

УДК 616-022.6:616.83-089(048.8)

Педаченко Е.Г., Малышева Т.А.

Прионы в нейрохирургии

Институт нейрохирургии им. акад. А.П. Ромоданова НАМН Украины, г. Киев

Степень «биологической опасности» патогенов либо преувеличивается, индуцируемая фармакологическими компаниями, либо недооценивается в силу низкой информированности медицинской общественности. Прионы — уникальный класс инфекционных агентов. Термин «прион» образован как анаграмма английских слов «белковые инфекционные (частицы)» — “proteinaceous infectious (particles)”. Прионы не содержат нуклеиновых кислот и, таким образом, отличаются от микроорганизмов (бактерий, грибов, вирусов и вирусоподобных частиц). Природа прионов неясна. Они существенно отличаются от вирусов: у них отсутствует собственный геном; они не индуцируют иммунный ответ; обладают значительно более высокой резистентностью, чем вирусы, к действию высокой температуры (выдерживают кипячение в течение 1 ч), УФ-излучения, ионизирующей радиации и к различным дезинфектантам; нечувствительны к интерферонам и не индуцируют их синтез [1].

Во Франции прион квалифицирован как патоген максимальной степени опасности, в России — как патоген 2-й степени опасности в отношении мер предосторожности для медицинского персонала [2–4]. Важный аспект связан с эпидемиологией прионовых инфекций — это группы риска, соприкасающиеся с зараженным материалом животных или больными. К этой группе относятся ветеринары, хирурги (прежде всего нейрохирурги), патологоанатомы, врачи-лаборанты, средний и младший медицинский персонал операционных и морфологических подразделений, работники мясоперерабатывающей промышленности [5–9].

Рассматривают две основные причины необходимости изучения патологии, обусловленной воздействием прионов. Одна из них — экономическая. При выявлении одного случая коровьего бешенства необходимо уничтожить все стадо и запретить потребление мясных продуктов из данного региона или целой страны. Такие проблемы чреватые серьезным экономическим кризисом. Вторая причина: инфекционный агент — прион, его первичная структура идентична структуре неинфекционного белка, присутствующего в клетках здорового организма, а систематизированные эпидемиологические аспекты распространенности, инфицированности, заболеваемости и смертности отсутствуют.

Начиная с сообщений В. Sigurdsson, в литературе накапливались данные о группе инфекций человека, морфологические признаки которых характеризовались преимущественным поражением центральной нервной системы, первично-дегенеративными процессами (без признаков воспаления), появлением «губчатого» состояния серого и/или белого вещества головного и спинного мозга с образованием амилоидных бляшек и выраженным глиозом. Медленные инфекции, вызываемые прионами, названы «прионными болезнями», что широко распространено в научной литературе наряду с определением «трансмиссивная губкообразная энцефалопатия» (ТГЭ) [10].

В настоящее время имеются данные о способности некоторых белков к трансформации третичной и вторичной структуры без мутационных изменений, что свидетельствует об эссенциальной способности таких белков к патологической конформации [3, 11, 12]. Процесс превращения нормального клеточного белка в инфекционный агент называют конформацией — нарушением пространственной структуры его молекулы без изменения аминокислотного состава [13, 14]. С появлением других заболеваний на основе нарушений третичной или вторичной структуры белков стали выделять инфекционный и неинфекционный амилоидоз, введено определение «конформационные болезни» [11, 15]. Есть основания полагать, что такие конформационные белки могут играть роль главных регуляторов, в том числе такого важнейшего процесса, как уменьшение продолжительности жизни.

Патогенез прионовой энцефалопатии уникален с генетической и инфекционной точки зрения. Современная концепция патогенеза спонгиозной трансмиссивной энцефалопатии предусматривает возможность инфицирования человека прионами двумя способами.

1. **Трансмиссия** инфекционного агента парентеральным (в том числе ятрогенным) путем. Исходя из современных представлений, трансмиссия прионовой энцефалопатии определяется тремя факторами: дозой инфекта, путем инфицирования, видовым барьером. Доза инфекционного агента, полученная хозяином, зависит от объема ткани инфекта и его вирулентной способности (инфекционный титр). При повторной экспозиции существует риск кумулятивного эффекта [8, 16, 17].

Путь инфицирования прионами играет важную роль в формировании заболевания и имеет определенную иерархию. По степени значимости пути инфицирования распределение следующее: **интрацеребральный**, интравенозный, интраперитонеальный, подкожный, оральные (алиментарный). Ситуации риска разделяют на индивидуальный риск и риск, связанный с характером воздействия. Индивидуум, у которого планируют инвазивное вмешательство, может заразиться ятрогенной формой болезни Крейтцфельда-Якоба (БКЯ) с возможностью 1 на 10^6 , а пациентов, которым вводят экстракты гормонов, относят к группе высокого риска с возможностью возникновения болезни 1 на 10^2 ; больных, у которых проведены нейрохирургические манипуляции и вмешательства (люмбальная пункция, пересадка твердой оболочки головного мозга, интраоперационный мониторинг ЭЭГ, электростимуляция) также отнесены в группу высокого риска инфицирования прионами [3, 4, 12].

2. Наследственная передача по Менделю (аутосомно-доминантный тип наследования). Однако это не прямое наследование, а последовательное — через предварительную генную ауторепликацию инфекционного агента. Синтез прионов контролирует ген

PrNP, который у человека заложен в 20-й хромосоме. Установлено 18 различных мутаций гена PrP человека, связанных с прионовыми болезнями [3, 18, 19].

На современном этапе исследования молекулярных основ прионных заболеваний человека направлены на идентификацию гена, кодирующего прионный белок. Расшифровка последовательности его аминокислот позволила выяснить структуру кодирующей области соответствующего гена. Этот ген, получивший название PrNP, выделен и изучен в лаборатории Ч. Вэйсмана. В настоящее время структура белка PrP и соответствующего гена выявлена во многих организмах. Ген PrNP эволюционно-консервативен: он найден у многих млекопитающих и птиц. В структурном отношении гены PrNP млекопитающих схожи. Наибольшее количество иРНК PrNP содержится в нейронах [16, 20].

Максимальный риск отмечен у пациентов при наличии в анамнезе указания на семейную форму БКЯ (у родителей или родственников). К группе особенно высокого риска принадлежат пациенты с признаками БКЯ (с нарушением психомоторики и прогрессирующей деменцией, церебральной атаксией, повреждением глазодвигательного нерва); те, которым вводили гормон роста, гонадотропины или глюкоцереброзиды; лица, члены семьи которых умерли от БКЯ или подобных [4, 12, 21].

Прионовые заболевания являются одновременно и инфекционными, и наследственными. Они могут быть и спорадическими, при этом не выявляют ни одного известного фактора риска, хотя вероятно, что инфекция приобретена одним из двух ранее указанных способов [8, 12]. Показано, что дифференцированные В-лимфоциты участвуют в нейроинвазии прионов. Это может иметь значение при разработке методов профилактики и лечебной стратегии [22].

При алиментарном заражении прионы в групповых лимфатических фолликулах тонкой кишки проникают через клеточные мембраны во внутренние структуры лимфоидных клеток, откуда затем попадают в другие органы иммунной системы: лимфатические узлы, селезенку, миндалины и др. В этих органах возможна частичная репликация прионов. Предполагают, что дендритные клетки пермиссивны для периферической репродукции прионов. Из органов иммуногенеза прионы периаксонально достигают ближайших нейронов. В области аксона может происходить их значительная репликация. При достижении критической концентрации прионы продвигаются по направлению к спинному, а затем головному мозгу [23–25].

Не имея возможности работать с этиологическим агентом, исследователи разносторонне изучали ткань мозга, максимальное содержание инфекционного агента в которой достоверно установлено. У возбудителей ТГЭ обнаружены свойства, отличавшие их от известных вирусов. Возбудители ТГЭ устойчивы к действию бета-пропиолактона, формальдегида, глутаральдегида, ЭДТА, нуклеаз (РНКаза А и III, ДНКазы I), нагреванию до 80°C (при неполной инактивации в условиях кипячения), УФ-лучей, ионизирующей радиации, ультразвука. Более того, ни одним из инфекционных материалов, выделенных от животных или людей, умерших от ТГЭ, не удавалось заразить интактные клеточные культуры [26]. Перечисленные своеобразные свойства дали основание

рассматривать возбудителей ТГЭ как «необычные вирусы» [27]. В начале 80-х годов прошлого столетия они были идентифицированы и уточнены. Американский биохимик S.B. Prusiner, используя новые подходы к накоплению и очистке инфекционного начала в ткани мозга, показал, что возбудителем наиболее распространенной в природе ТГЭ — скрепи является безнуклеиновый низкомолекулярный (27–30 кДа) белок, который он назвал «инфекционный прионный белок». В качестве инфекционной единицы автор предложил наименование «прион». К. Гайдушек (1976) — за открытие инфекционной природы прионных болезней и S.B. Prusiner (1997) — за открытие прионов и разработку прионной теории удостоены Нобелевской премии, однако проблема до сих пор не решена [12–14].

Процесс накопления инфекционного прионного белка PrPSc в зараженном организме происходит путем конформационных изменений предшествовавших и предварительно синтезирующихся вновь молекул клеточного белка PrPC. Этот процесс лавиноподобный [15, 18].

Прионы состоят из особого белка — в виде двух изомеров (изоформы PrPC и PrP^{Sc}). PrPC участвует в регуляции суточных циклов многих гормонов, возможно его участие в активации лимфоцитов. PrPC играет важную роль в выживании грушевидных нейронов (клеток Пуркинье). Сохранность PrPC имеет значение для реализации нормальной функции синапсов. В последние годы опубликованы данные, свидетельствующие о роли PrPC в регуляции сна. Установлено значение нарушения нормальной функции PrPC в возникновении синдрома «смертельной семейной бессонницы». В исследованиях *in vitro* показано, что PrPC участвует в процессах регуляции содержания внутриклеточного Ca²⁺ в нейронах. Результаты исследования биологической роли PrPC позволили прийти к заключению о важном значении нормального приона PrPC в сохранении резистентности нейронов и астроцитов к оксидантному стрессу. У здоровых животных его содержание составляет 1 мкг в 1 г ткани мозга (больше всего в нейронах). Описан аномальный изомер прионного протеина (PrPSc), который отличается вторичной структурой, устойчив к протеолизу, не растворяется детергентами, способен к самоагрегации, олигомеризации. PrP^{Sc} растворим в детергентах, чувствителен к действию протеинкиназы К [28–30].

В последние годы значительно расширены представления о биологической значимости PrPC. Установлено, что PrPC синтезируется в эндоплазматической сети и довольно быстро деградирует: продолжительность его полураспада составляет 5–6 ч. Синтезированный PrPC, проходя через аппарат Гольджи, транспортируется на поверхность клетки, где связывается с гликофосфатидилинозитолом. Синтезированный PrPC распространяется вдоль аксона с помощью механизма быстрого антероградного транспорта. В отличие от PrPC, инфекционный прионный белок PrPSc первично аккумулируется в клетках, накапливаясь в цитоплазматических пузырьках. Дальнейшее накопление PrPSc в синаптических структурах и связанная с этим дезорганизация синапсов, возможно, являются причиной возникновения тяжелых неврологических дефектов и деменции [12, 16, 31, 32].

Примерно 10% всех прионных заболеваний человека относят к так называемым «семейным» формам, или болезням с наследственной предрасположенностью. Идентификация прионного гена позволила связать семейные формы этих заболеваний с конкретными мутациями в гене PRNP. Мутация, вызывающая замену пролина на лейцин в 102-м положении PrP, связана с возникновением синдрома Герстманна–Штреусслера–Шейнкера; мутация в 178-м кодоне — с появлением БКЯ и «смертельной семейной бессонницы». Интересно, что в обеих ситуациях происходит замена аспарагиновой кислоты на аспаргин. Предполагают, что разница заключается в том, что мутантная аллель при смертельной семейной бессоннице в 129-м положении несет кодон для метионина, при БКЯ — это положение занимает кодон для валина [9, 20]. Наследственная предрасположенность к прионным заболеваниям обусловлена не только заменой аминокислоты в PrP, но и более существенными изменениями. Так, в аминоконцевом районе PrP имеется 5 расположенных подряд идентичных последовательностей из 8 аминокислот. Некоторые формы семейной БКЯ оказались связанными с увеличением числа таких повторов. Механизм их образования не ясен. В отличие от наблюдений, описанных ранее, они возникли вследствие не точковых мутаций, а рекомбинантных событий. Всего в настоящее время в гене PRNP человека известно около 20 мутаций, связанных с семейными формами прионных заболеваний [3, 16, 12].

Описаны 12 прионных болезней, из них 6 — наблюдают у животных (скрепи — у овец, губкообразная энцефалопатия крупного рогатого скота, экзотических копытных и кошачьих, хроническое истощение — у лосей, трансмиссивная энцефалопатия — у норок). У человека описаны 6 болезней прионной этиологии. Течение болезни и распространение прионов по организму зависят от его типа. Прионы отличаются составом аминокислот, характерных для данного вида, определяемых видовым геном прионного протеина, а также так называемыми «посттрансляционными» модификациями или степенью гликолизирования базовой белковой цепочки. Посттрансляционная модификация значительно влияет на характеристики прионов и именно ей приписывают разницу между так называемыми «прионовыми родами».

Куру (curu — дрожать, трястись — «хочущая смерть») впервые описана в 1957 г. К. Гайдусеком у папуасов-каннибалов Новой Гвинеи. Характеризуется прогрессирующей мозжечковой атаксией, общим дрожанием, адинамией, психическими изменениями, заканчивается смертью. По данным морфологического исследования, наряду с перечисленными структурными изменениями, обнаруживают курубляшки (амилоидные бесклеточные образования, представленные агрегатами сферической формы с радиальной исчерченностью по периферии, в которых содержится PrP^{Sc}, выявляемый при гистохимических исследованиях) [33]. Выявление «прионовых бляшек» — важный диагностический критерий для установления достоверного диагноза [30, 34].

Болезнь Крейтцфельда–Якоба — (кортико-стрио-спинальная дегенерация) выявляют повсеместно (с частотой 1 на 1 млн. населения), однако умирает ежегодно в среднем 1% населения. Боль-

шинство больных умирают в сроки до 1 года после появления клинических симптомов [6]. БКЯ является наиболее распространенным нейродегенеративным заболеванием прионной природы, составляет до 90% в структуре всех прионных болезней человека. Большинство наблюдений составляют спорадические случаи БКЯ, в которых отсутствует связь с приобретенной инфекцией или наследственностью. Около 10% случаев семейной БКЯ обусловлены врожденными мутациями в гене PRNP [35]. Характеризуется прогрессирующей деменцией, симптомами поражения пирамидных и экстрапирамидных нервных путей. В 1996 г. возникла эпизоотия губкообразной энцефалопатии коров — ТГЭ («бешенство» коров) в Великобритании и ряде других стран Западной Европы. Она была обусловлена нарушением природных схем питания животных: в их рацион в виде добавок включали вещества, полученные из костей и мясных отходов овец и коров. Заражение мясом таких животных стало причиной заболевания людей БКЯ [8, 9, 11, 15, 21].

Возбудитель термоустойчив, сохраняется при температуре 700°C. У пациентов при БКЯ прионы распространяются в нервной системе, тканях глаза и лимфатических тканях, включая миндалины, селезенку, а также в слепой кишке. Наибольшее количество прионов локализовано в нервной системе, наименьшее — в лимфатической ткани. Характерно отсутствие иммунных нарушений. Существует аутосомный ген, регулирующий как чувствительность, так и репродукцию приона, который его подавляет. Генетическая предрасположенность составляет 1 на 1 млн. Болеют мужчины пожилого возраста. Диагноз устанавливают на основе результатов патологоанатомических исследований [6, 16, 23, 31, 36].

В Великобритании описана **новая форма БКЯ** (VCJD), которая отличается тем, что заболевают лица моложе 40 лет. **Спорадическая БКЯ** отличается значительной вариабельностью [9]. В некоторых наблюдениях отчетливые изменения не выявляют, в других — обнаруживают атрофию коры большого мозга, базальных ядер и мозжечка различной степени с уменьшением массы мозга до 850 г. Уменьшение массы и объема мозга при БКЯ выявляют с помощью компьютерной томографии в виде расширения борозд и желудочков [37, 38]. Морфологические особенности нового варианта БКЯ отражены в рекомендациях ВОЗ по диагностике трансмиссивной спонгиозформной энцефалопатии у человека [11]. Выделяют также имеющую клинико-морфологические особенности **ятрогенную БКЯ**, обусловленную заражением пациентов при выполнении операций с использованием инструментов, которые ранее использовали во время операции у пациентов при не диагностированной БКЯ. В последнее время увеличивается число факторов риска передачи прионов от человека человеку и возникновения ятрогенной БКЯ, которая, в отличие от спорадической, возникает у пациентов молодого возраста. Передача БКЯ людям возможна при пересадке роговицы, имплантации в мозг зараженных электродов, выполнении хирургических операций с использованием зараженных инструментов или аппаратов. С 1988 г. описано 11 наблюдений возникновения БКЯ после пересадки твердой оболочки головного мозга. Спорадическую БКЯ редко наблюдают у пациентов до 40 лет, поэтому возникновение БКЯ

у 55 пациентов в возрасте от 10 лет до 41 года, которым проводили гормонотерапию (инъекции гормона роста человека), также подтверждает ятрогенную природу заболевания. Всем этим больным вводили гормон через каждые 2–4 сут в течение от 4 до 12 лет. Имеются сообщения о возникновении БКЯ у 5 женщин, которым вводили гонадотропин [1, 15, 21].

При **ятрогенной БКЯ** обнаруживают все морфологические изменения мозга, характерные для прионных заболеваний, хотя их локализация варьирует. Установлена зависимость выраженности морфологических изменений мозга и клинических проявлений заболевания от характера инфицирования. Так, при интрацеребральном заражении вследствие выполнения нейрохирургических процедур и операций по пересадке твердой оболочки головного мозга наблюдали классические признаки БКЯ с выраженными спонгиозформными изменениями в коре большого мозга. При введении гормона гипофиза человека выявляли особенно тяжелое поражение мозжечка. Клинико-морфологические сопоставления показали, что у большинства больных, которым вводили гормон роста человека, клиническое течение заболевания напоминало куру. Оно характеризовалось длительным инкубационным периодом (от 4 до 30 лет), постепенным прогрессированием мозжечковых симптомов. Деменция у некоторых больных возникала только в терминальной стадии заболевания.

Ятрогенная БКЯ [21].

Источник заражения	Число наблюдений
Применение соматотропина	94
Применение гонадотропина	4
Пластика ТОГМ с трансплантацией ее гетероматериала	69
Нейрохирургические инструменты	4
Электроды для интраоперационной ЭЭГ	2

Примечание. ТОГМ — твердая оболочка головного мозга.

«Смертельная» семейная бессонница — потеря сна, гиперреактивность симпатической части вегетативной нервной системы, прогрессирующее ослабление автономных и эндокринных циклических временных ритмов; наблюдают у пациентов среднего возраста (около 45 лет). Преимущественно поражается таламус, заканчивается смертью [18, 31].

Синдром Герстманна–Штреуслера–Шейнкера (СГШШ)/Герстманна–Штрейслера (СГШ) — медленная инфекция, зарегистрированная в Великобритании, США, Японии и других странах мира. СГШШ представляет доминантно наследуемую форму прионного заболевания, клинически проявляется прогрессирующей спинно-мозжечковой атаксией с деменцией, обусловленной мутацией в гене PRNP. Характеризуется дегенеративным поражением ЦНС, которое проявляется формированием губкообразного состояния, образованием амилоидных бляшек во всей ткани мозга. Болезнь проявляется медленно прогрессирующей атаксией и деменцией, заканчивается смертью. Патогенез не изучен [3, 10, 27, 39].

Амиотрофический лейкоспонгиоз — медленная инфекция человека, характеризующаяся прогрессированием атрофического пареза мышц конечностей

и туловища, нарушением дыхания, заканчивается смертью. Заболевание выявляют в Белоруссии. Инкубационный период — годы. Предполагают, что возбудитель имеет отношение к заболеваниям крупного рогатого скота в Великобритании [1, 16, 38].

Синдром Альперса — медленная прионная инфекция. Наблюдают в детском возрасте, характеризуется симптомами, свидетельствующими о поражении ЦНС. При преимущественном поражении мозжечка атрофия коры большого мозга может отсутствовать. Дифференциальную диагностику следует проводить, в первую очередь, с различными формами спиноцеребеллярной дегенерации. Эта форма сочетается с поражением печени, возникает у пациентов детского и юношеского возраста (от рождения до 18 лет). Описаны наблюдения возникновения заболевания в пренатальном периоде, при этом наблюдали выраженную микроцефалию, задержку внутриутробного развития, акинезию плода, микро- и ретрогнатию, нарушение подвижности суставов. Заболевание наследственное, наследуется по ауто-сомно-рецессивному типу. Клинически проявляется интенсивной головной болью, нарушением зрения, множественными инсультоподобными состояниями (с эпилептиформными припадками), прогрессирующей гипотензией, поражением печени (хронический гепатит с исходом в цирроз), иногда выявляют геморрагический панкреатит. Смерть, как правило, наступает вследствие печеночной недостаточности. Болезнь трансмиссивна [16, 17].

Клиническая диагностика прионных болезней основана на анализе симптомов. При попытках проведения иммунодиагностики, иммунотерапии или иммунопрофилактики прионных болезней установлено отсутствие специфических антител в зараженном организме [6, 33, 40]. Такой результат объясним структурным подобием инфекционного прионного белка PrP^{Sc} и его клеточной изоформы PrP^C, в связи с чем организм «рассматривает» белок PrP^{Sc} как «свой» [3, 39].

Все авторы подчеркивают существование широкого спектра морфологических изменений ЦНС при прионных заболеваниях как в отношении их распространенности и тяжести, так и локализации в мозге [23, 28, 31, 41]. Нейропатоморфология прионовых болезней человека характеризуется 4 классическими признаками: спонгиозными изменениями, утратой нейронов, активацией астроглии, формированием амилоидных бляшек. Чем длительнее течение болезни, тем более выражены структурные изменения [11, 23].

Все это потребовало унификации морфологических критериев диагностики БКЯ и других прионных заболеваний человека, что и сделано в настоящее время под эгидой ВОЗ. Это особенно важно, поскольку результаты нейроморфологического исследования играют ведущую роль при установлении достоверного диагноза БКЯ, при этом, кроме биопсии мозга, других специфических методов прижизненной диагностики БКЯ нет. Важное значение имеет выявление по данным иммуногистохимических методов исследования отложений PrP^{Sc} в ткани мозга [24, 29, 42].

Макроскопически у всех больных при прионной энцефалопатии отмечены незначительное уменьшение массы головного мозга, атрофия извилин [23, 28, 31, 41].

Микроскопически прионная спонгиозформная энцефалопатия характеризуется наличием множес-

тва вакуолей (спонгиоз) преимущественно в сером веществе конечного мозга. Это могут быть отдельные вакуоли или их группы. Вакуоли могут сливаться в микрокисты (диаметром 200 мкм и более), вследствие чего существенно искажается цитоархитектоника коры большого мозга. Спонгиозные изменения постоянно сопровождаются уменьшением числа нейронов в различных отделах коры. В основном поражаются нейроны III–VI слоев. В отдельных сохранившихся нейронах отмечается вакуолизация цитоплазмы, некоторые нейроны сморщены, гиперхромны. Степень выпадения нейронов коррелирует с выраженностью спонгиозных изменений и длительностью заболевания. Описанные признаки сочетаются с пролиферацией клеток астроглии. В пролиферирующих астроцитах обнаруживают дистрофические изменения (вакуолизацию цитоплазмы, гиперплазию тел — гемистоциты, клазматодендроз). Миелинизированные волокна коры сохранены. В базальных ганглиях и таламусе выраженная гибель нейронов может сочетаться с глиозом и атрофией [23, 28, 31, 41].

Помимо коры, спонгиозные изменения нейропиля и вакуолизацию цитоплазмы нейронов отмечают в ткани аммонова рога, по ходу зубчатой фасции, в области подкорковых ядер, таламусе и коре мозжечка. Вовлечение в патологический процесс мозжечка — наиболее характерное проявление болезни, хотя степень спонгиоза в нем различна. Спонгиоз в ткани мозжечка представлен микровакуолями диаметром 1–50 мкм, расположенными в молекулярном слое. В мозжечке наблюдают выраженные дистрофические изменения вплоть до гибели зернистых клеток и грушевидных нейронов. Сохранившиеся грушевидные нейроны гиперхромные, набухшие, в них выявляют тигролиз и лизис ядер. Миелиновые волокна, прилежащие к коре и ядерным группам мозжечка, часто варикозно изменены, фрагментированы [17, 23, 31].

Определяют вакуолизацию серого и белого вещества полушарий большого мозга. В мозжечке выраженные изменения обнаруживают в виде значительной гибели нейронов зернистого слоя, сморщивания и гиперхроматоза грушевидных нейронов, пролиферации астроцитов. Характерной патологией отдельных грушевидных нейронов при БКЯ и других прионных заболеваниях является локальное набухание их аксонов — «торпеды». Отмечают спонгиоз молекулярного слоя, хотя сливающиеся вакуоли нехарактерны для этой области. При спорадической БКЯ прион-протеиновые (PrP) бляшки обнаруживают только в 5–10% наблюдений. Однако у некоторых пациентов, в частности, выявленных в Японии, обнаружены некротические изменения белого вещества с вакуольной миелопатией [17, 23, 36].

В зависимости от распространения характерных для БКЯ изменений выделяют панэнцефалопатическую форму, при которой изменения возникают не только в коре различных областей полушарий большого мозга, базальных ядрах, таламусе и мозжечке, но и в белом веществе мозга. В литературе описано наблюдение панэнцефалопатического варианта БКЯ. При этом дегенерацию белого вещества (вакуольную миелопатию) рассматривают как самостоятельный патологический процесс, а не вторичные реактивные изменения [23].

При поражении спинного мозга отмечают значительное уменьшение числа мотонейронов. Несмотря

на относительно высокую концентрацию прионов в периферических нервах, выраженные структурные изменения в них не выявлены. Необходимо подчеркнуть, что демиелинизация волокон для всех форм прионных болезней не характерна [11, 23].

Патогномоничным морфологическим признаком прионной энцефалопатии является наличие прион-протеиновых (PrP) бляшек [11, 34]. Такие бляшки характерны для болезни Куру. Реже их выявляют при спорадической и семейной БКЯ и более чем в 70% наблюдений — при ее новой (VCSJD) форме. В единичных наблюдениях их описывают при смертельной семейной бессоннице. PrP амилоидные бляшки локализуются в клетках зернистого слоя коры мозжечка, но могут располагаться и в молекулярном слое и белом веществе. Они, как правило, окружены бледно-розовым ореолом. Интенсивность окрашивания бляшек различна. Возможно, поэтому их не всегда удается обнаружить. Для этого используют стандартные иммуногистохимические методы с PrP антителами. В обнаруженных полимерах протеина после специальной окраски, при поляризационной микроскопии выявляют зеленое двойное лучепреломление [30, 34, 43].

На основании данных **иммуногистохимического** исследования мозга при прионных заболеваниях, помимо амилоидных бляшек, PrPSc может откладываться в спонгиозно измененной коре большого мозга в виде гранул, окружающих вакуоли, что, как полагают, соответствует аккумуляции его в синапсах. В коре мозжечка такие отложения PrPSc локализуются в зернистом слое между телами нейронов. Менее значительные гранулярные скопления PrPSc наблюдают по ходу проводящих путей в стволе мозга, в синапсах на поверхности нейронов, иногда интранейронально. При выраженном глиозе в коре большого мозга и базальных ядрах выявлено гранулярное иммуноокрашивание цитоплазмы астроцитов, аналогичное таковому у животных [6, 24, 29, 43].

Лабораторная диагностика прионных заболеваний включает прямые и непрямые методы [16]. Прямыми являются: **электронно-микроскопическое** определение прион-ассоциированных фибрилл в инфицированном материале или отпечатках; иммуноблоттинг с использованием моноклональных антител; метод пептидных зондов, основанный на использовании меченых синтетических пептидов [32, 40].

Непрямые методы включают обзорные методики, с помощью которых в образцах биопсийного или аутопсийного материала определяют глиоз, спонгиоз ткани мозга, накопление в ней амилоидных бляшек; гистохимический метод основан на выявлении с помощью красителей (конго красного, теофлавина Т) скоплений амилоида; биологический метод предусматривает заражение испытуемым материалом лабораторных животных (биопроба), что, однако, связано с длительностью наблюдения, или клеточных культур [26, 44]. Предложена культура клеток N2a, заражение которой испытуемым материалом позволяет в 10 раз быстрее, чем с помощью биопробы, получить результат при сохранении того же уровня чувствительности [6]. Современные методы исследования, особенно иммуногистохимические, позволили выявить более широкий спектр изменений в ЦНС, чем это было до открытия отложений

PrPSc. Эти данные важны при дифференциальной диагностике прионных болезней человека от других нейродегенеративных заболеваний. Оказалось, что спектр иммуоокрашивания, отражающий отложение PrPSc в ткани мозга, характеризуется такой же вариабельностью, как и спектр морфологических изменений, описанных в классических публикациях. Поэтому для установления закономерностей локализации PrPSc при разных прионных болезнях необходимо исследовать разные отделы мозга (кора, базальные ядра, гипоталамус, гиппокамп, ствол мозга, мозжечок) [23, 28].

Проблема лечения прионных болезней не решена, многочисленные попытки применения в клинической практике антибиотиков, ацикловира, стероидов или тиамина при БКЯ оказались неудачными [12, 28, 21]. В настоящее время можно говорить лишь о перспективных препаратах, что дает основание для проведения дальнейших исследований. Успехи в создании новых методов лечения зависят от существующих представлений о свойствах не только PrPSc, но и PrPC, которые позволяют уже сегодня обсуждать некоторые из этих подходов. Одним из перспективных путей лечения представляется предотвращение преобразования PrPC в PrPSc путем стабилизации структуры PrPC связующим активным веществом или изменения действия протеина X, который может функционировать как молекулярный шаперон. Следует отметить, что средства, препятствующие образованию прионов, должны проникать через гематоэнцефалический барьер [39, 40].

Профилактика прионных болезней основана на недопущении употребления инфицированных мясных продуктов или других продуктов убоя. В 2000 г. Главным государственным санитарным врачом РФ утверждено постановление №15 «О мерах по предупреждению распространения болезни Крейтцфельда – Якоба на территории Российской Федерации», предписывающее, в частности, «не допускать закупки мяса и мясных и других продуктов убоя крупного рогатого скота, а также получения их по гуманитарной помощи без предоставления документов, подтверждающих отсутствие в стране-экспортере заболеваний губкообразной энцефалопатии коров». Предписывалось также усилить контроль на местах за продажей мяса и мясных продуктов [2, 7].

Пациентов с БКЯ необходимо госпитализировать в отдельные палаты, чтобы исключить возможный риск заражения других больных. Учитывая особенности трансмиссии и возможность ятрогенного пути инфицирования, это имеет первостепенное значение в нейрохирургии. Необходима разработка новых стандартов стерилизации и обработки нейрохирургических, лабораторных и патологоанатомических инструментов, а также нормативных документов. В Европе осуществляется ряд мероприятий по профилактике прионных инфекций. Наряду с ограничением использования лекарственных средств, приготовленных из тканей коров, прекращено производство гормонов гипофиза животного происхождения, предпочтение отдают генно-инженерным препаратам [12]. В некоторых странах введены ограничения на трансплантацию твердой оболочки головного мозга. Разрабатываются запретительные положения на трансплантацию тканей, переливание крови и назначение препаратов крови от индивидуумов с деменцией [4, 7, 12].

Заражение могут вызвать примерно 100 000 молекул, которые, как правило, образуют большие скопления. Значение агрегации отдельных молекул в ассоциации для вирулентности прионов не изучено. Нельзя исключить, что вирулентными являются и отдельные молекулы прионов. Результаты некоторых экспериментов свидетельствуют, что для реализации эффекта прионов в ткани достаточно лишь временного контакта ее с материалом, содержащим прионы, и нет необходимости, чтобы прионы были навсегда внесены в организм. Этот риск актуален, например, в связи с использованием хирургических инструментов, зараженных прионами. Процесс трансформации «здоровых» прионовых протеинов в прионы может быть иницирован простым контактом непораженных тканей с прионами, фиксированными на хирургическом инструменте [4]. Специалисты предупреждают, что инкубационный период может быть достаточно длительным (от 5–8 мес до 10–15 лет) [26, 35].

Прионы чрезвычайно стойки к обычным **методам дезинфекции**. Ионизирующее, ультрафиолетовое или микроволновое излучение на них практически не действует. Дезинфекционные средства, обычно используемые в медицинской практике, действуют на них лишь очень ограниченно. Надежно их устраняют дезинфицирующие реактивы — сильные окислители, разрушающе действующие на протеины [1, 4, 21]. Другое затруднение представляет стойкость прионов к высокой температуре. Даже при автоклавировании при температуре 134°C в течение 18 мин невозможно достичь полного разрушения прионов, они «выживают» в форме, способной вызвать заражение. Стойкость к высокой температуре еще более увеличивается, если прионы высыхают на поверхности металла или стекла или если образцы перед автоклавированием подвергают действию формальдегида, что составляет особую проблему при работе с эндоскопами [1, 4]. В развитых странах используют одноразовые хирургические инструменты для тонзилэктомии и нейрохирургических манипуляций. В будущем напрашивается альтернативное решение: создание новых инструментов с учетом повышенных требований к очистке и обеззараживанию. Одноразовое использование инструментов, в соответствии с принципами ВОЗ, требуется при стоматологическом обслуживании пациентов с диагностированным прионным заболеванием или при предположении о его наличии.

Намного более сложным решением этой проблемы является лечение пациентов группы риска. Это пациенты, которым произведены операции с использованием потенциально зараженной твердой оболочки головного мозга, или пациенты из семей с наследственной формой БКЯ. ВОЗ в такой ситуации не требует проведения специальных мер. Британский Консультационный научный комитет по губчатой энцефалопатии в своем решении (1998) счел возможным ограничиться более тщательной очисткой и обеззараживанием инструментов в сочетании с более длительным автоклавированием [4, 5, 12]. Поскольку передача прионных болезней от человека человеку предполагает прямую инокуляцию инфекционного материала, при работе с больными во время проведения инвазивных процедур, а также контакте с их биологическими жидкостями необходимо придержи-

живаться правил, предусмотренных при работе с больными со СПИДом. При патологоанатомическом исследовании применяют те же правила [4, 5]. Инструменты, использованные у пациентов с БКЯ во время нейрохирургических манипуляций, а также, по-видимому, при выполнении биопсии из миндалин, и внутримозговые электроды должны быть одноразовыми и уничтожаться после применения [4].

Весьма серьезной методической стороной морфологической диагностики, будь то биопсия или аутопсия, является возможность заражения исследуемым материалом: при БКЯ опасность представляют все внутренние органы, биологические жидкости пациентов и особенно ткани головного и спинного мозга. Возникновение ятрогенной БКЯ после пересадки твердой оболочки головного мозга и роговицы свидетельствует о том, что прионы накапливаются не только в самой ткани мозга, но и в соединительнотканых образованиях. Имеются единичные экспериментальные исследования, в которых установлено, что на определенном этапе течения БКЯ прионы могут содержаться и в крови больных [4, 12]. Следует отметить, что ткани умерших от прионных болезней заразны даже после их фиксации раствором формалина. В связи с этим работа с материалом требует особых мер предосторожности, ее должен выполнять специально обученный персонал [4].

Учитывая опасность заражения БКЯ во время хирургического вмешательства и патологоанатомического исследования, важно знать, что опасность заражения в значительной степени зависит от пути проникновения инфекции. Экспериментально доказано, что наивысшей она является при интрацеребральном введении инфекционного агента, значительно меньше — при интраперитонеальном заражении, еще ниже — при введении внутрь. При проведении хирургических манипуляций и вскрытия необходимо предпринимать меры предосторожности при работе с тканями, жидкостями и другими материалами от пациентов, у которых предполагают БКЯ, во избежание возможного заражения. Опасность представляют все фрагменты тканей, взятые для исследования, инструменты, которыми выполняли нейрохирургические и морфологические манипуляции. Кремация трупов наиболее обоснована [4].

Рекомендуется проведение **генетического анализа прионного гена** у лиц, в семьях которых были зарегистрированы больные. Более сложной является проблема пренатальной ДНК-диагностики и связанное с этим решение вопроса о прерывании беременности при наличии у одного из родителей наследственной прионной болезни, поскольку неполная пенетрантность некоторых из этих заболеваний делает сомнительным прогнозирование будущего для носителя мутантного гена [20, 35, 39].

Необходима разработка концепции универсальных мер пресечения распространения в Украине как ятрогенных, так и других форм этих опасных инфекций [4].

Список литературы

1. Chemical inactivators as sterilization agents for bovine collagen materials / C.J. Doillon, R. Drouin, M.F. Cote [et al.] // *J. Biomed. Mater. Res.* — 1997. — V.37, N2. — P.212–221.
2. Национальные стандарты России 2010 (По состоянию на 1 января 2010 г.): изд. офиц.— М.: Стандартинформ, 2010. — 484 с.
3. Покровский В.И. Молекулярные основы прионных болезней / В.И. Покровский, О.И. Киселев // *Вестн. РАМН.* — 1998. — №10. — С.45–55.
4. Шлопов В.Г. Прионові інфекції: заходи безпеки при роботі з біопсійним та секційним матеріалом / В.Г. Шлопов, Л.І. Волос // *Укр. журн. патології.* — 2000. — №2. — С.41–46.
5. Воробьев А.А. Прионовые инфекции: важнейшие медицинские и ветеринарные аспекты / А.А. Воробьев, В.В. Макаров // *Вестн. РАМН.* — 1997. — №6. — С.3–11.
6. Методы диагностики прионных заболеваний / В.Б. Григорьев, А.Н. Покидышев, С.Л. Кальнов, С.М. Клименко // *Вопр. вирусологии.* — 2009. — №5. — С.4–9.
7. Зуев В.А. Прионы — проблема, которая грозит стать бедствием для человечества / В.А. Зуев // *Рос. мед. вестн.* — 1998. — №1. — С.44–46.
8. Зуев В.А. Прионные болезни человека и животных: руководство для врачей / В.А. Зуев, И.А. Завалишин, В.М. Ройхель. — М., 1999. — 192 с.
9. Bovine spongiform encephalopathy and variant Creutzfeldt-Jacob disease: Background, evolution, and current concerns / P. Brown, R.G. Will, R. Bradley [et al.] // *Emerg. Inf. Dis.* — 2001. — V.7. — P.6–16.
10. Palmer M. Prion diseases / M. Palmer, J. Collinge eds. J. Colling, M. Palmer. — Oxford. — 1997. — P.1–17.
11. Казаков В.М. Конформаційна патологія головного мозку / В.М. Казаков, В.Г. Шлопов. — Донецьк: Каштан, 2005. — 368 с.
12. Покровский В.И. Инфекционные болезни и эпидемиология / В.И. Покровский. — М.: ГэотарМед, 2007. — 816 с.
13. Prusiner S.B. Neurodegenerative Diseases / S.B. Prusiner; eds. G. Gollsb J.M. Stutzmann. — N.Y.: Acad. Press. — 1996. — P.23–80.
14. Prusiner S. Prions / S. Prusiner // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* — 1998. — V.95. — P.13363–13383.
15. Carrell R.W. Conformational disease / R.W. Carrell, D.A. Lomas // *Lancet.* — 1997. — V.350. — P.134–138.
16. Григорьев В.Б. Прионные инфекции // *Медицинская вирусология: руководство; под ред. Д.К. Львова.* — М., 2008. — 245 с.
17. Покровский В.И. Прионы и прионные болезни / В.И. Покровский, О.И. Киселев, Б.Л. Черкасский. — М.: РАМН, 2004. — 384 с.
18. Huang Z. Prions Prions Prions / Z. Huang, S.B. Prusiner, F.E. Cohen; ed. S.B. Prusiner. — Berlin, 1998. — P.49–63.
19. Watts J.C. The prion protein family: Diversity, rivalry, and dysfunction / J.C. Watts, D. Westway // *Biochim. Biophys. Acta.* — 2007. — V.1772, N6. — P.654–672.
20. Preclinical vCDJ after blood transfusion in PRNP codon 129 heterozygous patient / A.H. Peden, M.W. Head, D.L. Ritchie [et al.] // *Lancet.* — 2004. — V.364, N9433. — P.527–529.
21. Brown P. A therapeutic panorama of the spongiform encephalopathies / P. Brown // *Antivir. Chem. Chemother.* — 1990. — N1. — P.75–83.
22. The same prion strain causes vCJD and BSE / A.F. Hill, M. Desbruslais, S. Joiner [et al.] // *Nature.* — 2002. — V.389. — P.448–450.
23. Патоморфология головного мозга при прионных болезнях / В.В. Погодина, Т.С. Гулевская, В.Я. Карамышева [и др.]. — М.: Медицина, 2003. — 208 с.
24. Detection of ultra-low level of pathologic prion protein in scrapie infected hamster brain homogenates using real-time immuno-PCR / J.M. Barletta, D.C. Edelman, W.E. Highsmith, N.T. Conslatine // *J. Virol. Meth.* — 2005. — V.127, N2. — P.154–164.
25. Sanchez-Valle R. Cerebrospinal fluid biomarkers in the diagnosis of Creutzfeldt – Jacob disease / R. Sanchez-Valle, A. Saiz, F. Graus // *Neurosci. Lett.* — 2002. — V.320. — P.69–72.
26. Baron T. Mouse models of prion disease transmission / T. Baron // *Trends Mol. Med.* — 2002. — V.8, N10. — P.495–500.
27. Progress and limits of TSE diagnostic tools / J. Grassi, S.

- Maillet, S. Simon, N. Morel // *Vet. Res.* — 2008. — V.39. — P.1–39.
28. Шлопов В.Г. Пріонові інфекції: підсумки та перспектива дослідження / В.Г. Шлопов, Л.І. Волос // *Інф. хвороби.* — 1999. — №2. — С.5–9.
29. Aksamit A.J. Quantitation of 14–3–3 and neuron — specific enolase proteins in CFS in Creutzfeldt-Jacob disease / A.J. Aksamit, C.M. Preissner, H.A. Homburger // *Neurology.* — 2001. — V.57, N4. — P.728–730.
30. Detection and discrimination of PrPsc by multi-spectral ultraviolet fluorescence / R. Rubenstein, P.C. Gray, C.M. Wehlburg [et al.] // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* — 1998. — V.246, N1. — P.100–106.
31. Шлопов В.Г. Порівняльний морфологічний аналіз різних клінічних форм пріонових енцефалопатій / В.Г. Шлопов, Л.І. Волос // *Інф. хвороби.* — 1999. — №2. — С.27–34.
32. Submicroscopic immunodetection of PrP in the brain of a patient with of new-variant of Creutzfeldt – Jakob disease / V.B. Grigoriev, F. Escaig-Haye, N. Streichenberger [et al.] // *Neurosci. Lett.* — 1999. — V.263. — P.59–63.
33. Rapid presymptomatic detection of PrPsc via conformationally responsive palindromic PrP peptides / A. Grosset, K. Moskvotz, C. Nelsen [et al.] // *Peptides.* — 2005. — V.26, N11. — P.2193–2200.
34. Prion detection by an amyloid seeding assay / D.W. Colby, Q. Zhang, S. Wang [et al.] // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* — 2007. — V.104, N52. — P.20914–20919.
35. Identification of the PRNP gene mutation in Jakob's original Creutzfeldt – Jakob disease family / P. Brown, L. Cervenakova, J.W. Boellaard [et al.] // *Lancet.* — 1994. — V.344. — P.130–131.
36. Спільні риси пріонової енцефалопатії та герпетичного енцефаліту / Ю.А. Барштейн, В.В. Кононенко // 36. праця наук.-практ. конф. з міжнар. участю, присвяч. 100-річчю заснування клініки неврології Головного військового клінічного госпіталю «Сучасні проблеми клінічної і військової неврології». — К., 1999. — С.42–44.
37. Molecular analysis of prion strain variation and aetiology new variant CJD / J. Colling, K.C. Sidle, J. Meads [et al.] // *Nature.* — 1996. — V.383. — P.685–690.
38. Collinge J. Prion diseases / J. Collinge, M. Palmer; eds. J. Collinge, M.S. Palmer. — Oxford, 1997. — P.18–55.
39. Clinical and molecular genetic study of a large German kindred with Gerstmann – Straussler – Scheinker syndrome / P. Brown, L.G. Goldfarb, W.T. Brown [et al.] // *Neurology.* — 1991. — V.41. — P.375–359.
40. Cellular prion protein is expressed on endothelial cells and is released during apoptosis on membrane microparticles found in human plasma / J. Simdk, K. Holada, F. D'Agnillo [et al.] // *Transfusion.* — 2002. — V.42. — P.334–342.
41. Шлопов В.Г. Патологічна анатомія пріон-асоційованих спонгіформних енцефалопатій дитячого віку / В.Г. Шлопов, Л.І. Волос // *Запороз. мед. журн.* — 2002. — №3. — С.16–17.
42. Creminon C. Characterisation of anti-PrP antibodies and measurement of PrP using ELISA techniques. Methods and tools in biosciences and medicine-techniques in prion research / C. Creminon, J. Grassi; eds. S. Lehmann, J. Grassi. — Berlin, 2004. — P.117–131.
43. Monoclonal antibody against a peptide of human prion protein discriminated between Creutzfeldt – Jakob disease and normal brain tissue / S.V. Curin, M. Bresjanac, M. Popovic [et al.] // *J. Biol. Chem.* — 2004. — V.279. — P.3694–3698.
44. Recent developments in prion disease research: Tools and in vitro cell culture models / A. Sakudo, I. Nakamura, K. Ikuta, T. Onodera // *J. Vet. Med. Sci.* — 2007. — V.69, N4. — P.329–337.

Одержано 02.03.11

Педаченко Є.Г., Малишева Т.А.

Пріони в нейрохірургії

Інститут нейрохірургії ім. акад. А.П. Ромоданова НАМН України, м. Київ

Огляд присвячений новому класу інфекційних агентів — пріонам та їх ролі у хворобах людини з переважним ураженням ЦНС. Наведені етіологічні, патогенетичні й молекулярно-генетичні особливості цієї патології. Показана роль інтрацеребрального шляху потрапляння патогенного чинника та його значення. Ці дані важливі для диференційної діагностики пріонних хвороб людини й розробки системи їх профілактики та безпеки.

Ключові слова: пріони, трансмісивна губчаста енцефалопатія, конформаційна патологія, профілактика, безпека.

Педаченко Е.Г., Малышева Т.А.

Прионы в нейрохирургии

Институт нейрохирургии им. акад. А.П. Ромоданова НАМН Украины, г. Киев

Обзор посвящен новому классу инфекционных агентов — прионам и их роли в болезнях человека с преимущественным поражением ЦНС. Представлены этиологические, патогенетические и молекулярно-генетические особенности этой патологии. Показана роль интрацеребрального пути поступления инфекционного агента и его значение. Эти данные важны в дифференциальной диагностике прионных болезней человека и разработке системы их профилактики и безопасности.

Ключевые слова: прионы, трансмиссивная губчатая энцефалопатия, конформационная патология, безопасность, профилактика.

Pedachenko E.G., Malysheva T.A.

Prions in neurosurgery

Institute of Neurosurgery named after acad. A.P. Romodanov
of National Academy of Medical Sciences of Ukraine, Kiev

The review is devoted to new class of infectious agents — prions and their role in human illnesses mainly with CNS damage. Etiological, pathogenical and molecular-genetic features of this kind of pathology are given. The role of intracerebral way of infectious agent reception is shown. These data are important for differential diagnostics of human prion illnesses and for system development of their prophylaxis and safety.

Key words: prions, transmission spongiform encephalopathy, conformation pathology, safety, prophylaxis.