Національний фармацевтичний університет
Кафедра мікробіології, вірусології та імунології

Лекція з мікробіології з основами імунології
спеціальності 7.12020101 Фармація

Сучасні аспекти пріонних інфекцій

Лектор
доцент каф. мікробіології,
вірусології та імунології

ПЛАН ЛЕКЦІЇ

1. **Морфологія. Властивості пріонів.**
2. **Епідеміологія.**
3. **Групи ризику.**
4. **Патогенез.**
5. **Імунітет.**
6. **Лабораторна діагностика.**
7. **Лікування та профілактика.**

Питання для самостійного вивчення:

Збудники трихомонозу, токсоплазмозу, лейшманіозу.

Рекомендована література

1. Мікробіологія: Підр. для студ. / І. Л.Дикий, І. Ю.Холупяк, Н. Ю. Шевельова, та ін. 2-е вид.– Х. : Профессионал, 2006. – 433 с.

2. Микробиология: Руководство к лабораторным занятиям. Учеб. пособие для студентов высших учебных заведений / И.Л. Дикий, И.И Сидорчук, И.Ю. Холупяк, Н.Е. Шевелёва, М.М. Великая, Н.А. Волкова, Л.Ф. Силаева, О.П. Стрилец, О.Г. Гейдерих, В.Е. Литаров. – Х.: Изд-во НфаУ; Золотые страницы, 2002.- 444 с.

3. Микробиология. Методические рекомендации для студентов фармацевтических высших учебных заведений / И.Л. Дикий, И.Ю. Холупяк, М.М. Великая, Н.Е. Шевелева и др. – Х., 2004. – 144 с.

4. Атлас по медицинской микробиологии, вирусологии и иммунологии: Учебн. пособ. для студ. мед. вузов / Под. ред. А. А. Воробьева, А. С. Быкова. – М. : Медицинское информационное агентство, 2003. – 236с.

Чим глибше наука пізнає світ,

тим все менш зрозуміло, як взагалі людині вдається вижити в цьому світі

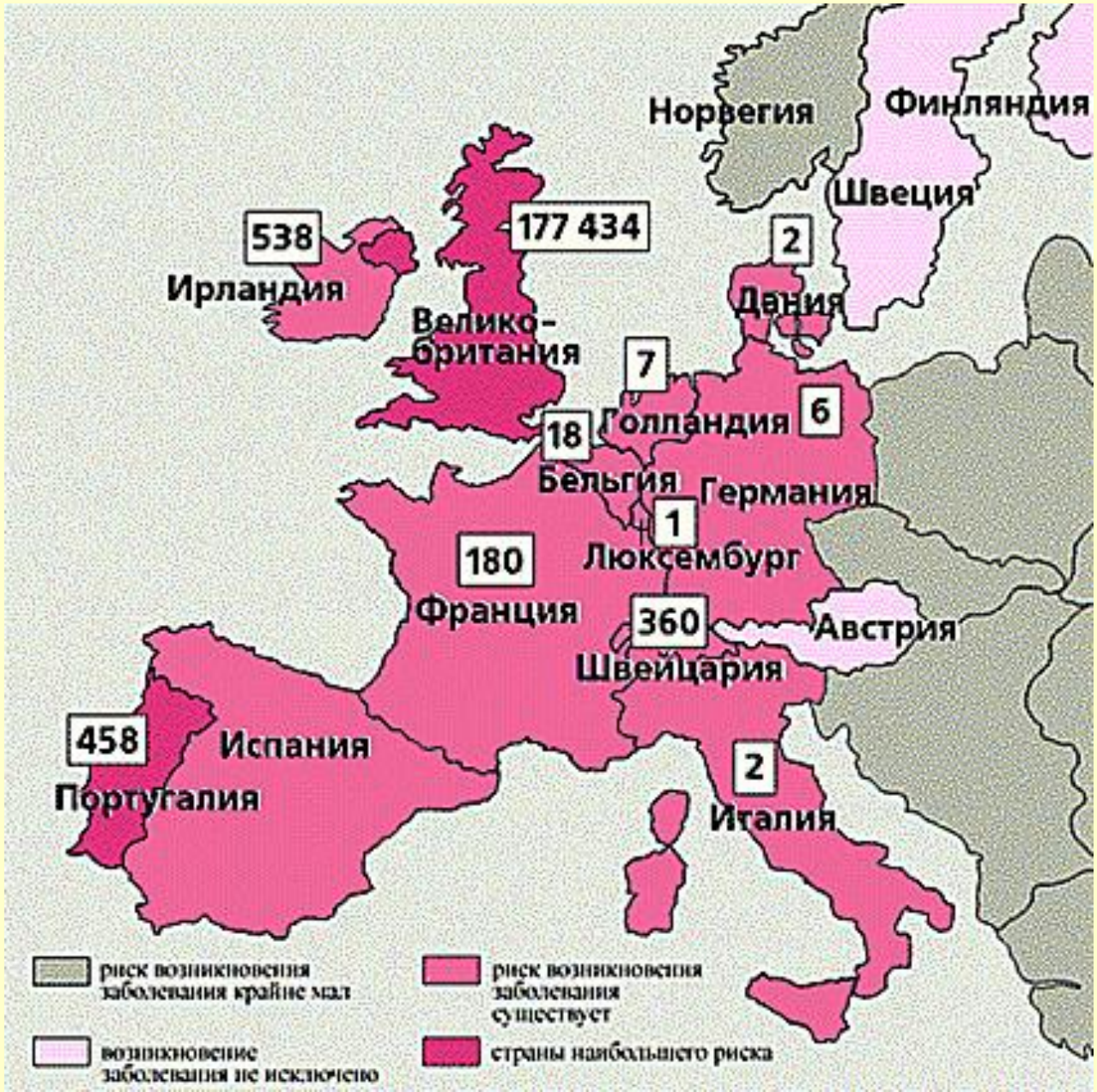
(Замість епіграфа)

Пріонні інфекції

- Це група нейродегенеративних захворювань людини і тварин, об'єднаних на основі спільності етіології (їх збудниками є пріони) і патогенетичних ознак (тривалий інкубаційний період, повільно прогресуючий перебіг, патологічні зміни виключно в нервовій тканині, відсутність ознак інфекційного запалення і імунної відповіді, неминучий летальний результат) .
- Включає 12 повільних інфекцій ЦНС, інакше званих трансмісивні губкоподібні енцефалопатії (ТГЕ).

- При цьому мозок загиблих людей і тварин стає схожий на пористу губку, звідки і назва «Губкоподібна енцефалопатія».

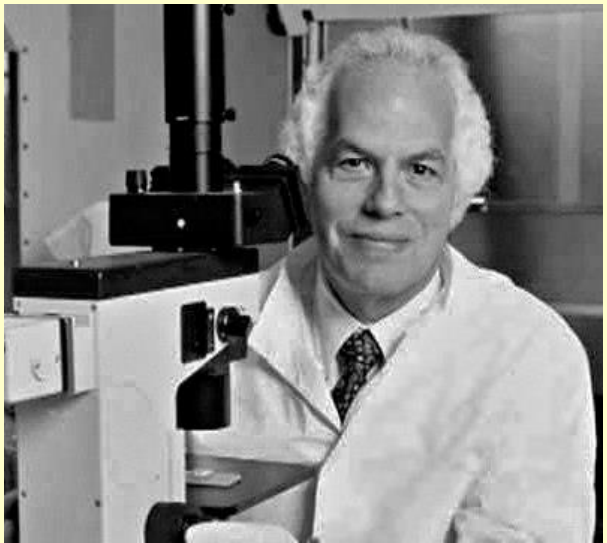
Географічне розповсюдження



Пріони

- Найдрібніші білкові інфекційні частинки, стійкі до процесів інактивації нуклеїнових кислот.
- Термін «пріон» - утворений як анаграма трьох англійських слів - **Proteinacous infectious particle**, що означають «білкова інфекційна частка».
- Створено за аналогією зі словом «віріон».
- Термін запропонував в 1982 р

американський лікар Стенлі Прузінер, в 1997 році йому була присуджена Нобелівська премія за вивчення пріонів.



Морфологія

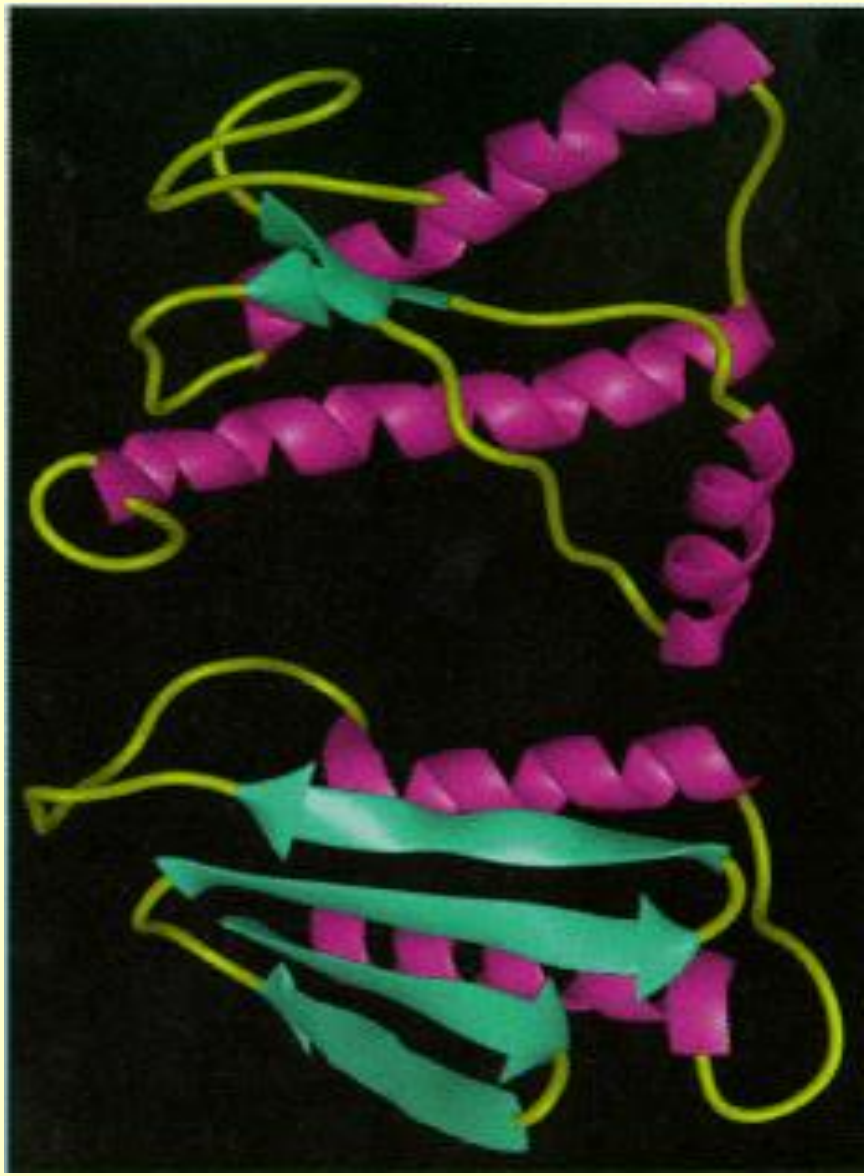
- Пріони мають загальні риси з вірусами. Їх об'єднують:
- малі розміри (проходять через бактеріальні фільтри),
- нездатність розмножуватися на штучних поживних середовищах,
- штамова варіабельність,
- інфекційність,
- патогенність.
- Однак, на відміну від канонічних вірусів, вони представлені низькомолекулярних білком, не містять генетичного матеріалу.

- Таким чином, пріони - безнуклеінові інфекційні структури.
- На електронних фотографіях пріони представлені у вигляді скупчень дрібних паличок, агрегатів, пучків з волокнистої структурою.

Структура пріонів білка здорового (PrPc - вгорі) і патологічного (PrPSc - внизу)

- PrP (англ. Prion protein) - загальне позначення пріонів білка.

- PrP може існувати в двох конформаціях:
- «Здорової» - PrPC, яку він має в нормальних клітинах, в якій переважають альфа-спіралі,
- «Патологічної» - PrPSc, власне пріонів, для якої характерна наявність великої кількості бета-тяжів.



На підставі наявних до 1982 р експериментальних даних С. Прузінер сформулював пріонну концепцію:

- інфекційним агентом є білок PrPSc,
- інфекційний агент PrPSc може репліціювати себе під час відсутності нуклеїнової кислоти,
- перетворення білка з нормальної форми (PrPC) в інфекційну (PrPSc) відбувається шляхом конформаційного переходу,
- конформаційний перехід PrPC в PrPSc може відбуватися спонтанно, приводячи до спорадичних форм пріонних хвороб.
- Він може бути спричинний надходженням в організм патологічної форми PrPSc ззовні (придбані форми пріонних захворювань).
- Нарешті, перехід може відбутися через мутацій в гені Prnp, сприяю щих утворенню PrPSc з PrPC (спадкові форми пріонних захворювань).

Резистентність

Пріони надзвичайно стійкі до традиційних дезинфікуючих і стерилізуючим факторам:

- УФ-опромінення,
- високих температур,
- радіації,
- формаліну,
- четвертинним амонієвим з'єднанням,
- спирту,
- йоду,
- лугів та ін.

- Американські вчені встановили, що заразність хірургічних інструментів, використаних при розтині померлих від хвороби Крейцфельда-Якоба, зберігається навіть після автоклавування.
- У зв'язку з цим уведено в практику автоклавування при 6 атмосферах!
- Інактивація пріонів, у разі сухожарової стерилізації матеріалу, його містить, при температурі 160ºС відзначається тільки після 24 годин!
- Ніяка традиційна кулінарна обробка продуктів харчування - стерілізація, пастеризація, заморожування, ліофілізація, квашення, соління, опромінення a priori неефективна щодо інфекційного пріона.

Механізми передачі інфекції

- аліментарний - при вживанні м'яса, субпродуктів від хворих сільськогосподарських тварин (велика рогата худоба, вівці та ін.) або від людей при ритуальному канібалізм.
- парентеральний (через кров, інфіковані хірургічні інструменти, ін'єкції фармпрепаратів на основі інфікованого сировини тваринного походження (мозку або лімфоїдної тканини), гормонів, ферментів, сироваток і тканин інфікованих тварин або при трансплантації деяких тканин.
- контактний (для Куру - через слизову оболонку очей, носа, шкіру).

Особливе значення мають техногенні причини, що може мати непередбачувані наслідки. Так, спалах ГЕ КРГ в Великобританії була пов'язана з інфікуванням величезного поголів'я корів при їх вигодовуванні м'ясо-кістковим борошном, приготовленої із загиблих від скрепі овець на основі зміненої технологічної обробки, при якій сировині не піддавалося досить ефективною обробці, включаючи зміна режимів стерилізації, що сприяло збереження та накопичення пріонів в борошні. Таким чином, на особа факт подолання пріонами міжвидового бар'єру.

- Близько 10-15% випадків пріонних захворювань мають спадково-сімейний характер (сімейна форма Крейтцфельдта-Якоба, а також синдром Герстманна-Штреусслера, фатальна сімейна інсомнія) - вони передаються за допомогою аутосомно-домінантного типу успадкування.
- Розвиток сімейних форм пріонних хвороб пов'язано зі спадкуванням мутацій в гені пріонів білка PRNP, який локалізований в дистальному ділянці короткого плеча 20-ї хромосоми, точна функція його досі не встановлена.

Групи ризику

- ветеринарні та медичні хірурги,
- нейрохірурги,
- стоматологи,
- патологоанатоми,
- ветексперти,
- працівники скотарських і звіроферм, боєнь,
- працівники м'ясопереробної промисловості,
- реципієнти після пересадки рогівки від донорів, померлих від ХКЯ.

Захворювання, що спричиняються пріонами

Хвороба Крейцфельдта-Якоба
Ятрогенна хвороба Крейцфельдта-Якоба
Спадкова хвороба Крейцфельдта-Якоба
Спорадична хвороба Крейцфельдта-Якоба
Синдром Герстмана-Штрусллера-Шейнкера
Фатальна сімейне безсоння
Куру

Куру - ендемічна повільна інфекція, що характеризується важкими ураженнями центральної нервової системи, прогресуючим порушенням координації руху, ходи; ознобами, ейфорією («хохочущая смерть»); завжди закінчується летально.

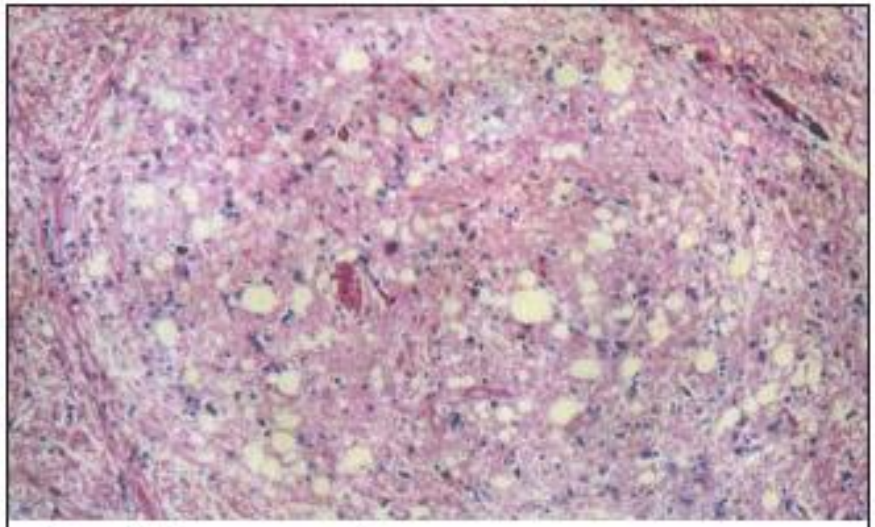


Рис. 1. Гистологический срез головного мозга мужчины, погибшего от куру

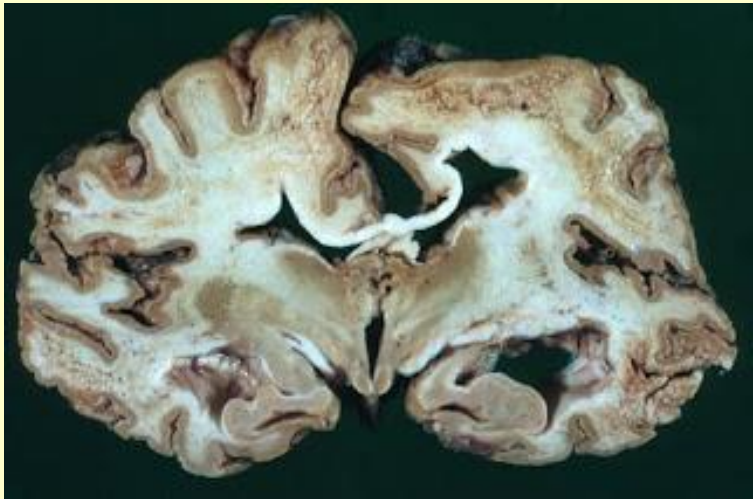
Зустрічається тільки серед жителів Папуа Нової Гвінеї з 1956 р

Механізм поширення інфекції пов'язаний з ритуальним канібалізмом, при якому папуаси в знак поваги до померлих вживали в їжу внутрішні органи, зокрема мозок.

Це захворювання зустрічається переважно у жінок і дітей і вважається невиліковним - через 9-12 місяців воно закінчується смертельним результатом.

В даний час захворюваність значно знизилася після заборони на канібалізм.

- Хвороба Крейтцфельда-Якоба - повільна інфекція людини, що характеризується швидко прогресуючою деменцією і симптомами ураження пірамідних і екстрапірамідних шляхів, міоклонусом (короткі посмикування м'язів).
- У класичному варіанті це дуже рідкісне захворювання (1випадлок на 1 млн. населення, середній вік хворих 64 роки). Зустрічається у всіх країнах світу.
- Інфікування можливе при вживанні недостатньо провареного м'яса, мозку овець і корів з губкообразной енцефалопатією (хворих на коров'ячий сказ), а також сирих устриць і молюсків.
- Вважається, що хвороба може передаватися від людини до людини при введенні гіпофізарних гормонів людини, пересадці мозкових оболонок, за допомогою хірургічних інструментів, а також спадково.
- Виявлення високої захворюваності ХКЯ
- серед пастухів в регіонах, де реєструється
- ТГЕ великої рогатої худоби, свідчить про
- можливу передачу агента від тварин.

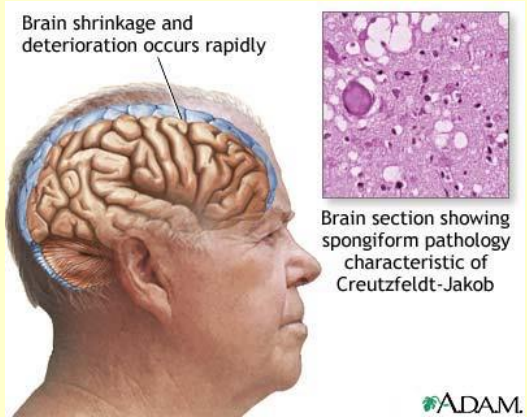


•Синдром Герстманна-Штруслера- повільна інфекція людини, що відноситься до групи підгострих трансмісивних губкообразних енцефалопатії, що характеризується дегенеративними ураженнями центральної нервової системи, що виражається у формуванні губкоподібного стану та утворенню великої кількості амілоїдних бляшок у всіх відділах мозку і виявляється в розвитку повільно прогресуючих атаксії і недоумства з неминучим смертельним результатом.

•Вражає пацієнтів у віці від 20 до 60 років.

• Причиною захворювання є мутація гена пріонового білка.

•Вперше було описано австрійськими неврологами Йозефом Герстманна, Ернстом Штраусслера і Іллею Шейнкера в 1936 році.



•**Сімейна фатальна безсоння** - рідкісне невиліковне, спадкове (домінантно-успадковане пріонне) захворювання, при якому хворий помирає від безсоння. Відомо всього 40 сімей, уражених цією хворобою.

•Відкрита італійським доктором Ігнаціо Ройтером в 1979 р, який спостерігав смерть від безсоння двох родичок дружини.

•В кінці 1990-х вдалося ідентифікувати мутацію, відповідальну за хвороба. Виявилося, що в кодоні 178 гена PRNP, що знаходиться в 20-й хромосомі, аспарагін замінений на аспарагінову кислоту. В результаті форма білкової молекули змінюється, і вона перетворюється в пріон. Під дією приона інші, нормальні білкові молекули теж перетворюються в пріони.

•Це призводить до накопичення амілоїдних бляшок в таламусі, відділі мозку, що відповідає за сон. Спочатку амілоїдні бляшки викликають безсоння, потім ще більш серйозні проблеми, і, нарешті, смерть.

•Хвороба починається у віці від 30 до 60 років, в середньому в 50, триває від 7 до 36 місяців, після чого хворий вмирає.

•**Виділяють 4 стадії розвитку хвороби.**

•Пацієнт страждає від все більш важкою безсоння, панічних атак і фобій. Ця стадія триває в середньому 4 місяці.

•Панічні атаки стають серйозною проблемою, і до них приєднуються галюцинації. Ця стадія триває в середньому 5 місяців.

•Цілковита нездатність спати, супроводжувана швидкою втратою ваги. Ця стадія триває в середньому 3 місяці.

•Пацієнт перестає говорити і не реагує на навколишнє. Це остання стадія хвороби, що триває в середньому 6 місяців, після чого пацієнт помирає.

Аміотрофічний лейкоспонгіоз

Поступово прогресуючі периферичні парези кінцівок і дихальної мускулатури у зв'язку з поразкою мотонейронів передніх рогів спинного мозку. При цьому немає пірамідних, бульбарних або псевдобульбарного розладів.

Вперше це захворювання було виявлено на території Білорусії в 2 областях в 70-х рр. XX ст. В.І. Вотякова і співавт.

Морфологічні дослідження виявляють загибель мотонейронів в спинному мозку, спонгиозний стан його передніх і бічних канатиків, в меншій мірі білої речовини головного мозку при збереженні на всьому протязі пірамідного тракту.

Розцінюється як повільна інфекція.

Тривалість захворювання від 9 міс. до 3,5 років.

Патогенез

- До кінця не вивчений.

- У здорових тварин і людини існує тільки нормальна, клітинна форма, не здатна утворювати амілоїдні фібрили изоформа пріонів білка. Її функції остаточно не з'ясовані. Вона бере участь в клітинної активації і міжклітинному впізнаванні. У нормі гени, пов'язані з чутливістю до ТГЕ, включаючи пріонні, визначають старіння, їх функцією є придушення вікових процесів і хвороб, в зв'язку з чим ознаки загальної патології при ТГЕ схожі з патологічним старінням.
- Пріонних білок кодується геномом клітини хазяїна, що і пояснює його «нечужеродність» і відсутність імунних реакцій.

Патогенез

ПРИОНЫ

конверсия нормального прионного белка в его инфекционную форму в дендритных клетках, лимфатических железах, селезёнке и тимусе.

PrP^{Sc} аккумулируется в клетках, накапливаясь в цитоплазматических везикулах.

распространяются путём аксонального транспорта, из селезёнки через грудной лимфатический проток и далее по нервным стволам

поражение головного мозга и верхних отделов спинного мозга: губкообразное перерождение, разрастание глиальных клеток, накопление амилоидных фибрилл.

индуцируют апоптоз инфицированных клеток.

Процес накопичення інфекційного пріонів білка PrPSc в зараженому організмі відбувається не за рахунок синтезу таких молекул de novo, а за рахунок конформаційних змін вже існуюча і попередньо синтезуються знову молекул клітинної білка PrPC. Цей процес носить лавиноподібний характер

Де відбувається репродукція пріонів?

- Первісна репродукція збудника здійснюється в селезінці та інших органах ретикулоендотеліальної системи (РЕС) і лише потім вдруге в мозковій тканині. Доведено, що РЕМ, так само як і інші вісцеральні органи, толерантні до цитопатичної дії пріонів білка, в зв'язку з чим досі відкрите питання, яким чином відбувається позамозкова репродукція поранених білків до інфекційно значущих титрів. Передбачається наявність декількох механізмів:
- Фіксована персистенция пріонів в лімфоїдних тканинах (з чим пов'язаний тривалий інкубаційний період пріонних інфекцій), що закінчується подоланням їх бар'єрної функції.
- Первинна репродукція пріонів в РЕМ опосередкована через мікроорганізм-господар, який накопичує його до інфекційно-значущих титрів (пріони виявлені у дріжджоподібних грибів);
- Можливо, позамозкова репродукція здійснюється через один з нейтротропних вірусів-ассоціантов, які також викликають повільні інфекції, після чого пріонні білки проявляють свою антигенну активність.

- Особливістю патогенезу пріонних інфекцій є відсутність імунологічної відповіді на інфікування, тобто ні при одній з цих хвороб не спостерігається ні запального процесу, ні гарячкового стану, складу спинномозкової рідини і число клітин в ній залишається нормальними.
- Імунна система нібито не реагує на збудник!

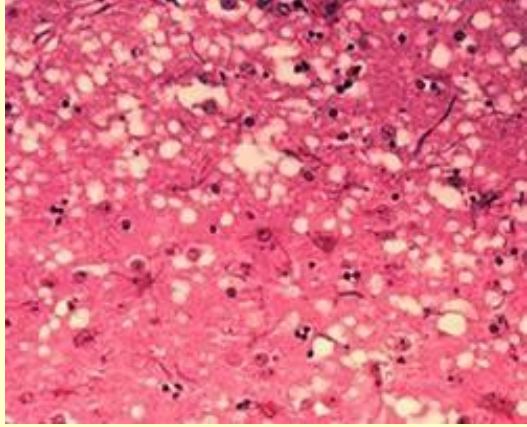
Пояснення даного феномена.

- 1. Інфекційні пріони не відрізняються за своєю хімічною структурою від нормальних, тому сприймаються імунною системою як «своє», на яке поширюється заборона імунного реагування.
- 2. Пріонні білки відносяться до пепсиночутливих білків, які, як правило, не відрізняються імуногенними і антигенними властивостями.
- 3. Імунна відповідь блокована відсутністю антигенпрезентуючої функції фагоцитів.
- 4. Відсутність імунної відповіді - результат конформаційних змін інфекційних пріонів, імітуючи для імунної системи денатуровані структури при збереженні біологічного і контагіозною активності.

Невирішені питання патогенезу пріонних інфекцій

- 1. Яким чином інфекційний пріони проникають в ЦНС?
- 2. Яким чином здійснюється подолання гематоенцефального бар'єру?
- 3. Який механізм (вектор) реалізації його нейротропності?

Клініка



- Все пріонні інфекції об'єднують загальні клінічні ознаки:
- Тривалий інкубаційний період (від року до декількох років і навіть десятків років: 20, 25 і більше).
- Повільно прогресуючий перебіг.
- Патологічні зміни спустошливого характеру виключно в нервовій тканині.

Початкові симптоми - утруднення при ходьбі, втрата координації руху (атаксія, тремор, міоклонус - судомніпосмикування м'язів), що свідчить про порушення діяльності мозку.

Можливі облисіння і пігментація.

Психічні розлади, причому хвороба Крейцфельда-Якоба вже починається з психічних розладів, а при Куру вони розвиваються на більш пізніх стадіях. Спостерігаються порушення пам'яті з настанням недоумства в більш пізніх стадіях.

Неминучий летальний результат.

Як було зазначено вище, патологічні зміни відбуваються в межах ЦНС: ненормальне розмноження астроцитів (опорних клітин мозку), зменшення кількості дендритних шипиків, іноді в мозку з'являються вакуолі, внаслідок чого нервова тканина стає схожою на губку.

Діагностика

- Діагноз встановлюють на підставі клініко-епізоотологічних і патоморфологічних досліджень.
- ЕЕГ, МРТ.
- Дослідження крові. Методом імуноблотинга можна зробити ідентифікацію пріонів в периферичних лімфоцитах.
- Молекулярно-генетичне дослідження. Методи імуноблотинга з використанням моноклональних антитіл на сьогоднішній день дозволяє лікарям розпізнати відхилення PrPSc і PrPc в клітинах.
- ПЛР. Такий метод дає можливість проводити секвенування генома людини, а також проводити аналіз знаходження мутацій гена PRNP.
- Дослідження спинномозкової рідини. Такий аналіз дозволяє уточнити наявність нейроспецифічні білка 14-3-3. Таке дослідження дає можливість продемонструвати неймовірно чітку чутливість, а також специфічність при спорадичних варіантах хвороби.
- Проходять випробування іммуноцітохіміческіе виявлення інфекції пріонових білків за допомогою моно- або поліклональних антитіл в парафінових зрізах постмортального мозкового матеріалу і експрес-тестування білкових маркерів в спинномозковій рідині при доклінічній прижиттєвої діагностики захворювань.

Лікування і профілактика

Лікування не розроблено

- **Всі численні спроби застосування в клінічній практиці антибіотиків, ацикловіру, стероїдів або тіаміну при ХКЯ незмінно закінчувалися невдачею.**
- **Перспективні препарати, що дають підставу для подальших досліджень: група сульфатованих глюкозоаміногліканів, що включає пентозану полісульфат, карагенан, декстрансульфатом 500; полієновий антибіотик амфотерицин В і його похідні, антибіотик антрациклін, порфірини і фталоцианіни, поліаміни та деякі інші.**

Профілактика.

- **Специфічна відсутня.**
- **Загальна - трупи утилізують.**
- **Систематичний суворий ветеринарний та медико-санітарний контроль за продуктами забою при хворобах тварин.**
- **Необхідний суворий санітарний контроль з метою попередження контамінації фармацевтичної продукції і біопрепаратів на основі сировини тваринного походження.**

Висновки:

- Питання безпеки вакцин у зв'язку з поширенням деяких трансмісивних губчастих енцефалопатій (ТГЕ) привертають увагу Комітету вже протягом декількох років.
- У деяких вакцинах використовуються продукти тваринного походження - наприклад, желатин. Хоча очевидно, що основний ризик зараження людини збудниками ТГЕ - наприклад, губчастої енцефалопатією великої рогатої худоби (ГЕКРС) пов'язаний з вживанням в їжу відповідних продуктів, а пов'язаний з вакцинами ризик є чисто теоретичним, ВООЗ підготувала відповідні методичні рекомендації щодо профілактики.
- У цих рекомендаціях описані «категорії інфекційної небезпеки» різних тканин і викладені стратегії зниження потенційного ризику не тільки стосовно до вакцин, але також стосовно препаратів крові і інших фармацевтичних препаратів.

Дякую за увагу!