УДК 579.61

ЭКОЛОГИЯ И ЭПИДЕМИОЛОГИЯ ПРИОННОЙ ИНФЕКЦИИ. НЕКОТОРЫЕ АСПЕКТЫ ПРОФИЛАКТИКИ

Шишкин А. А.

ФГБОУ ВО "Пермский государственный медицинский университет имени академика Е. А. Вагнера" Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Пермь, Россия, e-mail cool.alex919@yandex.ru

Трансмиссивные губчатые энцефалопатии (ТГЭ) или прионные заболевания – Нейродегенеративные инфекционные болезни животных и человека, вызываемые специфическим инфекционным агентом – патологическим прионным белком или прионом. Свойствами этих инфекций являются длительный инкубационный период, стадия быстрой прогрессии, вариативные клинические проявления, возможность передачи на особей других биологических видов и 100% летальность восприимчивых организмов. Специфическая природа, а так же связи «прион – окружающая среда» являются основой персистенции и распространения этого инфекционного агента в объектах окружающей среды. Именно исследование этих связей, а так же специфической природы возбудителя, способно пролить свет на возможности профилактики трансмиссивных губчатых энцефалопатий человека и животных. В данной работе рассматриваются некоторые аспекты экологии и эпидемиологии прионной инфекции, её молекулярной природы, а так же возможности профилактики прионных инфекций человека и животных. Данные аспекты проблемы рассматриваются на примере таких видовых прионных заболеваний, как: ХИБ – хроническая изнуряющая болезнь оленей и лосей, скрепи – трансмиссивная губчатая энцефалопатия овец и коз, БГЭ – бычья губчатая энцефалопатия, БКЯ – болезнь Крецфельдта-Якоба (трансмиссивная губчатая энцефалопатия человека).

Ключевые слова: структура приона, прионная инфекция, окружающая среда, живой организм.

ECOLOGY AND EPIDEMIOLOGY OF PRION INFECTION. SOME ASPECTS OF PREVENTION

Shishkin A. A.

Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education "Academician Ye.A. Vagner Perm State Medical University" of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation, Perm, Russia, e-mail cool.alex919@yandex.ru

Transmissible spongiform encephalopathies (TGE) or prion diseases - are neurodegenerative infectious diseases of animals and humans caused by a specific infectious agent - pathological prion protein or prion. Stages of rapid progression, variable clinical manifestations, the possibility of transferring to other biological species and 100% lethality of susceptible organisms. Their specific nature, as well as the prion-environment links, are the basis for persistence and spread of this infectious agent in the environment. It is the study of these links, as well as the specific nature of the pathogen that can shed light on the possibilities of preventing transmissible spongiform encephalopathies in humans and animals. In this paper some aspects of the ecology and epidemiology of prion infection, its molecular nature, as well as the possibilities of preventing prion infections of humans and animals are considered. These aspects of the problem are studied with examples of such specific prion diseases as: CWD - chronic debilitating disease of deer and moose, scrapie - transmissible spongiform encephalopathy of sheep and goats, BSE - bovine spongiform encephalopathy, CJD - disease of Kretzfeldt-Jakob (transmissible spongiform encephalopathy).

Keywords: prion structure, prion infection, environment, organism.

Актуальность. В настоящее время проблема прионных инфекций стоит остро перед мировым сообществом. Это диктуется беспрецедентной специфичностью самого инфекционного агента и его потенциальными возможностями сохранения в окружающей среде. Печальный опыт наблюдения за быстрорастущей эпизоотией хронической изнуряющей болезни оленей и лосей (ХИБ) в Канаде и США сегодня, а так же за масштабами крупной эпизоотии бычьей губчатой энцефалопатии (БГЭ) в Великобритании 1986 года, ассоциированной с человеческими жертвами, показывает важность проблемы не только в контексте охраны природных и сельскохозяйственных биоценозов, но и защиты человека от прионной инфекции.

Цель этой работы – провести анализ литературных данных о природе возбудителя, факторах передачи, источниках прионной инфекции, а так же о профилактических мероприятиях, направленных на борьбу с ней.

Материалы и методы. Эмпирическую базу работы составил анализ специальных литературных источников по рассматриваемой теме, представленных в информационных электронных базах Pubmed, Scopus за период с 2005 по 2018 год.

Некоторые аспекты биологии прионов. Структура как основа устойчивости прионов.

Прежде чем речь пойдёт непосредственно об инфекционном агенте стоит сказать несколько слов о его природе. Заражение прионной инфекцией организма знаменуется изменением конформации нормального прионного белка (далее PrP^c от англ. “cell” - клетка). PrP^c - сиалогликопротеид, чья белковая часть кодируется PRNP-геном, у человека находящимся на коротком плече 20-ой хромосомы [7]. Сам же PRNP является высококонсервативным и экспрессируется в организмах всех млекопитающих, у некоторых птиц и рыб. Сиалогликопротеид PrP^c состоит из нескольких структурных единиц. Белковая часть включает около 200 аминокислот и содержит в своём

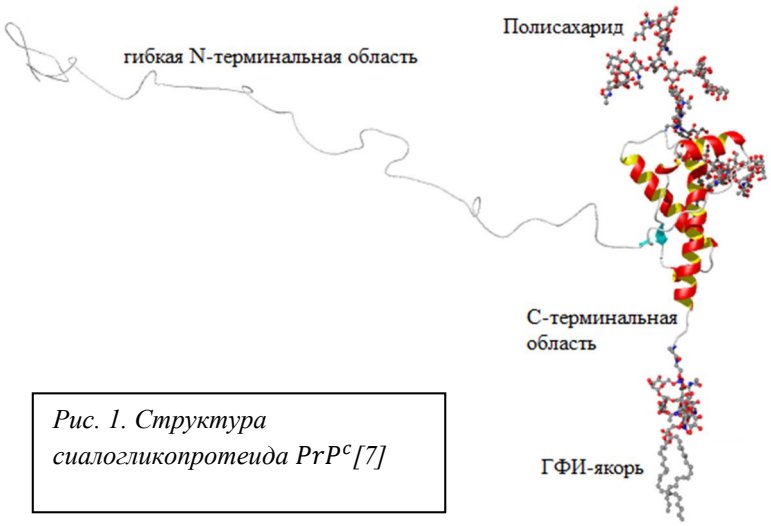

Рис. 1. Структура сиалогликопротеида PrP^c [7]

составе 40% α-структур и 3% β-структур, может подвергаться неполному протеолизу в нескольких точках. К С-концу присоединён гликозил-фосфатидил-инозитоловый якорь (ГФИ-якорь) обеспечивающий прикрепление к мембранам. Возможно присоединение к молекуле PrP^c остатков сахаров в положениях 181 и 197 [7].

Предполагается, участие PrP^c в таких клеточных процессах, как дифференцировка и сигнализация, нейритогенез, адгезия [19]. Приведём некоторые его функции в клетке.

N-конец PrP^c связывается с Gpr126-рецептором клеток Шванна и вызывает промиелинирующий эффект через активацию аденилатциклазы. При нокауте PRNP у мышей возникает ускоренная возрастная демиелинизация периферических нервных волокон, хотя внутриутробная начальная миелинизация у таких мышей проходит нормально [19].

При снижении концентрации PrP^c снижаются токи Ca^{2+} через потенциалзависимые Ca^{2+}-каналы, что приводит к буферизации последнего в клетке [19].

PrP^cингибирует NMDA-рецепторы (глутаматные), что ведёт к снижению воздействия глутамата на данные рецепторы и снижению ионных токов через каналы, ассоциированные с этими рецепторами. При отсутствии PrP^c наблюдается депрессия и ноцицепция [20].

Было продемонстрировано влияние PrP^c на процессы дифференцировки, происходящие в эмбриогенезе. Снижение экспрессии PRNP задерживало дифференцировку клеток предшественников в клетки Шванна, астроциты, нейроны [20].

У мышей с нокаутом PRNP снизилось долгосрочное потенциирование в гиппокампе – форма синаптической пластичности, участвующей в формировании памяти. Таким образом произошло снижение способности к пространственному обучению и памяти [7].

Растворённые формы PrP^c способны ускорять рост нейритов. Угол навигации роста при этом коррелирует с координатами максимальной концентрации растворённого PrP^c [7].

При отсутствии PrP^c нейроны гиппокампа более восприимчивы к BAX-ассоциированному апоптозу, что указывает на нейропротекторную функцию [25].

Представленные данные не исчерпывают всей роли PrP^c в клетке, к тому же, неизвестны механизмы реализации большинства его функций. Вышеприведённая информация необходима для понимания изменений гомеостаза клетки при снижении концентрации нормального прионного белка, в частности, при его трансформации в аномальный.

Появление патологического (аномального) прионного белка знаменует заражение клетки прионом (далее PrP^{sc} от англ. “scrapie” – «скрепи» – ТГЭ овец)[1]. Возможна реализация нескольких путей появления прионного агента в организме хозяина: при некоторых мутации в PRNP-гене снижается стабильность структуры PrP^{c}, что ведёт к спонтанной трансформации PrP^{c} в PrP^{sc}; при спонтанном изменение конформации PrP^{c}, детерминанты которого не выяснены, PrP^{c} способен преобразоваться в PrP^{sc} у особей без мутации в PRNP; реализация трансформации непосредственно аномальным прионным белком, то есть, PrP^{sc} выступает в качестве матрицы для перехода PrP^{c} в PrP^{sc}. Последний путь интересен возможностью передачи прионного агента между организмами и будет рассмотрен ниже. Стоит заметить, что в первых двух случаях так же реализуется трансформирующая способность PrP^{sc}, при условиях его появления непосредственно в клетке.

После инфицирования организма хозяина, репликация PrP^{sc} является ключевым моментом передачи прионного агента новому хозяину. PrP^{sc} выступает в качестве матрицы, трансформирующей PrP^{c} в PrP^{sc}, последний включается в состав амилоидной фибриллы, в виде которой существует полимер - PrP^{sc} [16].

Данные рентгенструктурных исследований указывают на возможность укладки в амилоидную фибриллу новых мономеров PrP^{sc} в виде четырёхступенчатого соленоида [16]. Согласно этой теории, ядро (90 – 230 аминокислотных последовательностей) PrP^{sc} составляет «прионный домен» и обладает трансформирующей активностью в отношении PrP^{c}. В этой области содержатся β-структуры, связывающиеся водородными связями с поверхностными структурами PrP^{c} и распространяющие в последних β-структурную организацию белковой цепи на всём её протяжении. Это

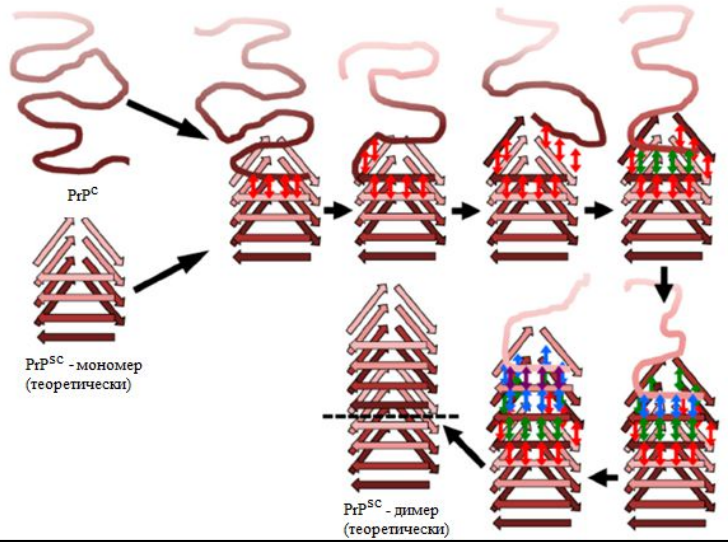

Рис. 2. Теоретическое представление процесса трансформации.[16]

[1] Другие прионные инфекционные агенты, ассоциированные с видовыми прионными заболеваниями, такими как: скрепи (PrP^{sc} – агент), ХИБ (PrP^{CWD}-агент), БКЯ (PrP^{CJD}), БГЭ (PrP^{BSE}-агент) будут указаны ниже. В данном разделе, для стандартизации, прионный агент будет обозначен как «скрепи-ассоциированный» - PrP^{sc}.

изменяет соотношение организаций полипептидной цепи: соотношение 40% α-структур и 3% β-структур белка PrP^c трансформируется в соотношение 30% α-структур и 42% β-структур у белка PrP^{sc} [16]. В итоге, сущность репликации заключается в увеличении объёма β-структур атакуемой PrP^c и трансформации последней в PrP^{sc}. Благодаря этому укладка белковой молекулы становится более компактной, на что указывает резистентность PrP^{sc} к протеазам (в частности к протеазе К) и другим агрессивным воздействиям. В результате, компактная укладка становится основой устойчивости прионных агентов в организме хозяина и окружающей среде [6]. После появления PrP^{sc} в клетке (например, нейроне) реализуется его токсическое влияние. Оно складывается из снижения концентрации PrP^c в клетке, что приводит к недостаточности его функций, и из непосредственного токсического влияния PrP^{sc} на структуры клетки.

Интересным не только с теоретической, но и с практической точки зрения является вопрос о штаммах прионных агентов. Как было сказано выше, PrP^c является высококонсервативным белком, однако у разных биологических видов существуют вариации полипептидной цепи PrP^c, а значит и его конформации (третичной структуры). Штаммы PrP^{sc} имеют отличия в таких свойствах, как: устойчивость к воздействию внутри/внеклеточных агрессивных агентов, спектр потенций к трансформации PrP^c другой структуры, скорость трансформации (коррелирует со временем инкубационного периода). Именно здесь встаёт вопрос о феномене межвидового барьера, накладывающем определённые ограничения к распространению прионной инфекции между видами/генотипами и феномене генетической устойчивости организмов к прионным агентам разных штаммов. Его основой является структура вступивших во взаимодействие PrP^c и PrP^{sc}, а так же различие между этими структурами [6]. Показано, что штаммы[2] PrP^c и PrP^{sc} взаимодействуют различными поверхностными участками-эпитопами друг с другом. Молекулярное взаимодействие эпитопов во время трансформации интересно для понимания процессов, происходящих во время репликации приона.

Например, рассматривался участок полипептидной цепи с 165 по 175 аминокислоту, названный α2-β2 [32]. Как было указано выше, разные полипептидные последовательности PrP^c/PrP^{sc} будут иметь соответствующие третичные структуры.

[2] Под данным взаимодействием имеется ввиду взаимодействие штамма PrP^{sc}, имеющего индивидуальную полипептидную последовательность/ третичную структуру и PrP^c, так же имеющего индивидуальные вышеперечисленные свойства.

Исследователи выращивали трансгенных мышей, у которых участок гена PRNP, кодирующий α2-β2 заменён на α2-β2 других биологических видов (человек и лось). Первоначальное изменение α2-β2 по типу α2-β2 лося (изменение аминокислот в положениях 170 и 174) давала трансгенным мышам восприимчивость к PrP^{CWD}-агенту. Однако, другая замена в положении 167 по типу α2-β2 лося снизила восприимчивость у мышей. Аналогичные результаты показало исследование замены на α2-β2 человеческого PRNP. Такие мыши были маловосприимчивы к PrP^{CWD}-агенту, но после замены аминокислот в 168 и 170 положениях, по типу α2-β2 лося, восприимчивость повышалась. Замена в 174 положении аминокислоты по типу PRNP лося снижала восприимчивость. Этот факт указывает на поддержку аспарагином, присутствующим в 174 положении у человеческого PRNP, восприимчивости к ХИБ [32].

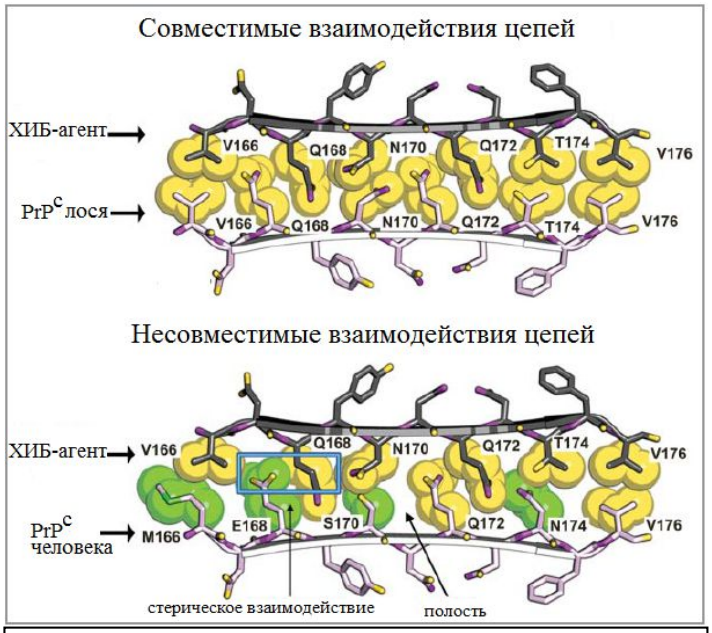

Рис. 3. Предположительное межмолекулярное взаимодействие в комплексах PrP^{sc}- PrP^{c} при сравнении взаимодействий между различными цепями белка [32].

Приведённые данные позволяют сделать несколько выводов: гомология между структурами PrP^{c} и PrP^{sc} повышает эффективность репликации и соответственно скорость последней, однако полная гомология между PrP^{c} и PrP^{sc} не всегда приводит к максимально эффективной репликации.

Другие виды, например хорёк не имеют в своём составе α2-β2 (хотя они высоко восприимчивы к ХИБ), что указывает на вовлеченность в репликацию других эпитопов [32].

Таким образом, следует отметить фрагментарность наших знаний о молекулярных основах таких важных вопросов прионной проблемы, как основы репликации и устойчивости прионных агентов в организме и окружающей среде.

Некоторые эпидемиологические аспекты прионной инфекции

Резервуары

Понимание связей «прионный агент – окружающая среда» способно дать ответы на вопрос о персистенции рассматриваемого инфекционного агента в природе. Начать повествование

следует с рассмотрения роли резервуаров, вносящих ощутимый вклад в сохранение прионного агента в биогеоценозах.

Как и у всех инфекционных заболеваний, резервуаром ТГЭ являются восприимчивые организмы, в которых происходит репликация инфекционного агента PrP^{sc}. Контаминация инфекционным прионом знаменуется попаданием PrP^{sc} в восприимчивый организм. Реализуется несколько механизмов и путей передачи инфекции.

Алиментарный механизм передачи основывается на контакте инфекционного агента со слизистыми оболочками ЖКТ (желудочно-кишечного тракта) [1]. PrP^{sc} попадает в организм посредством пищи, воды, контакта слизистой оболочки полости рта с объектами окружающей среды. При этом инвазия самого инфекционного агента основывается на захвате его М-клетками (в виде антигена) преимущественно в пейровых бляшках. Далее происходит репликация и диссеминация приона по организму [24]. При сопутствующих бактериальных заболеваниях, сопровождающихся повышеннием плотности М-клеток в слизистой оболочке, увеличивается захват (инвазия) прионных агентов [11].

Аэрогенный механизм реализуется за счёт переноса прионного агента на пылевых [18] и аэрозольных [17] частицах. В последующем прионный агент оседает на слизистых оболочках дыхательного тракта, контаминирует обонятельные нервы и с помощью дрейфа в плоскости мембраны нейритов распространяется по нервным путям и там же реплицируется. Отмечается способность оседать на роговице и реплицироваться [18].

Некоторые авторы выделяют контактный механизм передачи. При этом следует уточнить, что прион способен попадать в организм через микротрещины на поверхности слизистых оболочек и поверхности кожи. Дальнейшее распространение на центральную нервную систему (ЦНС), как предполагается, происходит через периферические нервы [4].

В организме прионный агент оседает и реплицируется и в половых органах, поэтому не стоит исключать из возможных путей передачи половой, как вариант контактного механизма [3]. Доказан гемоконтактный механизм, в частности, трансплацентарный путь передачи прионной инфекции [3].

После инвазии происходят диссеминация и репликация прионного агента. Реализуются сложные взаимодействия «макроорганизм-прионный агент», требующие описания в отдельной работе. Поэтому мы переходим к путям выделения прионного агента в окружающую среду, то есть, к реализации роли резервуаров в распространении прионной инфекции.

Большинство авторов описывают возможность выделения прионного агента в окружающую среду с фекалиями. В частности, демонстрировалась способность благородного оленя выделять PrP^{CWD}-агент в окружающую среду с фекалиями задолго до проявления клинических признаков. При этом выделение происходит непрерывно и продолжается после появления симптоматики прионного заболевания вплоть до самой смерти животного [14]. Стоит обратить внимание на тот факт, что после смерти организма его останки долгое время сохраняют прионный агент и являются вектором распространения последнего [33].

Прионный агент способен выделяться с мочой. Хотя сначала считалось, что выделение приона с мочой происходит только при воспалительных заболеваниях почек [15], когда нарушается фильтрационный барьер. Теперь говорится о постоянном выделении прионного агента посредством этого механизма [22]. Выделение прионного агента происходит со слюной [31].

Стоит обратить внимание на недавние исследования, отмечающие присутствие приона в образцах кожных покровов у больных болезнью Крецфельдта-Якоба (БКЯ) [10]. Можно предположить, что прионный агент способен либо выделяться на поверхность кожи, либо отделяться вместе с ороговевшими чешуйками эпителия, а далее входить в состав пылевых частиц. Такой механизм способен обеспечить выделение прионного агента в окружающую среду и дальнейший транспорт последнего на пылевых частицах с возможностью аэрогенной инвазии (контаминации) восприимчивых организмов [18].

Предложенная картина персистенции прионной инфекции в окружающей среде указывает на богатый перечень, как механизмов инвазии, так и механизмов выделения, создавая предпосылки для укоренения прионной инфекции на местности и последующего распространения последней на прилежащие регионы.

Факторы передачи

Чрезвычайная устойчивость прионного агента в окружающей среде позволяет последнему длительное время сохраняться на объектах окружающей среды, в последующем контаминируя восприимчивый организм. Этому способствуют факторы неживой природы, участвующие в сохранении и распространении прионной инфекции.

Водные среды исследовались на возможность сохранения и передачи прионного агента. Демонстрировалась возможность прионного агента персистировать в водных средах 6 лет со

снижением инфективности, в частности снижение инфекционного титра PrP^{BSE}-агента в сточных водах в 800 раз в сравнении с снижением в забуференном фосфатом физиологическом растворе (ФБ) в 30 раз и PrP^{sc}-агента в ФБ в 400 раз. Однако даже после 8-ми лет инкубации, когда инфекционная активность PrP^{BSE}-агента заметно падала в образцах, они всё равно заражали 100% подопытных животных, хотя и с удлинением периода инкубации. Напрашивается несколько выводов. Прионный агент эффективно сохраняется в водных средах. Устойчивость в водных средах зависит от структуры прионного агента – от штамма. В водных средах действуют факторы, способствующие прионной деградации: физические влияния и химические вещества, микробные сообщества. Становится актуальным вопрос об эффективности водных очистительных сооружений в отношении прионных агентов [5].

Воздух является фактором передачи прионного агента. Ранее были проведены исследования, анализирующие распространённость PrP^{sc}-агента в пыли фермы, где 12 месяцев не содержались животные. В работе были сделаны следующие выводы. Установлено, что прионный агент способен распространяться в составе пылевых частиц на достаточно большие расстояния (30 метров). Концентрация прионного агента снижается от центра места распространения к периферии [18].

Отдельным вопросом стоит передача прионной инфекции посредством почвы – сложной многокомпонентной системы, многогранно взаимодействующей с прионным агентом [9]. В частности, отмечалась способность почв адсорбировать на частицах глины (смектитовый компонент) PrP^{CWD}-агент. Количество этого компонента коррелировало с количеством связанного PrP^{CWD}-агента. Другие исследования выявили более сложные взаимодействия «почва – прионный агент», а именно возможность существования PrP^{CWD}-агента в виде связанной с компонентами почвы и несвязанной форме. Баланс между ними обеспечивал постоянное присутствие несвязанного PrP^{CWD}-агента, участвующего в заражении, на поверхности частиц почвы, которые являлись центрами связывания последнего. В дополнение, были указаны несколько факторов, влияющие на адсорбцию PrP^{CWD}-агента на поверхности частиц почвы: водородный показатель (pH), концентрация различных ионов, компоненты почвы (гуминовые кислоты, частички кварца, другие глины, органические вещества и т.д.) [8]. Эффекты кислотности связаны с изменением свойств связывания прионных агентов. PrP^{CWD}-агент имеет изоэлектрическую точку при pH 6,6 (точки других прионных агентов находятся в диапазоне 4.6 – 7.9). Если водородный показатель почвы находится в «кислой области» (относительно показателя изоэлектрической точки), то

PrP^{CWD}-агент будет иметь положительный заряд и связываться с отрицательными зарядами глинистого компонента и органических веществ. Если отрицательный, то адсорбция прионного агента снизится [30]. Здесь проявляется эффект модификации сайтов связывания почвы и прионного агента, что сказывается на его персистенции. Конечно же, указанные взаимодействия «почва-прионный агент» не исчерпывают все возможные варианты взаимодействий между этими объектами.

Некоторые элементы среды так же могут являться факторами передачи прионной инфекции. Естественные (древесина, горные породы) и искусственные (нержавеющая сталь, полипропилен, алюминий, стекло, цемент) материалы адсорбируют и сохраняют на своих поверхностях PrP^{CWD}-агент. Последний, после десорбции способен инфицировать восприимчивые организмы. Однако другие материалы (латунь, сплав меди и цинка) в меньшей степени сорбируют на своих поверхностях PrP^{CWD}-агент [28]. В целом химические основы адсорбции прионных агентов на поверхности различных материалов и её эпидемиологическое значение на данный момент не ясны.

Биологические факторы распространения прионной инфекции

Участие небиологических факторов в распространении прионной инфекции не вызывает сомнения, как и участие в этом процессе резервуаров. Рассматривая компоненты биогеоценозов, опосредующие персистенцию инфекционного агента, стоит обратить внимание на такие факторы, способствующие диссеминации приона, как растения и невосприимчивые к прионному агенту животные.

Исследование взаимодействия PrP^{sc}-агента с растениями (пшеницей) показало не столько возможность адсорбции PrP^{sc}-агента на поверхностях растения, таких как листья и сохранение его в течение 49 дней, сколько способность растения поглощать PrP^{sc}-агент из почвы и транспортировать его в свои наземные части, хотя и в малых, но инфекционно эффективных количествах. Дальнейшее поедание таких растений травоядными восприимчивыми организмами способствовало алиментарному заражению последних прионной инфекцией [29].

Животные, невосприимчивые к контаминирующему их штамму прионного агента и не поддерживающие репликацию последнего в своём организме, однако способны участвовать в распространении прионной инфекции. Данный феномен прослеживается на примере семейства хищников *Canidae* (псовые). Основой устойчивости этих животных к PrP^{CWD}-

агенту является специфическая структура их PrP^c, предположительно, наличие в 163 положении полипептидной цепи аспарагиновой/ глутаминой кислоты. Считается, что данный феномен устойчивости к прионной инфекции возник в результате эволюции, поскольку рассматриваемое семейство является в основном хищниками на мелких грызунов и падальщиками, что повышает их шансы взаимодействия с потенциально восприимчивыми/ инфицированными организмами и обсеменённым прионным агентом материалом. Стоит заметить, что феномен устойчивости встречался и раньше: недавно обнаруженный человеческий генотип с мутацией в положении 127 (Gly-127-Val), обеспечивающий устойчивости к прионному агенту в эпидемии Куру (прионное заболевание, встречающееся в Новой Гвинее у аборигенов племени Форе) [23]. Таким образом, основой участия таких организмов как псовые в диссеминации прионной инфекции в среде строится на двух основах: это невосприимчивость к прионному агенту и хищнические отношения с восприимчивыми и потенциально инфицированными организмами. Поедая последних, животные семейства псовых (например, койоты) поедают и обсеменённый прионным агентом (PrP^{CWD}-агент) биологический материал. Последний проходя по желудочно-кишечному тракту (ЖКТ) транзитом, выделяется в окружающую среду с испражнениями (как минимум в течение 3-х дней), что приводит к диссеминации прионной инфекции по местности и сохранению прионного агента на последней, благодаря феномену устойчивости. Стоит отметить, что PrP^{CWD}-агент так же был обнаружен в испражнениях таких птиц, как вороны (судя по всему, реализовался аналогичный механизм) [33].

Факторы окружающей среды, влияющие на персистенцию прионной инфекции

Влияние среды на прионную инфекцию не ограничивается факторами распространения последней, но так же включает условия, обеспечивающие деградацию прионного агента. Понимание таких феноменов и механизмов реализации деградации особенно важно для обеспечения борьбы с растущей прионной проблемой.

Среди факторов окружающей среды в первую очередь следует отметить климатические условия, оказывающее влияние на поверхностный слой почвы и персистирующий на нём прионный агент. Моделирование таких условий способно пролить свет на влияния, оказываемые изменением физико-химических свойств поверхностного слоя почвы на персистенции прионного агента, что и было проведено в некоторых работах [26, 27]. Моделировались изменения таких показателей, как влажность (повторяющиеся циклы дегидратации-гидратации исследуемого материала), а так же температура (повторяющиеся

циклы замораживания-оттаивания). Выдвинута гипотеза, что основой изменений конформации PrP^{sc} при моделировании вышеуказанных природных условий явилось перемещение молекул воды. Дегидратация молекулы PrP^{sc} приводит к тому, что вода, заполняющая внутренние полости-пространства молекулы покидает последние, в итоге, укладка молекулы PrP^{sc} уплотняется. Последующая гидратация молекулы PrP^{sc} заполняет внутренние пространства водой. Предполагается, что данный циклический процесс гидратации-дегидратации молекулы PrP^{sc} влияет на конформацию последней и повышает её потенции к деградации [26]. Однако, более точных данных, раскрывающих все тонкости механизма деградации прионов на данный момент нет. К тому же, имеются и другие предположения касательно деградации PrP^{sc} в среде. К ним относятся изменение концентраций ионов при гидратации/дегидратации поверхности почвы, в том числе, ионов водорода (что не было характерно для рассмотренного исследования). Стоит обратить внимание на активность в почве микроорганизмов, как потенциального фактора, обеспечивающего деградацию прионных агентов при помощи ферментных систем (например, сериновых протеаз) [27].

Знание взаимоотношений «прионный агент – окружающая среда» позволяет выстроить систему профилактических мероприятий, направленных на ликвидацию/ снижение контаминации среды прионом. В случае прионной инфекции проблема осложняется масштабами контаминации среды, которые на данный момент не известны, как и недостаточно известны потенции прионных агентов к переходу от одного вида к другому, то есть, возможности циркуляции приона в биогеоценозах.

Некоторые аспекты профилактики прионной инфекции

Устойчивость – главное свойство прионного агента, обуславливающее его продолжительное сохранение в окружающей среде и способность циркулировать между восприимчивыми особями. Устойчивость к большому спектру воздействий, потенциал к межвидовой передаче и масштабы обсеменения прионом затрудняют его ликвидацию в биогеоценозах, что можно пронаблюдать на примере быстрорастущей эпидемии ХИБ в Канаде и США [34]. В связи с этим большую актуальность имеет проблема профилактики прионной инфекции, включающая предотвращение попадания прионного агента в пищевую цепь человека и снижение контаминации окружающей среды прионным агентом. Приобретает значение

комплексный подход к воздействию на все этапы циркуляции прионного агента в окружающей среде, для обеспечения деконтаминации последней.

Специфика прионной инфекции заключается в абсолютной зависимости восприимчивости организма к определённому штамму прионного агента от его PRNP-гена. Резистентность организма к прионному агенту определённого штамма зависит от различий в аминокислотных последовательностях и конформациях прионного агента и PrP^c хозяина. В истории изучения прионной инфекции существует множества прецедентов резистентности генотипов и видов к определённым штаммам прионных агентов [2, 21, 34]. При этом феномен относительной резистентности (резистентность к некоторому спектру штаммов либо замедленные темпы репликации приона) встречается достаточно часто. Именно на нём основана региональная защита сельскохозяйственных популяций животных искусственным генетическим отбором резистентных генотипов. К примеру, такие мероприятия проводятся на Сицилии. В этом регионе сосредоточена крупная популяция мелкого рогатого скота (овец и коз). После использования инфицированной вакцины против *Mycoplasma agalactiae* в 1997 году, остров стал эндемичным к PrP^{sc}-агенту. В 2005 году начался генеральный план по генотипному отбору резистентных форм (генотип ARR) [21]. Между тем, рано говорить о положительной динамике ситуации из-за специфики прионной инфекции (длительный инкубационный период и длительная персистенция в среде).

Стоит заметить, что в природе предположительно наблюдается феномен отбора резистентных генотипов. Возможно, такой отбор устойчивых генотипов происходил в Альберте (Канада). В этой области стада карибу (подвид северного оленя) имею высокий процент животных (1/3 особей) с низковосприимчивым PRNP (аспарагин в 138 положении) к PrP^{CWD}-агенту [34]. Не известно, как сформировалось такое распределение генотипов, но не исключается возможность давления естественного отбора. Более интересна ситуация, сложившаяся с животными семейства псовых (*canidae*). Данное семейство считается высокорезистентным в отношении прионных агентов. Указывают на субстрат такой резистентности (предположительно) – одна точечная мутация, специфичная для семейства *canidae*, в положении 163 с заменой на глутаминовую или аспарагиновую кислоту, изменяющая поверхностный заряд PrP^c. Опираясь на факт, что животные этого семейства являются падальщиками и хищниками предполагается высокая степень их контакта с прионной инфекцией в среде. В данном случае считается, что прионная инфекция выступала как фактор отбора резистентных к ней форм [23]. Безусловно, профилактические мероприятия, построенные на знании основ генетической устойчивости организмов к прионной инфекции могут стать значительным подспорьем в снижении контаминации

среды, отведённой под животноводческие угодья, при разведении животных с резистентными генотипами.

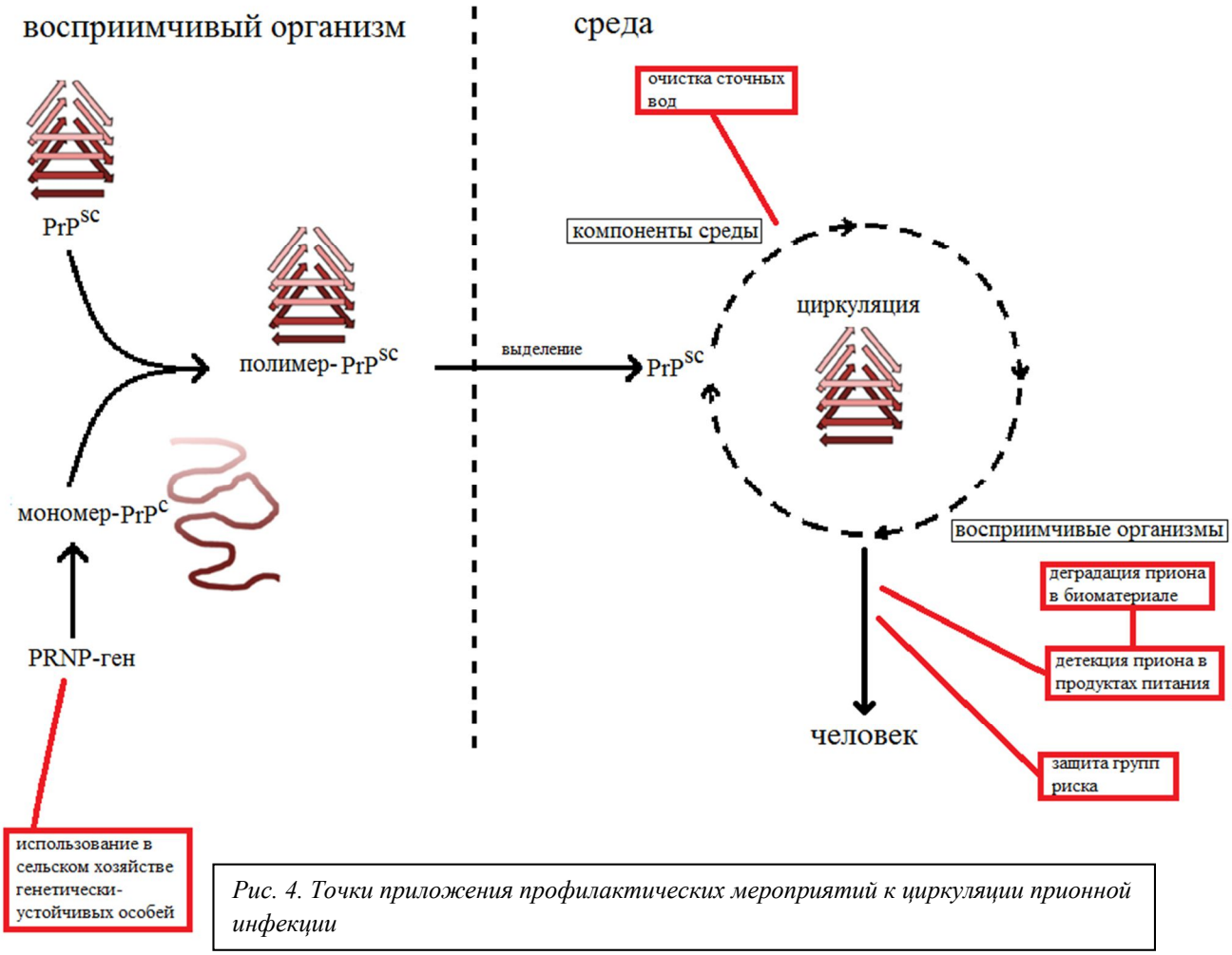

Рис. 4. Точки приложения профилактических мероприятий к циркуляции прионной инфекции

Другими направлениями профилактики является повышение эффективности систем очистки сточных вод от прионного агента [5]. Особенно важны такие системы деконтаминации в отношении животноводческих ферм, эндемичных к прионному агенту (например овцефермы, эндемичные к PrP^{sc}-агенту), чтобы предотвратить выброс прионного агента в окружающую среду. Результаты нескольких работ показывают, что при деконтаминации сточных вод возможно применение озонирования (снижает обсеменённость прионным агентом на несколько порядков) [22]. Помимо веществ, обладающих в отношении прионного агента деградационным эффектом, предположительно использование компонентов почвы, обладающих высокой адсорбционной способностью в отношении прионных агентов, в частности PrP^{sc} (например, монтмориллонитовые глины) [9].

Предупреждение заражения прионной инфекцией людей из групп повышенного риска, а именно людей, контактирующих, в силу своей профессии, с предположительно контаминированным материалом или больными спорадической формой ТГЭ животными и

людьми. Прежде всего, это работники животноводческих ферм, мясоперерабатывающей промышленности, работники ветеринарных служб. В связи с этим необходима разработка технологий, эффективных в плане предупреждения заражения прионной инфекцией.

Значительно снизить вероятность заражения и последующего распространения прионного агента в среде позволит детекция прионного агента в биоматериале и его последующая деградация [12]. Проблема обнаружения биоматериала, обсеменённого прионным агентом и последующая деградация последнего для предупреждения контаминации среды встаёт на первый план при обнаружении животных (в основном сельскохозяйственных), потенциально заражённых прионным агентом и выделяющих последний во внешнюю среду. Два новаторских метода, позволяющие реплицировать PrP^{sc} in vitro: PMCA и RT-QuIC основаны на чередовании циклов трансформации исходным прионным агентом (в предполагаемом биологическом субстрате) рекомбинантного прионного белка rPrP и обработки ультразвуком (дробление амилоидных фибрилл и увеличение центров полимеризации) с дальнейшим добавлением тиофлавина-Т, связывающегося с амилоидными структурами и позволяющего обнаружить последние благодаря эффекту флюоресценции [12]. Кроме непосредственного обнаружения состоявшейся реакции трансформации возможна оценка количества прионного агента в биологическом субстрате по нарастанию флюоресцирующей способности. Методы позволяют обнаружить следовые концентрации прионного агента в биологическом материале. Однако помимо обнаружения прионного агента встаёт проблема его деградации для предотвращения контаминации среды. Устойчивость PrP^{sc} к агрессивным внешним воздействиям усложняет задачу. Предлагается использование таких методов деградации PrP^{sc} в биоматериале, как сжигание, и компостирование [22]. Однако, если в отношении сельскохозяйственных угодий и промышленных предприятий, потенциально контактирующих в силу своей специализации с прионным агентом возможны применения вышеперечисленных методов профилактики, то в отношении природной среды, распространённость прионного агента в которой может возрастать и возрастает (эпидемия ХИБ)[3], применение таких методов деконтаминации затруднительно.

Из всех методов профилактики прионной инфекции наиболее перспективными, на наш взгляд, является именно отбор животных генетически-резистентных генотипов. В то же время несмотря на высокие темпы исследования основ молекулярной/генетической резистентности организмов к прионной инфекции, основы резистентности являются на сегодняшний момент полностью не понятыми. Отсюда могут возникать непредвиденные

[3] Прецедент эпидемии ХИБ, на данный момент распространяющейся по территории Канады и США даёт понять потенции к персистенции прионного агента в природной среде.

эффекты, связанные с изменением штаммов прионных агентов, циркулирующих на определённой местности.

Заключение

Прионная инфекция – беспрецедентный природный феномен, изучение которого длится порядка пятидесяти лет. Специфичность инфекционного агента диктует возможности длительной персистенции этой инфекции в биогеоценозах посредством потенций инфекционного агента к высокой устойчивости в окружающей среде, а так же способности к передаче на другие биологические виды и изменению структуры персистирующего агента. Недостаточная исследованность всех аспектов данной проблемы не позволяет разработать и реализовать эффективные профилактические мероприятия, направленные на защиту человека от прионных заболеваний. В связи с этим, высокую перспективность имеют не только исследования в области экологии и эпидемиологии прионной инфекции, но и исследования в области молекулярной природы, как основы всех свойств прионного инфекционного агента.

Благодарности

Выражаю благодарность кандидату медицинских наук. доценту кафедры общей гигиены и экологии человека Пермского государственного медицинского университета имени академика Е. А. Вагнера Татьяне Павловне Арбузовой за помощь в создании этой статьи.

Литература

1. Конольд Т. Передача возбудителя скрепи через молоко / Т. Конольд, С. Джо Мур, С.Дж. Беллворти, Х.А. Симмонс // Российский ветеринарный журнал Сельскохозяйственные животные. – 2009. № 1. Стр. 10 – 11.
2. МакИнтир К. М. Вспышка скрепи в динамике / К.М. МакИнтир, С. Габбинс, В. Голдманн, Э. Стевенсон, М. Бейлис // Российский ветеринарный журнал Сельскохозяйственные животные. – 2009. № 1. Стр. 5 – 7.

3. Adams D.B. Prenatal transmission of scrapie in sheep and goats: A case study for veterinary public health // Open Veterinary Journal. – 2016. №. 6. – Стр. 197 – 208.
4. Akihiko Urayama. Prions efficiently cross the intestinal barrier after oral administration: Study of the bioavailability, and cellular and tissue distribution in vivo / Akihiko Urayama, Luis Concha-Marambio, Uffaf Khan, Javiera Bravo-Alegria, Vineetkumar Kharat, Claudio Soto // Scientific Reports. – 2016. - №. 6. – Стр. 2 – 7.
5. Alba Marín-Moreno. An assessment of the long-term persistence of prion infectivity in aquatic environments / Alba Marín-Moreno, Juan-CarlosEspinosa, NataliaFernández-Borges, JuanPíquer, RosinaGirones, OlivierAndreoletti, Juan-MaríaTorres // Environmental Research. – 2016. - №. 151. – Стр. 590 – 594.
6. Alba Marín-Moreno. Transmission and replication of prions / Alba Marín-Moreno, Natalia Fernández-Borges, Juan C. Espinosa, Olivier Andreoletti, Juan M. Torres // Progress in Molecular Biology and Translational Science. – 2017. №. 150. – Стр. 182 – 194.
7. Andrew R. Castle. Physiological functions of the cellular prion protein / Andrew R. Castle and Andrew C. Gill // Frontiers in Molecular Biosciences. – 2017. №. 4. – Стр. 2 – 16.
8. Christy A. Wyckoff. Clay components in soil dictate environmental stability and bioavailability of cervid prions in mice / A. Christy Wyckoff, Sarah Kane, Krista Lockwood, Jeff Seligman, Brady Michel, Dana Hill, Aimee Ortega, Mihnea R. Mangalea, Glenn C. Telling, Michael W. Miller, Kurt Vercauteren and Mark D. Zabel // Frontiers in microbiology. – 2017. № 7. Стр. 9 – 10.
9. Christy A. Wyckoff. Estimating prion adsorption capacity of soil by bioAssay of subtracted infectivity from complex solutions (BASICS) / A. Christy Wyckoff, Krista L. Lockwood, Crystal Meyerett-Reid, Brady A. Michel, Heather Bender, Kurt C. VerCauteren, Mark D. Zabel // Public Library of Science ONE. – 2013. № 8. Стр. 5 – 8.
10. Christina D. Orrú. Prion seeding activity and infectivity in skin samples from patients with sporadic Creutzfeldt-Jakob disease / Christina D. Orrú, Jue Yuan, Brian S. Appleby, Baiya Li, Yu Li, Dane Winner, Zerui Wang, Yi-An Zhan, Mark Rodgers, Jason Rarick, Robert E. Wyza, Tripti Joshi, Gong-Xian Wang, Mark L. Cohen, Shulin Zhang, Bradley R. Groveman, Robert B. Petersen, James W. Ironside, Miguel E. Quiñones-Mateu, Jiri G. Safar, Qingzhong Kong, Byron Caughey, and Wen-Quan Zou // Science Translational Medicine. – 2017. № 9. – Стр. 7 – 8.
11. David S. Donaldson. The influence of the commensal and pathogenic gut microbiota on prion disease pathogenesis / David S. Donaldson and Neil A. Mabbott // Journal of General Virology. – 2016. № 97. – Стр. 1727 - 1734.

12. Edoardo Bistaffa. Biosafety of prions / Edoardo Bistaffa, Martina Rossi, Chiara M.G. De Luca, Fabio Moda // Progress in Molecular Biology and Translational Science. – 2017. № 150. Стр. 463 – 467.
13. Gabriele Giachin. The mechanisms of humic substances selfassembly with biological molecules: The case study of the prion protein / Gabriele Giachin, Ridvan Nepravishta, Walter Mandaliti, Sonia Melino, Alja Margon, Denis Scaini, Pierluigi Mazzei, Alessandro Piccolo, Giuseppe Legname, Maurizio Paci, Liviana Leita // Public Library of Science One. – 2017. № 12. – Стр. 5 – 12.
14. Gültekin Tamgüney. Asymptomatic deer excrete infectious prions in feces / Gültekin Tamgüney, Michael W. Miller, Lisa L. Wolfe, Tracey M. Sirochman, David V. Glidden, Christina Palmer, Azucena Lemus, Stephen J. DeArmond and Stanley B. Prusiner // Nature. – 2009. № 461. – Стр. 530 – 532.
15. Harald Seeger. Coincident scrapie infection and nephritis lead to urinary prion excretion / Harald Seeger, Mathias Heikenwalder, Nicolas Zeller, Jan Kranich, Petra Schwarz, Ariana Gaspert, Burkhardt Seifert, Gino Miele, Adriano Aguzzi // Science. – 2005. № 310. – Стр. 324 – 326.
16. Holger Wille. The Structure of PrPSc Prions / Holger Wille and Jesús R. Requena // Pathogens. – 2018. № 7. – Стр. 2 – 8.
17. Johannes Haybaeck. Aerosols transmit prions to immunocompetent and immunodeficient mice / Johannes Haybaeck, Mathias Heikenwalder, Britta Klevenz, Petra Schwarz, Ilan Margalith, Claire Bridel1, Kirsten Mertz, Elizabeta Zirdum, Benjamin Petsch, Thomas J. Fuchs, Lothar Stitz, Adriano Aguzzi // Public Library of Science Pathogens. – 2016. № 7. – Стр. 2 – 14.
18. Kevin C. Gough. Circulation of prions within dust on a scrapie affected farm / Kevin C. Gough, Claire A. Baker, Hugh A. Simmons, Steve A. Hawkins and Ben C. Maddison // VETERINARY RESEARCH. – 2015. № 46. – Стр. 1 – 3.
19. Ladan Amin. Characterization of prion protein function by focal neurite stimulation / Ladan Amin, Xuan T. A. Nguyen, Irene Giulia Rolle, Elisa D'Este, Gabriele Giachin, Thanh Hoa Tran, Vladka Čurin Šerbec, Dan Cojoc4, and Giuseppe Legname // The Company of Biologists. – 2016. № 129. – Стр. 3878 – 3887.
20. Marie-Angela Wulf. The biological function of the cellular prion protein: an update / Marie-Angela Wulf, Assunta Senatore and Adriano Aguzzi // BMC Biology. – 2017. № 15:34. – Стр. 2 – 8.
21. Maria Vitale. Scrapie incidence and PRNP polymorphisms: rare small ruminant breeds of Sicily with TSE protecting genetic reservoirs / Maria Vitale, Sergio Migliore, Maria La

Giglia, Placido Alberti, Vincenzo Di Marco Lo Presti and Jan P. M. Langeveld // BMC Veterinary research. - 2016. № 12.141. – Стр. 3 – 5.

22. Mark Zabel. The ecology of prions / Mark Zabel, Aimee Ortega // Microbiology and molecular biology reviews. – 2017. № 81. – Стр. 2 – 6.
23. Natalia Fernández-Borges. Behind the potential evolution towards prion resistant species/ Natalia Fernández-Borges, Hasier Eraña & Joaquín Castilla // Prion. – 2018. – Стр. 3 – 7.
24. Neil Andrew Mabbott. The good, the bad, and the ugly of dendritic cells during prion disease / Neil Andrew Mabbott and Barry Matthew Bradford // Immunology Research. – 2015. № 2015. – Стр. 3 – 8.
25. Paula Saa. Mechanisms of prion-induced neurodegeneration / Paula Saa, David A. Harris, Larisa Cervenakova // Expert Reviews in Molecular Medicine. – 2016. № 18. – Стр. 8.
26. Qi Yuan. Dehydration of prions on environmentally relevant surfaces protects them from inactivation by freezing and thawing / Qi Yuan, Glenn Telling, Shannon L. Bartelt-Hunt, and Jason C. Bartz // Jour*nal* of Virology. – 2018. № 92:8. – Стр. 13 – 16.
27. Qi Yuan. Mitigation of prion infectivity and conversion capacity by a simulated natural process—repeated cycles of drying and wetting / Qi Yuan, Thomas Eckland, Glenn Telling, Jason Bartz, Shannon Bartelt-Hunt // Public Library of Science Pathogens. – 2015. № 11. Стр. 7 – 12.
28. Sandra Pritzkow. Efficient prion disease transmission through common environmental materials / Sandra Pritzkow, Rodrigo Morales, Adam Lyon, Luis Concha-Marambio, Akihiko Urayama and Claudio Soto // Journal of biological chemistry. – 2017. Стр. 5 – 9.
29. Sandra Pritzkow. Grass plants bind, retain, uptake, and transport infectious prions / Sandra Pritzkow, Rodrigo Morales, Fabio Moda, Uffaf Khan, Glenn C. Telling, Edward Hoover, and Claudio Soto // Cell Reports. – 2015. № 11. Стр. 6 – 8.
30. Sheena J. Dorak. Clay content and pH: soil characteristic associations with the persistent presence of chronic wasting disease in northern Illinois / Sheena J. Dorak1, Michelle L. Green, Michelle M. Wander, Marilyn O. Ruiz, Michael G. Buhnerkempe, Ting Tian, Jan E. Novakofski & Nohra E. Mateus-Pinilla // Scientific Reports. – 2017. № 7. Стр. 4 – 7.
31. Timm Konold. Objects in contact with classical scrapie sheep act as a reservoir for scrapie transmission / Timm Konold, Stephen A. C. Hawkins, Lisa C. Thurston, Ben C. Maddison, Kevin C. Gough, Anthony Duarte and Hugh A. Simmons // Frontiers in veterinary science. – 2016. № 2. Стр. 5 – 6.
32. Timothy D. Kurt. Cross-species transmission of CWD prions / Timothy D. Kurta and Christina J. Sigurdson // Prion. – 2016. № 10. Стр. 85 – 87.

33. Tracy A. Nichols. CWD prions remain infectious after passage through the digestive system of coyotes (Canis latrans) / Tracy A. Nichols, Justin W. Fischer, Terry R Spraker, Qingzhong Kong, and Kurt C. VerCauteren // Prion. – 2015. № 9. Стр. 371 – 373.
34. Yo Ching Cheng. High prevalence of prion protein genotype associated with resistance to chronic wasting disease in one Alberta woodland caribou population / Yo Ching Cheng, Marco Musiani, Maria Cavedon, and Sabine Gilch // Prion. – 2017. № 11. Стр. 138 – 140.