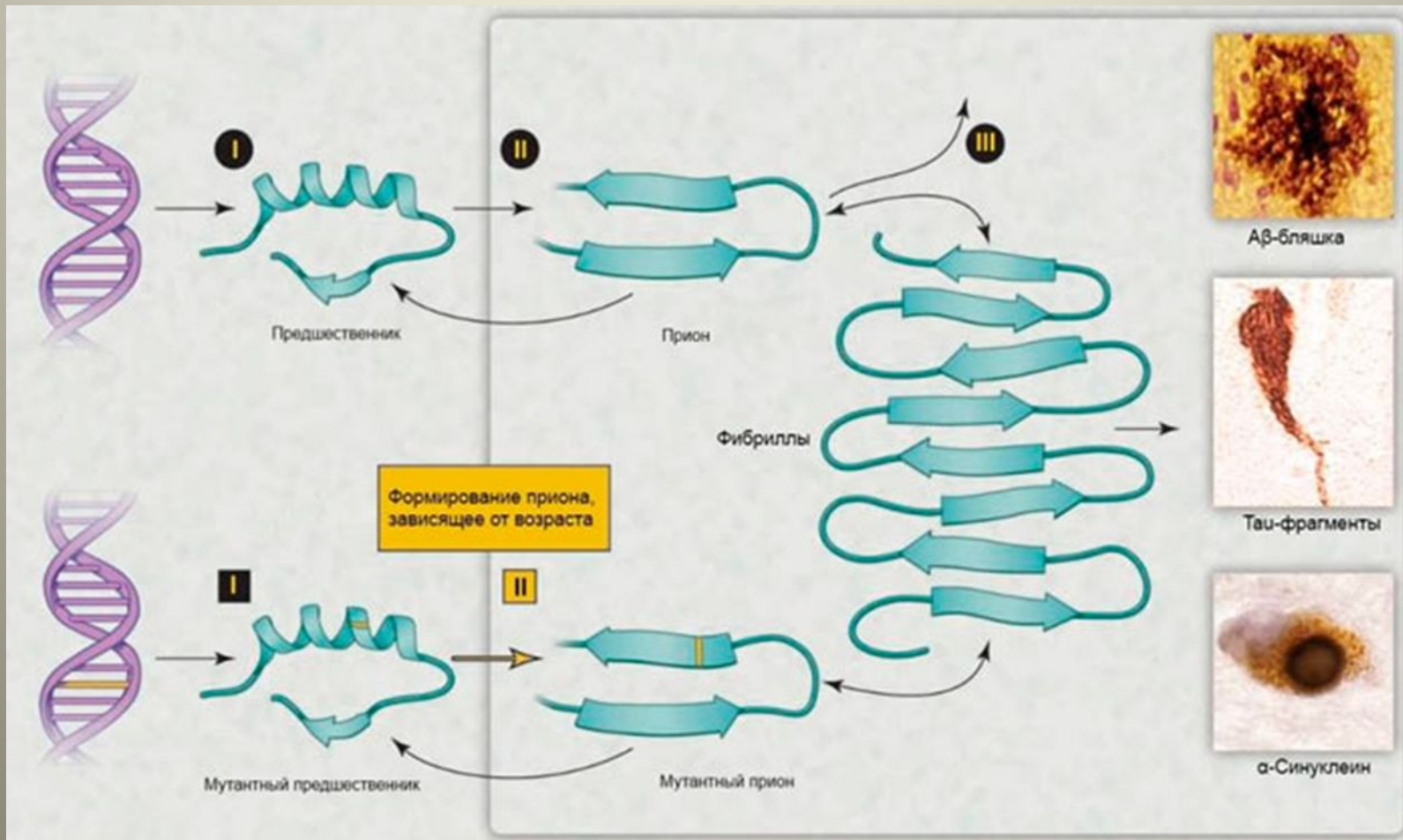
Агрегация прионовых белков

- PrP^{Sc} обладают тенденцией к образованию димеров (нерастворимых фибрилл).
- Агрегаты откладываются в области перикариона, тела или отростков нейронов или глиальных клеток, что приводит к нарушениям - деструкции цитоскелета клеток.
- Скопления PrP^{Sc} влияют на обменные процессы в нервных клетках.

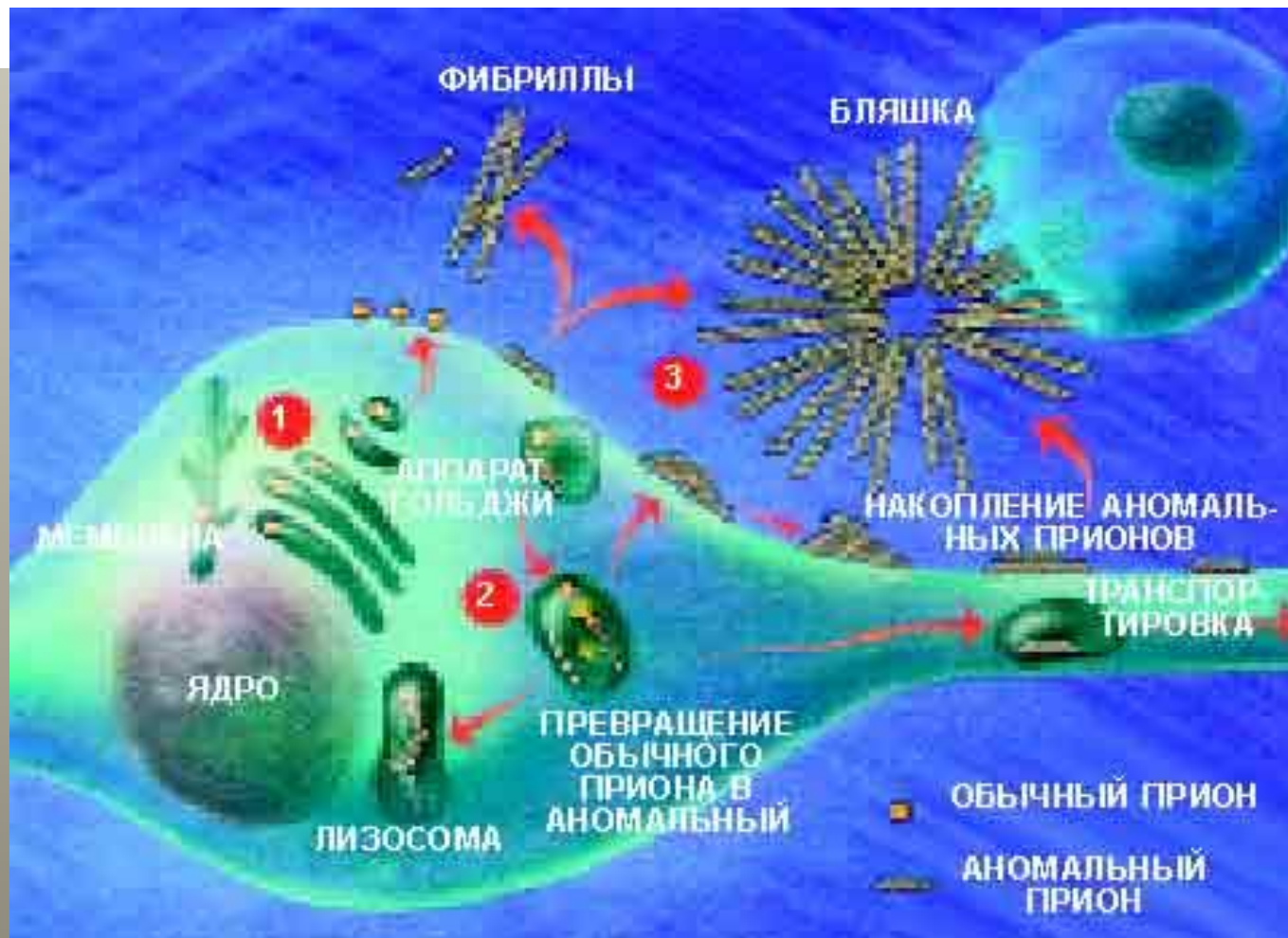


Возрастные изменения

накопление прионов и образование мутантных форм предшественников

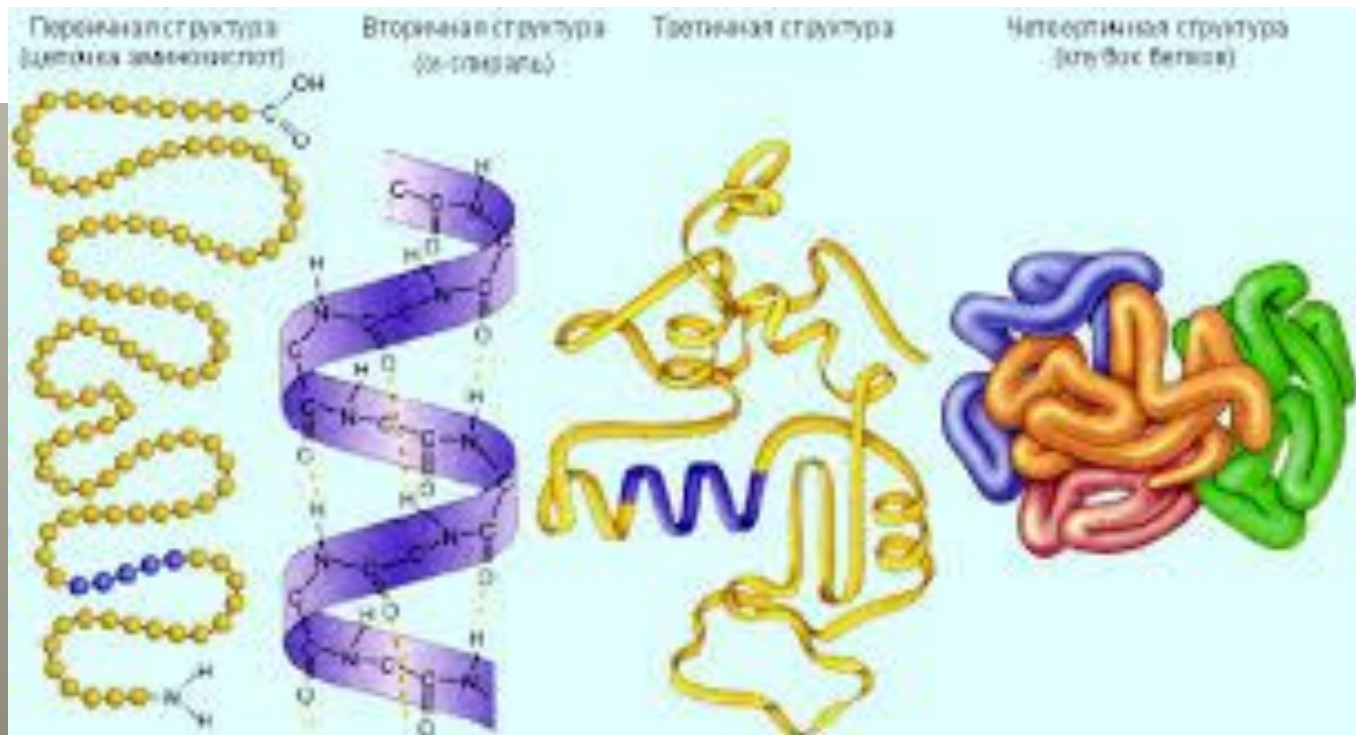


Постепенно накапливаясь, аномальные прионы формируют на поверхности нейронов фибриллы и бляшки



Патогенез прионовых заболеваний

Ключевой является первая стадия фолдинга (нарушение формирования трехмерной структуры белковых молекул) или начало



Строение прионовых агрегатов

Прионовые фибриллы и бляшки неотличимы от амилоидных структур

А, В–прионовые структуры

Сывороточные липопротеины

С – ЛПНП

Д – ЛПВП

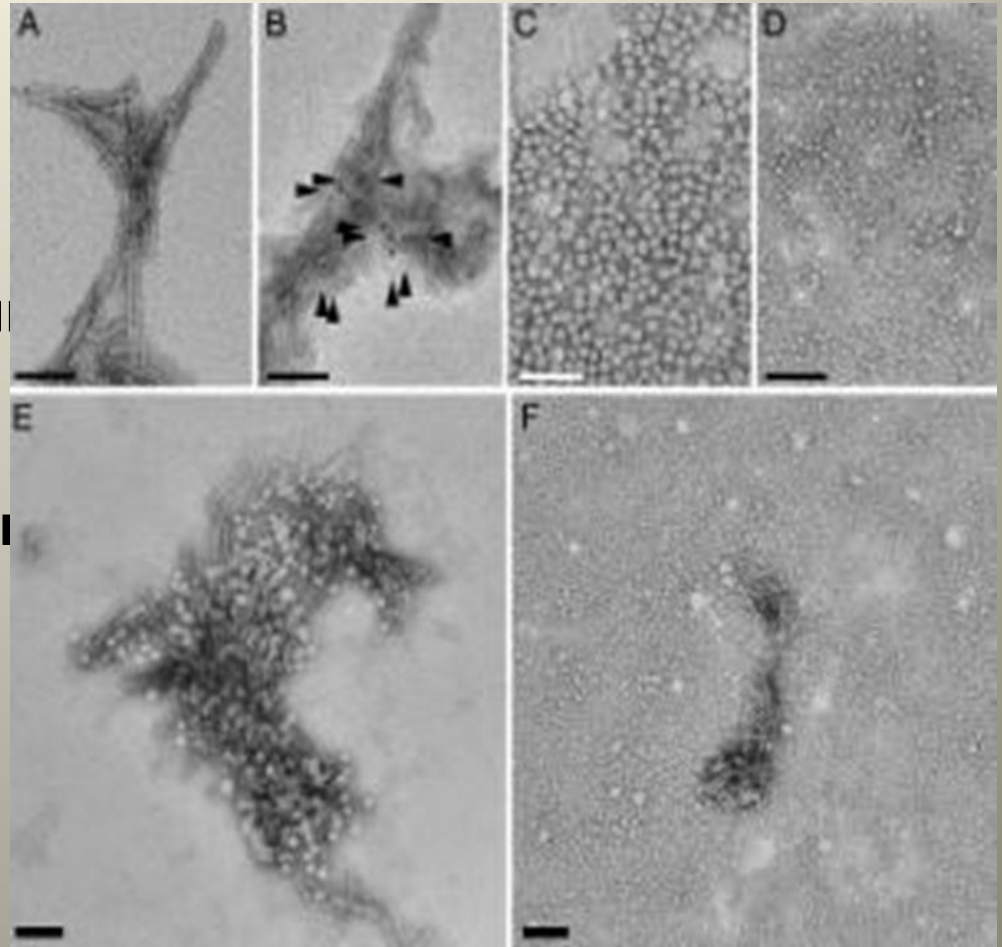
Образование конгломератов

Е - ЛПНП с прионами

Ф - ЛПВП

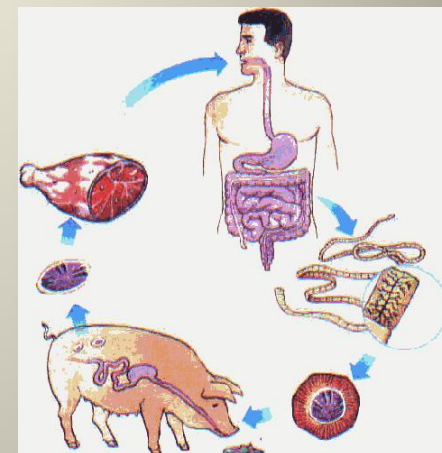
с прионами

не объединяются!!!!!!!!!!!!!!!!!!!!



Пути и причины появления Pr в макроорганизме

- 1. алиментарный путь

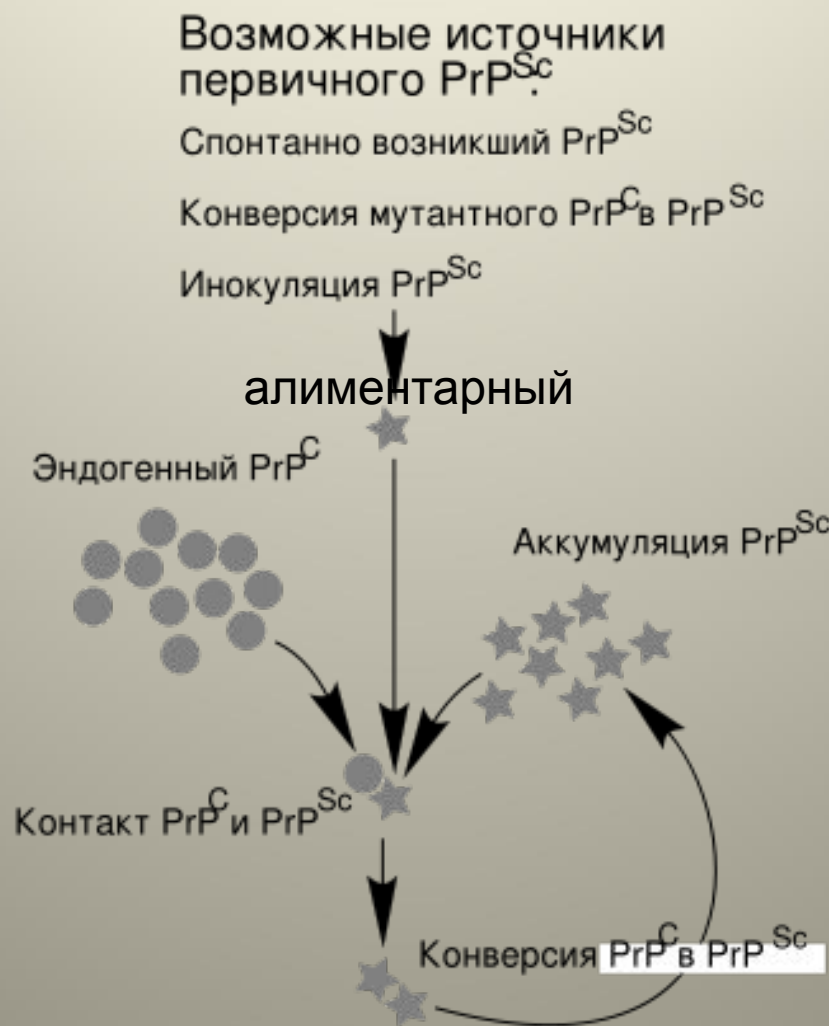


- 2. пересадка мозговых тканей, трупных тканей (напр. донорских роговиц), гормонов роста (единичные публикации)
- 3. преобразование PrP^C белка в PrP^{Sc} под действием шаперонов
- 4. мутации в гене PRNP

Конформационные (структурные) превращения прионов

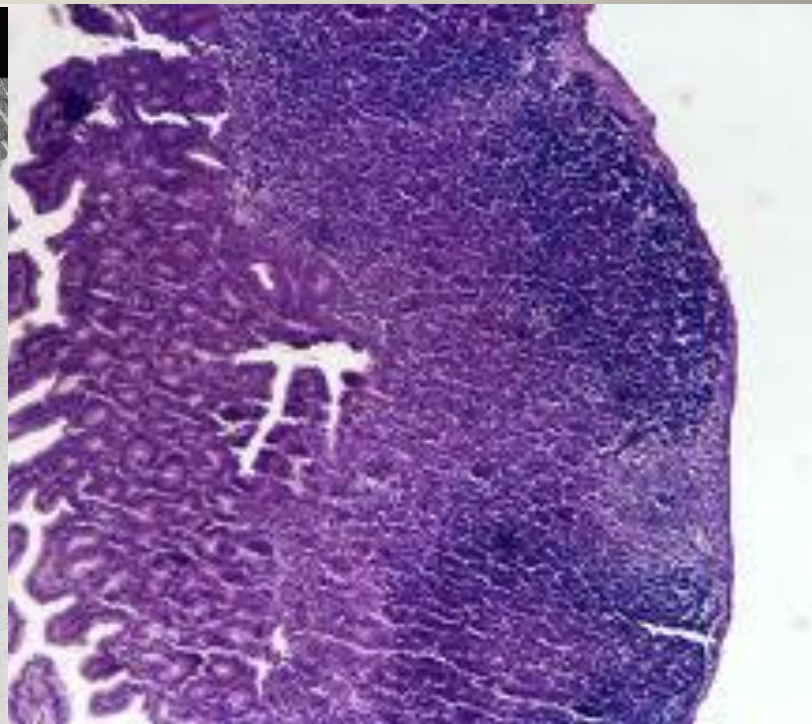
- В процессе посттрансляционного взаимодействия PrP^{Sc} с нормальным клеточным белком PrP^C, кодирующимся одготипным геном хромосом человека и животных, конформер PrP^{Sc} индуцирует в нем конформационные превращения, что делает нормальный клеточный белок необратимо инфекционным, то есть подобным самому конформеру PrP^{Sc}

Схема предполагаемого механизма появления Pr: изменение конформации



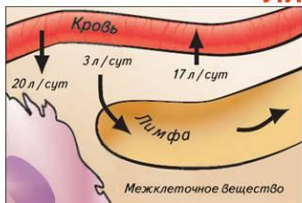
Пути распространения PR

- При попадании через ротовую полость накопление Pr в Пейеровых бляшках тонкой кишки (слева – ТЭМ, справа – световая микроскопия)



Распространение PR по руслу лимфатической системы с одновременной репликацией в лимфоидных образованиях.

Лимфатическая система

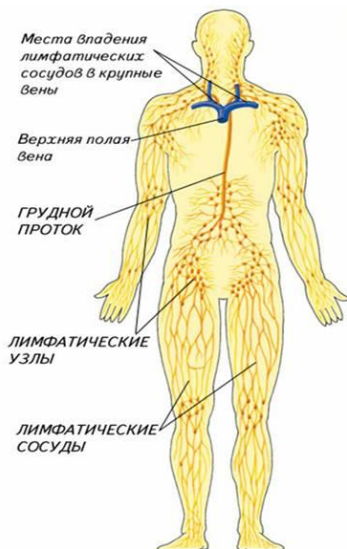


В лимфатическую систему входят: лимфатические капилляры, сосуды, узлы, стволы и протоки.

Функции лимфатической системы:

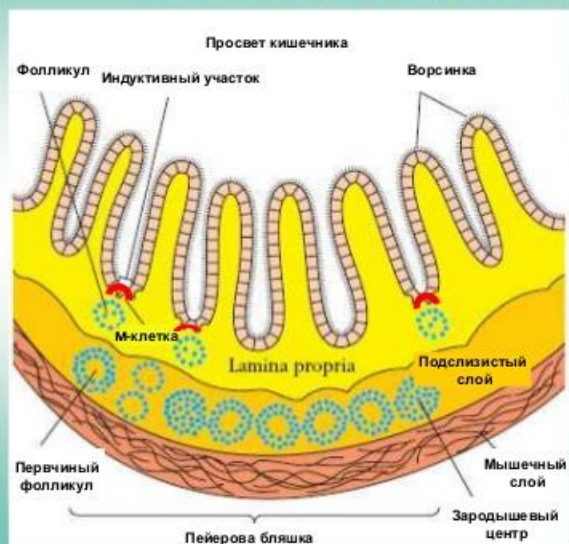
- поддерживает постоянный объем крови;
- возвращает в кровь белки и другие питательные вещества;
- защищает организм от инфекций.

Лимфатическая система



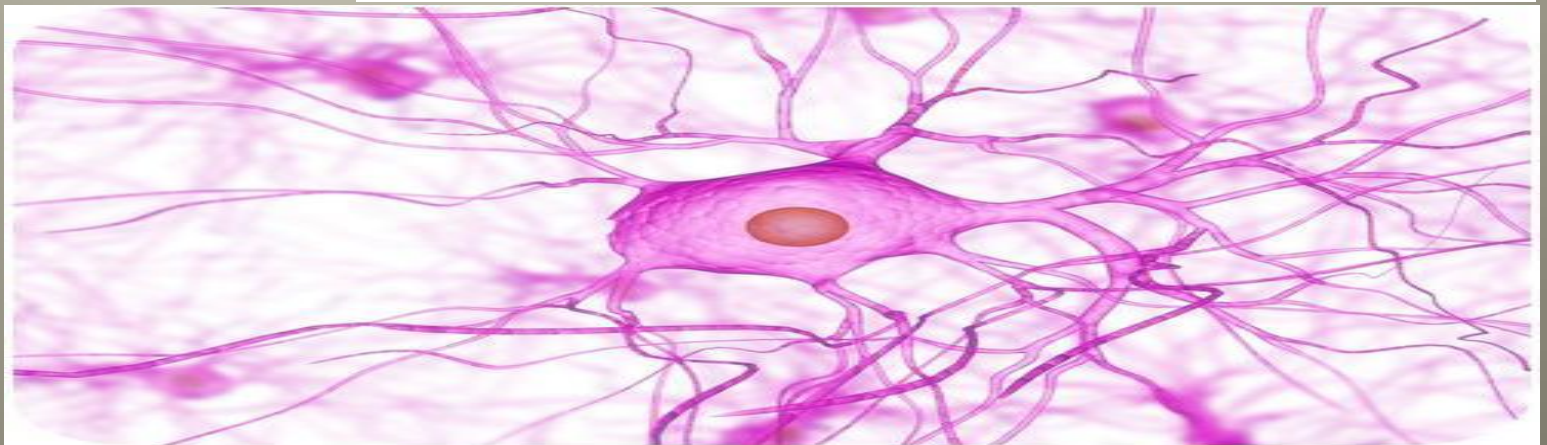
олтыгина А.П., IV Всероссийская школа по клинической иммунологии., 2013г.

Лимфоидные образования в кишечной стенке

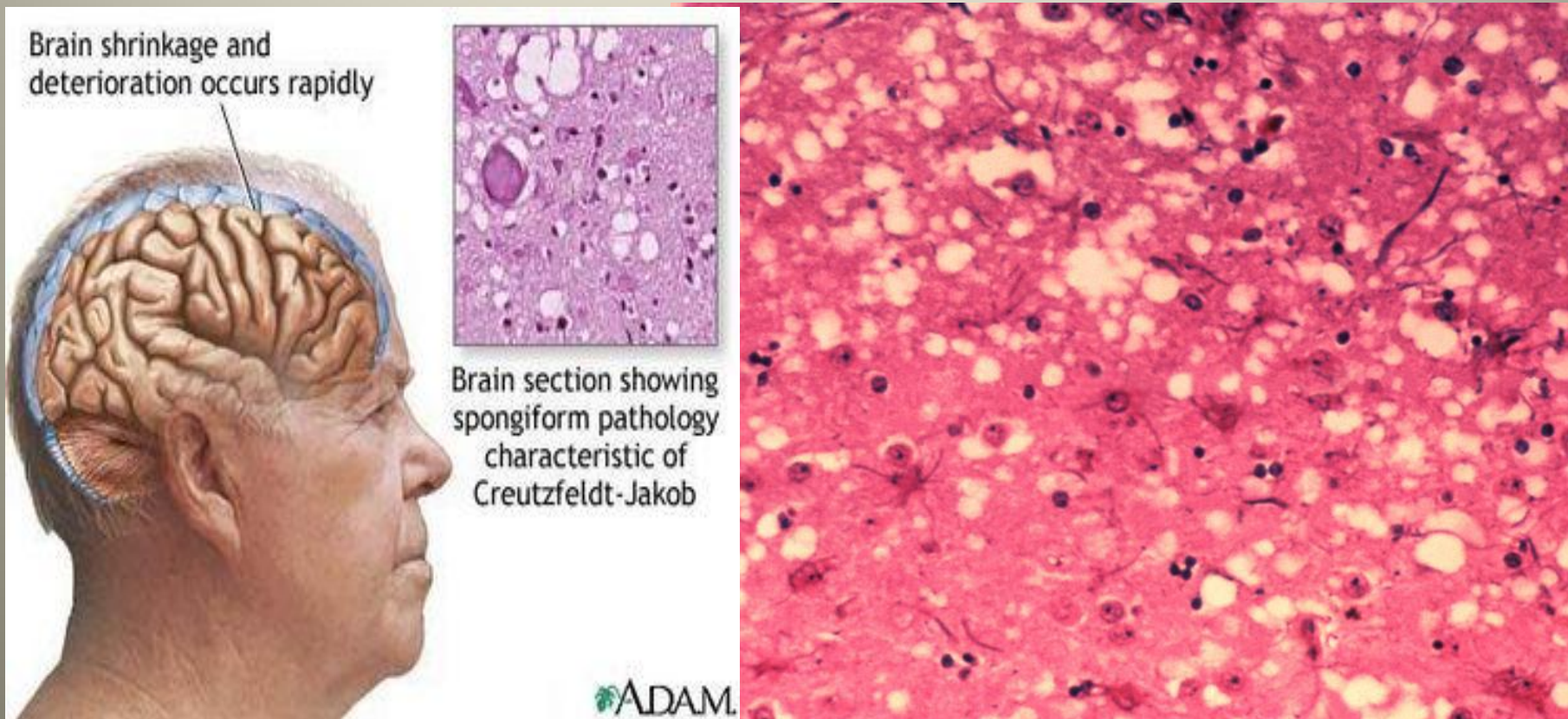


С помощью В-лимфоцитов PR могут переходить в периферические отростки нервных клеток

В-лимфоцит



Гистологический препарат: поражение ткани Pr с образованием характерной губчатой структуры



Группы риска

**Лица с наследственными заболеваниями:
синдромы Гершманна—Штраусслера—
Шейнклера (GSS) и фатальной семейной
инсомнии (FFI),
Нейрохирурги,
Патологоанатомы,
Работники сельскохозяйственной и пищевой
промышленности.**



Диагностика, перспективы лечения и профилактика

Методом Вестерн-Блот: выявление прионовых белков

Научные разработки:

- 1. Доставка рекомбинантных генов**
- 2. Ингибирование образования β -листов**
- 3. Снижение уровня сывороточных липопротеинов ЛПНП**
- 4. Соблюдение санитарных ГОСТов обработки пищевых продуктов**

Спасибо за внимание!!!



Литература

1. Зуев В.А. Прионы – новый класс возбудителей инфекционных заболеваний // Антибиотики и химиотерапия, 1999. Т. 44. №10. С. 33 – 38.
2. Зуев В.А., Завалишин И.А. Прионные болезни человека и животных. М.: Медицина. 1999. С. 8-115.
3. Кисилев О.И., Виноградова Е.Н. Прионы инфекционные агенты: возможности ДНК-вакцинации. Сб. Вакцинопрофилактика. СПб. 1996. С. 63-68.
4. Инге-Вечтомов С.Г. Цитогены и прионы: цитоплазматическая наследственность без ДНК. Соросовский образовательный журнал. 1996. №5. С. 11-18.
5. Jackson G.S., Clarke A.R. Mammalian prion proteins // Curr. Opin. Struct. Biol.–2000.– Vol. 10.– No. 1.– P. 69-74.
6. Hill A.F., Desbruslais M., Joiner S. et al. The same prion strain causes vCJD and BSE // Nature.– 1997.– Vol. 389.– No. 6650.– P. 448-450.