

СТЕНЛИ ПРУЗИНЕР STANLEY B. PRUSINER

28.05.1942

В науке бывает так, что решение одной проблемы неожиданно заставляет взглянуть по-новому на другую, давно, казалось бы, забытую.

В 1954 году шведский ученый Б. Сигурдссон впервые опубликовал результаты своих исследований массовых заболеваний овец на острове Исландия. Эти заболевания отличались от всех известных заболеваний четырьмя признаками: необычно продолжительным (до нескольких лет) инкубационным периодом; медленно прогрессирующим (месяцы и годы) характером течения; необычностью поражения органов и тканей; неизбежным смертельным исходом. Б. Сигурдссон объединил такие заболевания под общим названием «медленные инфекции».

Это открытие не вызывало должного интереса до тех пор, пока в 1957 году в противоположном регионе земного шара – на острове Новая Гвинея – К. Гайдушеком и В. Зигасом не было описано новое заболевание, известное среди папуасов-каннибалов под названием «куру», которое полностью отвечало всем четырем характерным признакам медленной инфекции и проявлялось нарушением координации движений и дрожанием. Клиническая и патологоанатомическая симптоматика куру у людей была сходна с таковой при болезни овец, известной с 1700 года – скрейпи. В 1966 году Гайдушеком на обезьянах (шимпанзе) была доказана инфекционная природа куру. В 1967 году исследователями были опубликованы данные, согласно которым в мозге зараженных вирусом куру шимпанзе были обнаружены: «губчатость» серого вещества головного мозга, увеличение числа вспомогательных клеток (астроглии), гибель нейронов в ряде отделов мозга. То, что «медленные инфекции» могут поражать не только животных, но и людей, послужило мощным стимулом для выяснения

причин развития столь массовых и необычных заболеваний, и первые же шаги в этом направлении принесли свои плоды.

В лаборатории Б. Сигурдссона были получены доказательства, что типичную «медленную инфекцию» овец – висну – вызывает вирус, оказавшийся по своим свойствам очень схожим с давно и хорошо известными онкорнавирусами. Понятно, что это открытие способствовало представлению о том, что все «медленные инфекции» вызываются вирусами. Укреплению этого мнения в большой мере способствовало и последующее установление вирусной этиологии известной еще с 1933 года «медленной инфекции» детей и подростков – подострого склерозирующего панэнцефалита, причиной которого, как оказалось, является вирус кори, возбудитель давно и хорошо известной детской заразной болезни. Более того, в последующие годы был накоплен богатый фактический материал, прямо свидетельствующий о способности многих вирусов-возбудителей острых заразных заболеваний вызывать в организме человека или животных развитие медленной формы инфекционного процесса, полностью отвечавшего всем четырем признакам медленных инфекций. В числе таких возбудителей оказались вирусы кори, краснухи, герпеса, клещевого энцефалита, инфекционной анемии лошадей, гриппа, лимфоцитарного хориоменингита, бешенства, африканской лихорадки свиней, иммунодефицита человека и др.

А между тем, уже начиная с первых сообщений Б. Сигурдссона, подробно описавшего хорошо известную до того и распространенную болезнь овец – скрейпи, в литературе начали



появляться сообщения, описывающие особую группу медленных инфекций человека и животных, патоморфологические изменения при которых в организме, как и при скрейпи, отличались весьма существенным своеобразием: отсутствовали признаки воспаления и наряду с этим в центральной нервной системе развивалась картина выраженного первично-дегенеративного процесса в головном, а иногда и в спинном мозге. Изменения выражались в картине гибели нейронов, накоплении амилонидных бляшек и выраженном глиозе. В итоге все эти изменения приводили к формированию так называемого губкообразного состояния (*status spongiosus*) мозговой ткани, что и послужило основанием для обозначения этой группы заболеваний как «трансмиссивные губкообразные энцефалопатии» (ТГЭ). Именно трансмиссивность губкообразного состояния только мозговой ткани и служит патогномоничным признаком этих заболеваний.

Несмотря на точные доказательства инфекционной природы ТГЭ, на протяжении нескольких десятилетий не удавалось обнаружить возбудителей этих заболеваний. Вместе с тем накапливались данные, которые не прямо, но косвенно позволяли судить о некоторых свойствах предполагаемых возбудителей. Исследователи накопили большой фактический материал, разносторонне изучая инфицированную мозговую ткань. При этом оказалось, что предполагаемый инфекционный агент: проходит через бактериальные фильтры с диаметром пор от 25 до 50 нм; не размножается на искусственных питательных средах; воспроизводит феномен титрования; накапливается до концентрации 10⁵–10¹¹ ИД₅₀ в 1 г мозговой ткани; способен к адаптации к новому хозяину, что нередко сопровождается укорочением инкубационного периода; способен первоначально репродуцироваться в селезенке и других органах ретикулоэндотелиальной системы, а затем и в мозговой ткани; обладает генетическим контролем чувствительности некоторых хозяев; имеет специфический для конкретного штамма круг хозяев; способен изменять патогенность и вирулентность для разного круга хозяев; селекционируется из штаммов дикого типа; воспроизводит феномен интерференции

медленно накапливающегося в организме штамма с быстро накапливающимся; обладает способностью к персистенции в культуре клеток, полученных из органов и тканей зараженного животного.

Перечисленные признаки свидетельствовали о весьма большом сходстве их с признаками широко известных вирусов. Вместе с тем у предполагаемых возбудителей был обнаружен и ряд необычных характеристик. Возбудители ТГЭ оказались устойчивы к действию ультрафиолета, проникающей радиации, ДНКазы и РНКазы, ультразвука, глютаральдегида, б-пропиолактона, формальдегида, псораленов, толуола, ксилола, этанола, нагревания до 80°C и даже неполностью инактивировались после кипячения.

Казалось совершенно естественным обозначить предполагаемых возбудителей ТГЭ как «необычные вирусы» или даже как «медленные вирусы». В 1967 году Д. Гриффит высказал предположение, что инфекционный агент не содержит генетического материала, а представляет собой измененную форму одного из клеточных белков, самоподдерживающуюся за счет автокаталитического механизма. Однако вскоре эта неопределенность в обозначениях, а главное, в понимании природы возбудителей ТГЭ была устранена благодаря работам американского биохимика С. Прузинера.

В начале 1970-х годов в клинике Калифорнийского университета Прузинер наблюдал пациента, который медленно умирал от болезни Крейтцфельда-Якоба. При этом возбудителя столь грозного заболевания никак не удавалось выявить. В то время Прузинер получил место ассистента и начал обустроить лабораторию для изучения скрейпи в 1974 году.

Им были использованы зараженные хомяки, в мозговой ткани которых накапливалось возбудителя в 100 раз больше, чем в мозговой ткани мышей. Получив мозговую ткань с высокой концентрацией возбудителя скрейпи, С. Прузинер приступил к постепенной ее очистке, одновременно строго следя за сохранением инфекционных свойств. В результате такого подхода удалось установить безнуклеиновую, чисто белковую природу возбудителя: полученный инфекционный белок был пред-

ставлен молекулами одного вида с молекулярной массой 27–30 кДа. С. Прузинер предложил обозначить обнаруженный им инфекционный белок как «инфекционный прионный белок», а в качестве инфекционной единицы использовать термин «прион» (*prion – proteinacious infectious particle*), т.е. прион как инфекционная единица состоит из молекул инфекционного прионного белка.

Выводы, к которым пришел Прузинер в первой половине 1980-х годов, вызвал недоверие вирусологов. Его взгляды противоречили традиционным, согласно которым структура белка определяется информацией, которая хранится и переносится нуклеиновыми кислотами. Большинство биологов не желали всерьез принимать идею о существовании прионов, поскольку абсолютно все открытые до этого инфекционные агенты обязательно содержали генетический материал (ДНК или РНК). При разрушении нуклеиновых кислот болезнетворность агента исчезала. Однако Прузинер проявил должное упорство.

Оказалось, что прионный белок может существовать в двух формах, т.е. белок того же аминокислотного состава и той же самой молекулярной массы обнаруживается в организме всех млекопитающих, включая человека, а его наивысшая концентрация определяется в нейронах. Учитывая его клеточное происхождение, этот прионный белок был назван «нормальным» или «клеточным прионным белком», обозначаемым символом PrP^C (аббревиатура от английского – Prion Protein Cell). Обнаружено, что клеточный прионный белок PrP^C играет важную роль в жизнедеятельности организма млекопитающих: он участвует в передаче нервных импульсов между окончаниями нервных волокон, способствует сохранению устойчивости нейронов и клеток глии к окислительному стрессу, вовлекается в процессы регуляции содержания внутриклеточного кальция (Ca²⁺) в нейронах, но самое главное – поддерживает циркадные (от лат. *circa* – около и *dies* – день), т.е. околосуточные, ритмы активности и покоя в клетках, тканях, органах и в организме в целом.

В организме людей и животных, страдающих ТГЭ, прионный белок обнаруживается в

другой форме, обозначаемой как PrP^{Sc}. Предложенная аббревиатура основана на том, что природным резервуаром инфекционного прионного белка является организм овец и коз, у которых спонтанно может развиваться уже упомянутое выше заболевание скреппи (от англ. Scrapie).

В настоящее время известно, что процесс накопления инфекционных прионных молекул, т.е. процесс превращения нормального клеточного белка PrP^C в инфекционный носит название конформационного, связанного только с изменением пространственной структуры молекулы белка, но не его аминокислотного состава.

Таким образом, процесс накопления инфекционного прионного белка PrP^{Sc} в зараженном организме происходит не за счет синтеза таких молекул *de novo*, а за счет конформационных изменений уже существующих и предварительно синтезирующихся вновь молекул клеточного белка PrP^C. Этот процесс носит лавинообразный характер.

На основании имевшихся к 1982 году экспериментальных данных С. Прузинер сформулировал прионную концепцию. Эта концепция подразумевала следующее:

- инфекционным агентом является белок PrP^{Sc};
- инфекционный агент PrP^{Sc} может реплицировать себя в отсутствие нуклеиновой кислоты;
- превращение белка из нормальной формы (PrP^C) в инфекционную (PrP^{Sc}) происходит путем конформационного перехода;
- конформационный переход PrP^C в PrP^{Sc} может происходить спонтанно, приводя к спорадическим формам прионных заболеваний. Он может быть вызван поступлением в организм патологической формы PrP^{Sc} извне (приобретенные формы прионных заболеваний). Наконец, переход может произойти из-за мутаций в гене Prnp, способствующих образованию PrP^{Sc} из PrP^C (наследственные формы прионных заболеваний).

По меткому выражению профессора Стэнли Прузинера, «доктор Джекил превращается в мистера Хайда». Дефектный при-

онный белок обладает аномальными свойствами, он контагиозен и фатален для любых близлежащих нейронов.

В 1992 году исследователи смогли уничтожить ген, кодирующий прионы у мышей, получив так называемых мышей с «выбитыми прионами». Было доказано, что эти мыши полностью резистентны к заражению прионами. Более того, когда ген приона был повторно введен мышам, они снова стали восприимчивы к прионной инфекции. Выходит, что нормальный белок приона не является обязательным для жизни.

Медленные инфекции, вызываемые прионами, получили наименование «прионные болезни», и с тех пор это название широко используется в научной литературе наряду с существовавшим ранее и использующимся до сих пор определением – «трансмиссивные губкообразные энцефалопатии».

Открытие прионов послужило мощным стимулом для успешной расшифровки этиологии ряда нейродегенеративных заболеваний, в патогенезе которых уже давно было описано формирование губкообразной энцефалопатии. Среди таких заболеваний следует прежде всего выделить болезнь Крейтцфельда–Якоба, хорошо известную еще с 1920-х годов. Болезнь встречается с частотой 1 случай на 1 млн населения в год. Однако существуют кластеры (в Чили, Израиле, Словакии), где заболеваемость оказывается значительно выше. Заболевание характеризуется более ранним, чем обычно, началом. Возраст больных варьировал от 16 до 40 лет, в начале заболевания в качестве клинических проявлений отмечены психические нарушения в виде тревоги, депрессии, изменений поведения, спустя недели и месяцы присоединялись неврологические нарушения. На поздних этапах, как и при других прионных болезнях, – нарушения памяти, деменция, могут быть мышечные подергивания, повышение мышечного тонуса; заболевание заканчивается смертельным исходом в течение полугода – 2 лет.

«Исследования, проведенные во многих лабораториях за последние 20 лет, позволили накопить данные о том, что полдюжины белков, вызывающих нейродегенерацию, – это

прионы: с помощью синтетических пептидов Аβ были получены прионы, которые прошли биопробу на трансгенных мышах с болезнью Альцгеймера. Подобным же образом, на основе рекомбинантных белков были созданы прионы α-синуклеина (вызывающие болезнь Паркинсона) и тауприоны (ответственные за лобно-височную деменцию), которые прошли биопробу на трансгенных мышах. Удивительно, насколько схожи оказались данные по прионам в патогенезе обычных нейродегенеративных заболеваний... В каждом случае нейродегенеративного заболевания существует определенный белок, который, по разным причинам, изменяя свою конформацию может стать «токсичным», спонтанно распространяясь по типу «цепной реакции», эти белки полимеризуются в амилоидные фибриллы, вызывая изменения в клетках мозга, – сказал Стенли Прузинер.

За выдающееся открытие прионов – нового биологического источника инфекции, и за объяснение основных принципов его действия американскому врачу, профессору неврологии и биохимии Университета Калифорнии в Сан-Франциско Стенли Прузинеру в 1997 году была присуждена Нобелевская премия по физиологии и медицине.

ЛИТЕРАТУРА

1. Зуев В.А. Медленные вирусные инфекции человека и животных. – М., 1988.
2. Зуев В.А., Завалишин И.А., Ройхель В.М. Прионные болезни человека и животных: руководство для врачей. – М., 1999.
3. Покровский В.И., Киселев О.И., Черкасский Б.Л. Прионы и прионные болезни. – М., 2004.
4. Григорьев В.Б., Покидьшев А.Н., Кальнов С.Л., Клименко С.М. // *Вопр. вирусол.* 2009; 5: 4–9.
5. Завалишин И.А., Шитикова И.Е. Коровье бешенство и прионные болезни // *Нервы.* – 2007. №2.
6. Шкундина И.С., Тер-Аванесян М.Д. Прионы // *Успехи биологической химии.* – 2006. Т. 46. – С. 3–423

Информация подготовлена заместителем главного редактора, канд. мед. наук Н.А. Лян ■