



MOLEKULOVÝ ZÁKLAD PRIÓNŮV, VÝSKYT PRIÓNÓZ U ĽUDÍ A ZVIERAT A ICH KLINICKÁ CHARAKTERISTIKA A DIAGNOSTIKA (PREHLAD)

Molecular base of prions, occurrence prion disease at people and animals and their clinical characteristic and diagnosing (review)

M. MILUCHOVÁ, A. TRAKOVICKÁ, V. KULÍŠEK, J. BUJKO

Slovenská poľnohospodárska univerzita, Nitra; Slovak University of Agriculture in Nitra

ABSTRACT

The group of transmissible fatal neurodegenerative human and animal diseases was called as TSE (transmissible spongiform encephalopathy). TSE was called sometimes as prion diseases, prion dementia, transmissible degenerative encephalopathy and also as infection cerebral amyloidosis. Isoform cellular protein PrP was considered for diseases genesis. The gene, which encode of prion have in nucleus every cell of human organism occurred. This gene has exclusively in nervous, lymphatic or internal organs tissues transcript. Common characteristic of these diseases are long incubation period (a symptomatic preclinical phase were take several years), some spongiform neurodegenerative changes in brain without original inflammatory process, permanently progressive course without remission with lethal prognosis. Typical pathological finding in brain are vacuolar degeneration of neurons (particularly in grey matter), spongiform degeneration of neurofils, apoptosis and neurons dieback. Further find is accumulation of amyloid scales, there are formed from changed prion protein which is encoded in genetic information of host. This paper gives information about some new knowledge about prion diseases occurrences at people and animals, clinical characteristic, diagnosing and precaution against spread of BSE in the Slovak Republic.

Key words: prion, prion disease, scrapie, TSE, BSE.

Etiológia ochorenia a molekulárny základ vzniku infekčných priónov

Neobvyklé vlastnosti pôvodcu zodpovedného za TSE (transmissible spongiform encephalopathy – transmisívna spongiformná encefalopatia) spolu s klinickými a patologickými charakteristikami týchto chorôb viedli k zložitým štúdiám o povahe infekčného pôvodcu. Štúdie priniesli tri hypotézy, a to hypotézu vírovú, hypotézu virínovú a hypotézu priónovú alebo modifikovaných hostiteľských proteínov rezistentných (odolných) voči účinkom proteinázy.

Na vysvetlenie vzniku TSE sa v dnešnej dobe používa priónová teória, ktorú v roku 1982 navrhol americký neurológ Stanley B. Prusiner, ktorý bol za tento objav ocenený v roku 1997 Nobelovou cenou za fyziológiu a medicínu. Prusiner vytvoril odborný výraz *prión* (PrP) kombináciou slov *proteinaceous infectious particle* (proteínová infekčná častica). Gén kódujúci tento proteín, sa našiel u všetkých testovaných zvierat i u človeka (na 20. chromozóme).

Svoj výskum na identifikáciu infekčného agensu vyvolávajúceho Creutzfeld-Jakobovu chorobu začal Prusiner v roku 1972. Spolu s kolegami izoloval v roku

Correspondence: E-mail: martina.miluchova@centrum.sk

1982 proteín, ktorý bol schopný preniesť infekciu, avšak (na rozdiel od všetkých ostatných známych patogénov) neobsahoval ani DNA ani RNA. Týmto sa vysvetlilo, prečo sú infekčné častice spôsobujúce Creutzfeld-Jakobovu chorobu (CJD) rezistentné voči ultrafialovému žiareniu (ktoré porušuje nukleové kyseliny), pričom normálne bunkové príóny UV-žiarenie rozrušuje. Zdá sa, že samotná zmena formy proteínu (bezo zmeny jeho aminokyselinovej sekvencie) môže zmeniť jeho biologický charakter.

Príónový proteín PrPc je relatívne malá membránová bielkovina, ktorá sa skladá z 254 - 273 aminokyselín a má relatívnu molekulovú hmotnosť 33 - 35 kDa. Je glykozilovaný za vzniku dvoch asparaginových skupín. Je zakotvený na povrchu bunky pomocou glykozil-fosfatidyl-inozitolovej väzby, ktorá sa vytvorila na C-zakončení peptidu (C-terminus). Po odštiepení z bunkovej membrány je vo vode rozpustný peptidový zvyšok degradovaný proteázou K. Molekula PrPc má N-zakončenie (N-terminus), flexibilný koniec a sférickú hlavnú časť, skladajúcu sa z troch α -helixov medzi 144 - 154, 173 - 194, a 200 - 228, a dvoch veľmi krátkych β -skladaných listov medzi 128 - 131 a 161 - 164. Prirodzené príónové proteíny PrPc obsahujú hlavne α -helixy (42 %) a len 3 % štruktúry β -skladaných listy.

PrPsc je považované za špecifický chorobný proteín, má relatívnu molekulovú hmotnosť 27-30 kDa. Priestorové usporiadanie PrPsc predstavuje len 30 % α -helixu, ale až 43 % štruktúry β -skladaných listov PrPsc. Konformácia štruktúry β -skladaných listov dáva proteínu veľkú termodynamickú stabilitu a vysokú chemickú odolnosť, ako aj tendenciu sa zhlukovať a vytvárať tzv. amyloidné plaky. U PrPsc iba prvá tretina aminokyselinového reťazca je enzymaticky degradovaná proteázou K. Zvyšný reťazec je skutočne veľmi stály, pevný a je len čiastočne degradovaný enzýmom (Zahn a i., 2000).

Normálny proteín sa reprodukuje v ribozómoch, kým infekčná forma príónového proteínu len transferuje patologickú konformáciu do príónov syntetizovaných v bunkách. Podľa Kightleyho (2004) RNA, ktorá je genetickým kódom pre PrPc (c - bunkový) je tvorená v jadre a prechádza cez póry karyolémy do cytoplazmy bunky. RNA potom prechádza okolo ribozómov naviazaných na granulované endoplazmatické retikulum (GER). Ribozómy na základe genetickej informácie z jadra syntetizujú vo vnútri cisterien GER proteíny. PrPc nahromadený v GER je pevný. Z GER sa odškrucujú sekrečné vezikuly, ktoré obsahujú PrPc proteín. Vezikuly sa postupne posúvajú až ku Golgiho aparátu (GA). Membrány sekrečných vezikúl (pochádzajúcich z GER) splynú s membránou GA, zároveň sa PrPc dostáva do vnútra cisterien diktyozómov, kde dochádza k jeho hromadeniu a kondenzácii. PrPc sa hromadí na okrajoch cisterien, ktoré sa rozširujú a vytvárajú vezikuly. Tieto

sa odškrucujú a postupujú k cytoplazmatickej membráne. Tu dochádza k spojeniu cytoplazmatickej membrány s vezikulami, ktoré vyprázdnia svoj obsah. Takýmto spôsobom PrPc nasadá na povrch bunky.

PrPc sa stretávajú s ničivými príónmi, ktoré sa nazývajú PrPsc (sc - scrapie). Zdá sa, že ničivé príóny prinúti normálne proteíny k zmene ich formy. Oba typy proteínov, PrPc a jemu zodpovedajúci PrPsc, majú úplne rovnaké chemické zloženie, ale rozdielne tvary. K takejto tvarovej zmene môže prísť na povrchu bunky alebo v kaveolách. Reziduálny PrPc nachádzajúci sa vo vezikulách oddelených od GER môže zmeniť svoj tvar pri kontakte s PrPsc. PrPc je odolný voči degradácii enzýmami obsiahnutými v lyzozómoch, v dôsledku toho sa PrPsc nahromadia v bunke. Vezikuly obsahujúce PrPsc môžu tiež prechádzať ku GA a ochrániť PrPc, ktorý tu je spracovaný. Touto cestou PrPc častice môžu byť zmenené na ničivú formu skôr než sa dostanú na povrch bunky. Pri takýchto mechanizmoch PrPc môže byť menený na PrPsc na rôznych miestach v bunke i na bunke.

TSE sa tak prenášajú prostredníctvom molekuly, ktorá nie je živým organizmom. Je to len sekvencia aminokyselín, teda veľmi jednoduchý peptid alebo bielkovina, ktorej hovoríme *infekčná bielkovina*. Ak sa dostane do živého organizmu, prenikne do každej bunky v tele. Vo väčšine buniek je ale infekčná bielkovina úplne neškodná. Postihnuté sú len tie tkanivá, v ktorých sa prepisujú príóny do bielkovín. Nazývame ich *príónové bielkoviny*, ktoré sú vlastné tomu-ktorému organizmu a majú svoju danú funkciu. Vtedy dochádza k molekulovej interakcii v zmysle silového pôsobenia medzi infekčnou bielkovinou a príónovou bielkovinou (Borsuk, 2001; Crowell, 2004).

Pre prelomenie medzidruhej bariéry sa nepovažuje za kritický celkový počet odlišných aminokyselín v molekule príónového proteínu (PrP), ale podobnosť aminokyselín medzi pozíciami 96 a 167. Práve v tejto oblasti je väčšia podobnosť medzi ľudským a boviným príónom ako medzi ovčím a boviným, a to i napriek tomu, že celkový počet rozdielnych aminokyselín medzi príónmi oviec a hovädzieho dobytká je len sedem a medzi príónmi človeka a hovädzieho dobytká až tridsať (Novák a i., 2001).

Každá bielkovina má svoju štruktúru. Okrem štruktúry v zmysle usporiadania aminokyselín existuje aj štruktúra priestorová či optická. Bielkovina sa vyskytuje v dvoch typoch priestorovej štruktúry, a to ako skladaný list alebo ako alfa-helix. Aj príónová bielkovina sa môže vyskytovať v oboch formáciách. Rozdiel medzi nimi je však v tom, že konformácia príónovej bielkoviny vo forme alfa-helixu je telu vlastná, bunkové enzýmy ju dokážu rozštiepiť a na základe reparačných pochodov je možné vytvoriť novú nepoškodenú bielkovinu, avšak konformácia skladaného listu príónových bielkovín je pre bunkové enzýmy nezničiteľná.

Teda po vstupe infekčnej bielkoviny do bunky nedochádza k jej inzercii do bielkoviny telu vlastnej, ale svojim silovým pôsobením na základe molekulových interakcií ovplyvní priestorovú štruktúru priónových bielkovín. Hlavným problémom je, že zmenená priónová bielkovina vo forme skladaného listu, ktorá je neprístupná reštrikčným enzýmom a teda obnove, silovo pôsobí na ostatné priónové bielkoviny vo forme alfa-helixu a mení ich na svoj obraz. Výsledkom je potom reťazová reakcia, akoby malý výbuch atómovej bomby v mozgu a vznik veľkého množstva priónových bielkovín v nefunkčnej podobe, ktoré sa zhromažďujú a vytvárajú vakuoly, vzniká *amyloidóza*. Bunka, ktorá obsahuje tieto vakuoly prestáva byť funkčnou. Pri postihnutí určitého množstva buniek vznikajú poruchy psychiky, citlivosti a motoriky (Borsuk, 2001; Ferencik a i., 1998; Pan, 1993).

V súčasnosti sa akceptujú dva modely vysvetľujúce konverziu PrPc na PrPsc. Prvý má v angličtine označenie *refolding model* (rozbaľovací). Jeho podstatou je, že za určitých podmienok sa už spomínaná alfa závitnicová štruktúra čiastočne „rozbalí“ a práve v tom momente môže vstúpiť do hry „zvonku“ prichádzajúca molekula PrPc. Tá sa na takto čiastočne rozbalenú alfa molekulu naviaže a následne ju konvertuje už nie do alfa, ale do patologickej beta formy. Celý tento proces môže prebiehať v oboch smeroch. Predpokladom konverzie je prekonanie vysokej energetickej bariéry a tiež spoluúčasť ďalších molekúl (kofaktory), ako sú enzýmy a podobne. V prípade mutácií na géne pre priónový proteín, majú práve tie za následok, že molekula je vnímavejšia na *refolding*. Druhý model dostal označenie ako tzv. *seeding model* (jadierkový). Tu sa predpokladá koexistencia oboch molekúl súčasne, avšak za fyziologických (normálnych) podmienok je PrPc dominantný a PrPsc je ako monomér nestabilný. Ak sa spojí (agreguje) viacero molekúl PrPsc, vytvorí sa určitá kryštalická forma (jadierko) a v tejto forme sa molekuly PrPsc stabilizujú. Na vytvorenie stabilného jadierka treba niekoľko molekúl, čo je za normálnych okolností veľmi nepravdepodobné. Iná je situácia, keď dôjde k infekcii a počet prítomných PrPsc molekúl sa značne zvýši. Ak už jadierko vzniklo, ostatné PrPsc molekuly sa naň veľmi ľahko nabaľujú. Pri dosiahnutí určitej veľkosti sa jadierko rozpadá na menšie časti, tie na seba naväzujú ďalšie molekuly a celý proces sa značne urýchľuje. Konverzii napomáha kyslé prostredie, ktoré je v bunke v lyzozómoch, kde k nej pravdepodobne aj dochádza.

Na samý proces konverzie, okrem už spomínaných bodových mutácií na géne, má vplyv aj homológia (podobnosť) medzi génmi pre prión proteín v rámci jednotlivých živočíšnych druhov. Všeobecne platí, že čím vyššia homológia, tým ľahšie prebieha konverzia a možnosť ochorenia je vyššia. Samozrejme, sú tu aj ďalšie špecifické faktory, pretože ochorenie sa nemusí prejavíť u každého jednotlivca, ktorý sa nakazí (López-Herrera, 2002).

Prusiner však vyslovil pochybnosti o teórii, že prióny postihujú len nervovú sústavu. Podľa neho sa prióny môžu vyskytovať aj v svaloch. V roku 2002 Bosque a i. (2002) objavili prióny v svaloch myši infikovaných priónmi. Zároveň však vyslovili názor, že akumuláciu priónov v kostrovej svalovine iných zvierat treba dokázať, preto je nutné celkové a systematické vyšetrovanie distribúcie priónov v kostrovej svalovine. V roku 2003 Glatzel et al. (2003) objavili abnormálne prióny v svaloch ôsmich z tridsiatich dvoch pacientov postihnutých CJD. O rok neskôr Kovacs et al. (2004) informovali o zistení dostatočného množstva abnormálnych priónových proteínov vo svale pacienta postihnutého sporadickou CJD. V roku 2004 Hamir et al. (2004) experimentálne infikovali dvadsať kusov hovädzieho dobytku, oviec, losov a medvedíkov čistotných, avšak abnormálne prióny v svaloch nedokázali.

Výskyt prionóz u ľudí a zvierat

Kuru

Prvým známym priónovým ochorením centrálnej nervovej sústavy je choroba *kuru*, ktorá bola objavená u členov kanibalského kmeňa Foré v Papuy Novej Guiney. Najväčšia hustota infekčného agensu je v mozgu mŕtvych. Prenos na zdravých jedincov sa uskutočnil rituálnym endokanibalizmom. Inkubačný čas ochorenia bol 4 – 5 rokov u detí, ale u dospelých viac ako 20 rokov. Patogenéza spočíva v pomalej nezápalovej degeneratívnej deštrukcii nervových buniek cerebellum a tých častí mozgu, s ktorými je mozog spojený nervovými dráhami. Ochorenie sa začína nenápadnými poruchami udržiavania rovnováhy v stoji a pri chôdzi. Ochorenie môže začať bolesťami končatín alebo hlavy. Neskôr sa objaví tremor pri cielených pohyboch. Po týždňoch až mesiacoch sa objavujú hyperkinézy, myoklonie alebo dystonické poruchy provokované pohybom. V terminálnom štádiu ochorenia sa rozvíja demencia. V konečných fázach nastáva depresivita, anxieta, paranoja a agresivita. Priebeh ochorenia je progresívny a končí letálne za deväť mesiacov až tri roky. Pre diagnózu je rozhodujúca etnická príslušnosť a geografický pôvod, pretože ochorenie sa nevyskytuje nikde inde vo svete (Gajdusek, 1977; Gibbs et al., 1980; Prusiner, 1993).

Syndróm GSS

Prvá správa o dedičnej priónovej chorobe ľudí bola zverejnená na schôdzi Viedenskej neurologickej a psychiatrickej asociácie v roku 1912. Týkala sa neurologických porúch, ktoré sa v rodine “H” vyskytovali po mnohé generácie (Gambetti et al., 1999). Klinický obraz choroby a neuropatologické zmeny v centrálnej nervovej sústave členov rodiny opísali v roku 1936 Gerstmann, Strüssler a Scheinker (1936). Odvtedy

sa pre túto chorobu začalo používať pomenovanie syndróm GSS. V súčasnosti je u ľudí na géne PRNP známych dvadsaťdva mutácií a sedem polymorfizmov, ktoré podmieňujú familiárne formy TSE a poskytujú vysvetlenie koexistencie genetických a infekčných faktorov pri prionózach (Vrtiak a i., 2000).

Creutzfeldt-Jakobova choroba (CJD)

Táto choroba je snáď najznámejšou transmisívnou špongioformnou encefalopatiou (TSE) ľudí. Bola diagnostikovaná v dvadsiatych rokoch 20. storočia ako smrteľná neurodegeneratívna choroba. Má celosvetovú úmrtnosť približne jeden prípad na milión ľudí ročne a väčšinou postihuje ľudí medzi 55-75 rokom veku. Priebeh choroby je veľmi rozmanitý. V prvom štádiu sú možné zmeny povahových vlastností, zmeny nálad, prejavy úzkosti, hovorí sa o depresívnom syndróme. V druhom štádiu sú charakteristické zabudlivosť, poruchy správania, niekedy halucinácie. Objavujú sa neželané mimovoľné pohyby ako reakcie na vonkajšie podnety. Vyskytujú sa poruchy koordinácie, dokonca aj poruchy reči. V konečnom štádiu sa stáva človek úplne nehybným a umiera v priebehu niekoľkých mesiacov od začiatku symptómov (Glatzel et al., 2003; Tilton, 2004).

Kamin a Patten (1984) v roku 1984 zaznamenali niekoľko prípadov s možnosťou prenosu CJD konzumáciou mozgu divých zvierat. Neskôr v roku 1996 bol identifikovaný *nový variant Creutzfeldt-Jakobovej choroby (nvCJD)*, ktorý by mohol byť v príčinnom vzťahu s epidémiou BSE, a vyslovila sa hypotéza, že táto choroba by mohla byť prenášaná na ľudí (Collinge et al., 1996; Wells et al., 1987; Will et al., 1996). Najnovšie molekulové analýzy dokázali, že prionový kmeň vyvolávajúci nvCJD je totožný s kmeňom, ktorý vyvoláva BSE (Bruce et al., 1997; Hill et al., 1997). To znamená, že nvCJD je vlastne ľudskou BSE (Almond, Pattison, 1997). Klinické symptómy pri nvCJD sa líšia od symptómov CJD. Zmyslové poruchy a zmeny správania sa (strach, depresia) patria k charakteristickým príznakom. Skoro sa vyvíja ataxia, ktorá sa vyskytuje vo všetkých prípadoch (pri sporadickej CJD len v 60 %-ách). V priebehu týždňov sa vyvíja progresívny cerebellárny syndróm so zabudlivosťou a poruchami pamäte. Mnohí pacienti sa stávajú apatickí, chudnú a majú miernu insomniu. Progresívna demencia sa vyvíja vo všetkých prípadoch. Neskôr v priebehu choroby sa vyvinie myoklónus (Tan et al., 1999).

Fatálna familiárna insomniá (FFI) a Alperov syndróm

Patria k menej známym TSE ľudí. *Fatálna familiárna insomniá (FFI)* je charakteristická ťažkou selektívnou atrofiou buniek talamu a *Alperov syndróm* je geneticky podmienenou TSE dočiat (Heaphy, 2002).

Bovinná spongioformná encefalopatia (BSE)

Patrí spolu scrapiami k najznámejším transmisívnym spongioformným encefalopatiám. Ide o afebrilnú, letálne končiacu chorobnú jednotku, ktorá je prenosná na viaceré druhy prežúvavcov, mäsožravcov a pravdepodobne aj na človeka. Vzniká v dôsledku degeneratívneho procesu centrálného nervového systému. Charakteristická je typickým histopatologickým nálezom – vakuolizáciou neurónov v centrálnej nervovej sústave postihnutých kráv. Vakuolizácia neurónov spôsobuje špongiovitý vzhľad mozgového tkaniva, od čoho je odvodený aj názov choroby (Levkut a i., 2001).

Prvá BSE, tiež známa ako choroba šialených kráv, prepukla vo Veľkej Británii v roku 1986. Bol to dôsledok kŕmenia dobytky proteínovým doplnkom mäso-kostnou múčkou z oviec, ktorá bola infikovaná scarpou (Vrtiak a i., 2000). Kvôli zamedzeniu rozširovania BSE z dobytky na ostatné domestikované zvieratá bol v roku 1988 vydaný vo Veľkej Británii zákaz obohacovať krmivo pre dobytky proteínmi pochádzajúcimi z prežúvavcov. Podobná regulácia bola kvôli prevencii rozširovania prionu zo zvieracích produktov na ľudí zavedená i v Európskych krajinách a v USA (Baron et al., 1999).

Podозrenie na prvý prípad výskytu BSE v Slovenskej republike bolo vyslovené 27. 9. 2001 na základe pozitívnych výsledkov rýchlych laboratórnych testov na BSE Štátnym veterinárnym ústavom vo Zvolene na oddelení veterinárnej laboratórnej diagnostiky BSE. Išlo o 6-ročnú kravu z domáceho chovu na farme Horná Žďaňa (okres Žiar nad Hronom), majiteľom ktorej bola Vtáčnik s.r.o., Dolná Trnávka. Po vyšetrení vzorky v Národnom referenčnom laboratóriu SRN v Tübingene sa toto podozrenie potvrdilo. Výšetrenie bolo vykonané špecifickou diagnostickou metódou EÚ – Imunoblottom.

BSE je pomaly prebiehajúce ochorenie s dvojfázovým priebehom. Prvá fáza, tzv. *prodromálne štádium* je sprevádzané všeobecnými prejavmi ochorenia. Prejavuje sa postupným chudnutím pri dobrej žravosti, úbytkom laktácie až zasušením pri zmenšenom brušnom objeme, a afebrilite. Vegetatívny nervový systém v tomto období býva alterovaný vo forme brachykardie a hypomotoriky bachora. Sprievodná vagotónia je ovplyvniteľná atropínovou skúškou, kedy sa po aplikácii atropínu frekvencia srdca normalizuje (Bíreš a i., 2001). Prodromálne štádium po neurčitej dobe prechádza do postupných odchýlok v chovaní a nervových porúch. Druhá fáza, *klinicko-manifestačné štádium* má zreteľné prejavy postihnutia centrálného nervového systému. Ide o systémový prejav, sprevádzaný alteráciou vedomia (oddeľovanie sa od skupiny, samotárstvo, ťažká manipulácia pri dojení, presunoch, premiestňovaní, hrabanie a kopanie končatinami, zvýšená dráždivosť a ľakavosť, vzpurnosť až zúrivosť, pričom pokojné a dráždivé obdobia sa môžu striedať), psychomotorickými poruchami (zvíra stojí

meravo, má rozkročený postoj, chôdza je kymácavá, strnulá, má hypermetrický krok predných a zadných končatín, zviera podkopáva pod brucho, strihá ušami, krúti krkom a potriasa hlavou, olizuje sa, vyhŕňa mulec, občas bučí a vydáva neprirodzené zvuky, škripe zubami, ťažko vstáva a zakrátko uľahne), hypersenzibilitou a v paralytickom prejave nevyhnutne končí letálne.

Scrapia

So *scrapiou* je dôvodne spájaný vznik BSE. Scrapia ako jediná transmisívna spongioformná encefalopatia vykazuje existenciu viac ako dvadsiatich rozdielnych kmeňov patogénnych priónov (Baron et al., 1999). Je to degeneratívne ochorenie oviec a kôz, ktoré postihuje centrálnu nervovú sústavu. Názov pochádza zo snahy chorých oviec škriabať sa (Holko a i., 2001). Toto ochorenie bolo potvrdené už pred sto rokmi, no nebola známa príčina jeho vzniku. Najnovší pokrok v molekulovej biológii umožnil identifikovať gén, ktorý sa dáva do súvislosti s vnímavosťou voči scrapii. Označuje sa PrP priónový gén.

Priónový gén PrP sa vyskytuje vo viacerých variantoch – alelách, ktoré sa líšia tromi kodónmi. Alela PrP génu sa skladá z 256 kodónov. Zistilo sa, že schopnosť priónového proteínu zmeniť sa na patologickú formu závisí najmä od jeho primárnej štruktúry, konkrétne v kombinácii aminokyselín na troch miestach molekuly priónového proteínu. Tieto tri aminokyseliny sú kódované na kodónoch 136, 154 a 171, pričom práve varianty týchto troch aminokyselín sú podstatou polymorfizmu PrP génu, ktorý nesporne súvisí s vnímavosťou na scrapiu.

Klinickými príznakmi scrapie sú bojzlivosť, ktorá sa strieda s nadmernou dráždivosťou až agresivitou, nepokoj, niektoré zvieratá manifestujú demenciu, tremor hlavy, krku a postupne celého tela, škriabanie kože, nekoordinovaný pohyb, slintanie a potenie. Priemerná dĺžka klinických prejavov je asi 4 mesiace (Holko a i., 2001).

Ďalšie priónózy zvierat

Zdokumentovanou priónózou vyskytujúcou sa u zvierat je *transmisívna norková encefalopatia (TME)* (Tilton, 2004). Ide o zriedkavé neurodegeneratívne ochorenie noriek, ktoré sa vyskytuje výlučne u farmovo chovaných noriek. Za zdroj nákazy sa považuje krmivo. Norky majú podobné príznaky ako ovce so *scrapiou* a navyše sú agresívne k druhom a ošetrovateľom (Baron et al., 1999).

Pred desaťročiami bola v Amerike dokázaná *chronická zhubná choroba (CWD)* u losov a vysokej zveri. Je zatiaľ jedinou známou transmisívnou spongioformnou encefalopatiou vyskytujúcou sa u voľne žijúcich zvierat. Prvýkrát bolo ochorenie detegované v roku 1967 v severnom Colorade a juhovýchodnom Wyomingu. Zdroj nákazy nie je známy. Klinickými prejavmi sú zmena

chovania, nadmerné slintanie, chronická strata na váhe s následným úhynom (Tilton, 2004).

V roku 1990 bola u 6-ročnej mačky domácej prvýkrát zaznamenaná *felinna spongioformná encefalopatia (FSE)*. Objavili sa u nej chronické progresívne zmeny v správaní a bola pozorovaná celková ataxia, ako aj psychomotorické záchvaty (Demierre et al., 2002; Fraser et al., 1994).

Niektoré príznaky a diagnostika

Priónové choroby môžu byť infekčné (kontaminácia potravou alebo chirurgickým zákrokom) alebo dedičné (kontaminácia priónmi môže byť odovzdaná dedične).

Transmisívne spongioformné encefalopatie sú charakteristické stratou riadenia motoriky, zhoršením zraku, šklbaním svalov (myoklónia), demenciou a inými rozmanitými neurologickými symptómami, ďalej paralizou, chudnutím a nakoniec smrťou. Detaily týkajúce sa patogenézy sú do značnej miery neznáme. Tieto choroby sú vždy smrteľné a nie je dokázané liečenie alebo prevencia. U ľudí sa vyskytujú zriedkavo a nadobúdajú rôzne formy.

Diagnostika priónových chorôb vychádza z klinických príznakov, overuje sa na základe typického histopatologického nálezu v centrálnej nervovej sústave a dôkazom prítomnosti patologického priónového proteínu buď imunohistochemicky (Western blotom), alebo izolovaním a znázornením pomocou elektrónového mikroskopu. Dôkaz sa zvyčajne hľadá až po smrti, pitvou sa zisťuje, či sú v mozgu prítomné vakuoly, amyloidné proteínové sedimenty a astrogliá (Tilton, 2004).

Dnes už existujú aj rýchlejšie diagnostické testy (Prionoc-check test, Platelia BSE test, Enfer TSE test), ktoré sú schopné rozlíšiť zdravý hovädzí dobytok od dobytka postihnutého BSE za predpokladu, že je starší ako 30 mesiacov. Diagnostické rozlíšenie medzi infekčnými a neinfekčnými priónmi sa dosahuje pomocou enzýmu proteáza K. Tento enzým je schopný nastrihať proteínový reťazec neinfekčného priónu bezo zvyšku na krátke fragmenty tzv. oligopeptidy. Teda pôsobením proteázy je normálna forma PrP rozložená, zatiaľ čo pri formách PrP^{Sc} a PrP^{BSE} dochádza k zmene pôvodných z 32 – 35 kD na 27 – 30 kD. Zostávajúci fragment odolný proti proteáze sa označuje PrP 27 - 30. Tento fragment je vizualizovaný pomocou monoklónovej protilátky (Novák a i., 2001).

Súčasný testy sa nedajú použiť na intravitálnu sérologickú diagnostiku ochorenia BSE. Avšak je snahou využiť na zostavenie sérologického testu objav, že zymogén v krvi človeka a myši, tzv. plazminogén, sa špecificky viaže s infekčnými priónmi, ale neviaže sa so zdravými priónmi (Fischer, 2000).

Príčinou javu, že sa prióny nedajú detegovať prostredníctvom imunitného systému je skutočnosť, že ich "neškodná" forma je v tele prítomná už od narodenia (Prusiner, 1995).

Opatrenia proti zavlečeniu a šíreniu BSE u nás

Štátna veterinárna správa Slovenskej republiky 23.11.1993 zaradila BSE do zoznamu chorôb povinných hláseniu. K prevencii proti zavlečeniu a šíreniu BSE u nás vydala Štátna veterinárna správa SR niekoľko opatrení. Patrí k nim:

1. zákaz používania kostných a mäsokostných múčok a kafilerických tukov i napriek tomu, že mäsokostné múčky neboli súčasťou receptúr kŕmnych zmesí pre hovädzí dobytok a malé prežúvavce. Pri výrobe kŕmnych zmesí pre dobytok sa nepripúšťa pridávať mäsokostnú múčku do kŕmnych dávok v akomkoľvek množstve.
2. zákaz dovozu všetkých druhov mäsokostných múčok a kŕmív derivovaných z prežúvavcov a tranzit všetkých kategórií živého hovädzieho dobytku a oviec cez územie Slovenska ak pochádzajú z Veľkej Británie, Írskej republiky, Švajčiarska, Portugalska a Francúzska.
3. vydanie metodického pokynu č. 4290/98-400 (1998) na zabezpečenie karantény a trvalej kontroly hovädzieho dobytku dovezeného z krajín, v ktorých sa vyskytla BSE, za stáleho sprísneného štátneho veterinárneho dozoru, identifikácie jalovic a ich potomstva, ako aj evidenciu presunov.
4. vydala veterinárne požiadavky na kontrolu chorôb zvierat, hlásenie chorôb zvierat, identifikáciu a registráciu zvierat, zdravotné požiadavky pri premiestňovaní živých zvierat a zárodočných produktov, požiadavky na dovoz živých zvierat a zárodočných produktov, ktoré vstupujú na územie Slovenskej republiky z tretích krajín, ochranu zvierat, dodržiavanie opatrení na ochranu zdravia zvierat pri produkcii a uvádzaní produktov živočíšneho pôvodu na trh, v záujme ochrany zdravia ľudí dodržiavanie opatrení pri produkcii a uvádzaní produktov živočíšneho pôvodu na trh, požiadavky na dovoz produktov živočíšneho pôvodu, ktoré vstupujú na územie Slovenskej republiky z tretích krajín, nakladanie s odpadmi živočíšneho pôvodu a ich spracovanie a prevencia proti patogénom v kŕmivách živočíšneho pôvodu podľa zák. NR SR č. 488/2002 Z.z..

Pre prevádzkovateľov kafilerického zariadenia nadobudol v roku 1999 platnosť zákon NR SR č. 337/1998 Z.z. (ustanovenia § 52 ods. 2 b) podľa ktorého je prevádzkovateľ povinný vykonávať sterilizáciu nebezpečných a zvláštnych odpadov pri teplote minimálne 133 °C, tlaku 0,3 MPa počas 20 minút za účelom zneškodnenia choroboplodných zárodkov. Tento proces musí byť registrovaný a zaznamenaný registračnými prístrojmi.

SÚHRN

Pojmom transmisívna spongioformná encefalopatia sa označuje skupina prenosných fatálnych neurodegeneratívnych ochorení ľudí a zvierat. Niekedy sa označujú ako priónové choroby, priónové demencie, prenosné degeneratívne encefalopatie a tiež infekčné mozgové amyloidózy. Za pôvodcu chorôb sa pokladá izoforma bunkového proteínu PrP. Gén, ktorý kóduje prión sa vyskytuje v jadre každej bunky ľudského organizmu. Prepisuje sa výhradne v nervovom tkanive, lymfatickom tkanive, či v tkanive vnútorných orgánov. Spoločným znakom týchto chorôb je dlhá inkubačná doba (až niekoľko rokov trvajúca symptomatická predklinická fáza), hubovité neurodegeneratívne zmeny mozgu bez pôvodných zápalových zmien, trvalo progresívny priebeh bez remisí a letálne zakončenie. Typickým patologickým nálezom v mozgu (hlavne v sivej hmote) sú vakuolárna degenerácia neurónov, spongioformná degenerácia neurofilov, apoptóza, odumieranie neurónov a akumulácia amyloidných plakov pozostávajúcich zo zmeneného priónového proteínu, ktorý je zakódovaný v genetickej výbave hostiteľa. V tejto súhrnnej práci sú uvedené najnovšie poznatky o výskyte prionóz u ľudí a zvierat, klinická charakteristika a diagnostika, ako aj opatrenia proti zavlečeniu a šíreniu BSE v SR.

Kľúčové slová: prión, priónové ochorenie, scrapie, TSE, BSE

Táto práca bola podporovaná Agentúrou na podporu vedy a techniky prostredníctvom finančnej podpory č. APVT – 20 – 006102 Využitie biotechnologických metód pre šľachtenie, výživu a ochranu biodiverzity v špeciálnych odvetviach živočíšnej výroby.

LITERATÚRA

- ALMOND, J. – PATTISON, J. 1997. Human BSE. In: *Nature*, vol. 389, 1997, p. 437-438.
- BARON, T. G. M. – MADEC, J. Y. – CALAVAS, D. 1999. Similar signature of the prion protein in scrapie and bovine spongiform encephalopathy linked disease. In: *J. Clin. Microbiol.*, vol. 11, 1999, p. 3701-3704.
- BARTKO, D. – DROBNÝ, M. 1991. *Neurológia*. Martin: Osveta, 1991, s. 529-535. ISBN 80-217-0305-9
- BÍREŠ, J. – SLANINA, L. – VAJDA, V. 2001. Klinická diferenciálna diagnostická štúdia BSE a suspektných klinických ochorení v podmienkach SR. In: *Slov. Veter. Čas.*, roč. 26, 2001, č. 4, s. 210-213.
- BORSUK, B. 2001. Prionózy – princíp vzniku a účinku. In: *Slov. Veter. Čas.*, roč. 26, 2001, č. 4, s. 221-222.
- BOSQUE, P. J. – RYOU, C. – TELLING, G. – PERETZ, D. – LEGNAME, G. – DEARMOND, S. J. – PRUSINER, S. B. 2002. Prions in skeletal muscle. In: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, vol. 99, no. 6, 2002, p. 3812-3817.
- BRUCE, M.E. – WILL, R.G. – IRONSIDE, J.W. – McCONNELL, I. – DRUMMOND, D. – SUTTLE, A. –

- McCARDLE, L. – CHREE, A. – HOPE, J. – BIRKETT, C. – COUSENS, S. – FRASER, H. – BOSTOCK, C. J. 1997. Transmissions to mice indicate that “new variant” CJD is caused by the BSE agent. In: *Nature*, vol. 389, 1997, p. 448-501.
- COLLINGE, J. – SIDLE, K. C. L. – MEADS, J. – IRONSIDE, J. – HILL, A. F. 1996. Molecular analysis of prion strain variation and the aetiology of “new variant” CJD. In: *Nature*, vol. 383, 1996, p. 685-690.
- CROWELL, S. 2004. How Now, Mad Cow. <http://www.rit.edu/~sbib350/posters/prions.htm>
- DEMIERRE, S. – BOTTERON, C. – CIZINAUSKAS, S. – DOHERR, M.G. – ATZER, R. – JAGGY, A. 2002. Feline spongiform encephalopathy. First clinical case in Switzerland. In: *Schweiz. Arch. Tierheilkd.*, vol. 144, no.10, 2002, p. 550-557.
- FERENČÍK, M. – NOVÁK, M. – MIKULA, I. – SOKOL, J. 1998. Prionózy – neurodegeneračné choroby vyvolané priónmi, nákazlivými molekulami proteínovej povahy. In: *Bratisl. Lek. Listy*, roč. 99, 1998, č. 8-9, s. 486-498.
- FISCHER, M. B. – ROECKL, CH. – PARIZEK, P. – SCHWARZ, H. P. – AGGUZI, A. 2000. Binding of disease-associated prion protein to plasminogen. In: *Nature*, vol. 408, 2000, p. 479-483.
- FRASER, H. – PEARSON, G.R. – MCCONNELL, I. – BRUCE, M. E. – WYATT, J. M. – GRUFFYDD-JONES, T. J. 1994. Transmission of feline spongiform encephalopathy to mice. In: *Veter. Rec.*, vol. 134, no 17, 1994, 449 p.
- GAJDUSEK, D.C. 1977. Unconventional viruses and the origin and disappearance of kuru. In: *Science*, vol. 197, 1977, p. 943-960.
- GAMBETTI, P. – PETERSEN, R. B. – PARCHI, P. – CHEN, S. G. – CAPLLARI, S. 1999. Inherited prion diseases. p. 509 – 584. In: PRUSINER, S.B., Prion biology and diseases. New York: Cold Spring Harbour Laboratory Press, 1999, p. 930. ISBN 0-87969-693-1
- GERSTMANN, J. – STRÄUSSLER, E. – SCHEINKER, Y. 1936. Über eine eigenartige hereditär-familiäre Erkrankung des Zentraler-Nervensystems. In: *Z. Neurol. Psychiatr.*, vol. 154, 1936, p. 736-762.
- GIBBS, D. J. jr. – AMYX, H. L. – BACOTE, A. – MASTERS, C. – GAJDUSEK, D. C. 1980. Oral transmission of kuru, Creutzfeldt-Jakob disease, and scrapie to non-human primates. In: *J. Infect. Dis.*, vol. 142, 1980, p. 205-208.
- GLATZEL, M. G. 2003. Extranuclear pathologic prion protein in sporadic Creutzfeldt-Jakob disease. In: *New Engl. J. Med.*, vol. 349, 2003, p. 1812-820.
- HAMIR, A. N. – MILLER, J. M. – CUTLIP, R. C. 2004. Failure to detect prion protein (PrPres) by immunohistochemistry in striated muscle tissues of animals experimentally inoculated with agents of transmissible spongiform encephalopathy. In: *Veter. Pathol.*, vol. 41, no 1, 2004, p. 78-81.
- HEAPHY S. 2002. „Prion Disease.“ <http://www.micro.msb.le.ac.uk/335/Prions.html>.
- HILL, A. F. – DESBRUSLAIS, M. – JOINER, S. – SIDLE, K. C. L. – GOWLAND, I. – COLLINGE, J. – DOEY, L. J. – LANTOS, P. 1997. The same prion strain causes nvCJD and BSE. In: *Nature*, vol. 389, 1997, p. 448-450.
- HOLKO, I. – NOVAČKOVÁ, A. – KANTÍKOVÁ, M. – KMEŤ, V. 2001. Eradikácia scrapie metódou genetickej selekcie vnímavých zvierat vo svete a na Slovensku. In: *Slov. Veter. Čas.*, roč. 26, 2001, č. 4, s. 206-209.
- HUNTER, N. 1996. Genotyping and susceptibility of sheep to scrapie, prion diseases. Totowa (New Jersey, USA): Humana press Inc, 1996, p. 211-220, ISBN 0-89603-342-2.
- KAMIN, M. – PATTEN, B.M. 1984. Creutzfeldt-Jakob disease. Possible transmission to humans by consumption of wild animal brains. In: *Amer. J. Med.*, vol. 76, 1984, p. 142-145.
- KIGHTLEY, R. 2004. Mad cow disease images and BSE pictures illustration of prion replication and spread at the cellular level. <http://www.rkm.com.au/BSE>.
- KOVACS, G. G. – LINDECK-POZZA, E. – CHIMELLI, L. – ARAUJO, A. Q. – GABBAI, A. A. – STROBEL, T. – GLATZEL, M. – AGUZZI, A. – BUDKA, H. 2004. Creutzfeldt-Jakob disease and inclusion body myositis. Abundant disease-associated prion protein in muscle. In: *Ann. Neurol.*, vol. 55, no. 1, 2004, p. 121-125.
- LEVKUT, M. – LEVKUTOVÁ, M. – REVAJOVÁ, V. 2001. Patologicko-anatomická a histologická diagnostika bovinnej špongioformnej encefalopatie (BSE). In: *Slov. Veter. Čas.*, roč. 26, 2001, č. 4, s. 214-216.
- LÓPEZ-HERRERA, A. – HAENN, A. – URCUQUI-INCHIMA, S. 2002. The challenge of prion diseases, an emergency in humans and bovines. In: *Veter. Méx.*, vol. 33, no 4, 2002, p. 421-442.
- Metodický pokyn č. 4290/98-400 na zabezpečenie karantény a trvalej kontroly hovädzieho dobytku dovezeného z krajín, v ktorých sa vyskytla BSE, stáleho sprisneného štátneho veterinárneho dozoru, identifikácie jalovic a ich potomstva, ako aj evidenciu presunov. Bratislava: Štátna veterinárna správa SR, 1998.
- NOVÁK, M. – HLINKA, D. – MAGIC, D. 2001. Rýchla diagnostika bovinnej špongioformnej encefalopatie (BSE). Súčasná situácia na Slovensku a vo svete. In: *Slov. Veter. Čas.*, roč. 26, 2001, č. 4, s. 200-205.
- PAN, K. M. 1993. Conversion of alpha-helices into beta-sheets features in formation of scrapie prion proteins. In: *Proc. Natl. Sci. USA*, vol. 90, 1993, p. 10962-10966.
- PRUSINER, S. B. 1993. Genetic and infectious prion diseases. In: *Arch. Neurol.*, vol. 50, 1993, p. 1129-1153.
- PRUSINER, S.B. 1995. The prion diseases. In: *Sci. Amer.*, vol. 272, 1995, p. 48-57.
- TAN, L. – WILLIAMS, M. A. – KHAN, M. K. – HUNTER, C. 1999. Risk of transmission of bovine spongiform encephalopathy to humans in the United States. In: *J. Amer. Med. Assoc.*, vol. 281, 1999, no. 24, p. 2330-2339.
- TILTON, D. 2004. Decontaminating the indestructible prion. <http://www.WildIrisMedicalEducation>
- VRTIAK, O. J. – NOVÁK, M. – MIKULA, I. – TKÁČIKOVÁ, E. – SOKOL, J. 2000. Genotypovanie pri scrapie. In: *Slov. Veter. Čas.*, roč. 25, 2000, č. 5, s. 267-270.
- WELLS, G. A. – SCOTT, A. C. – JOHNSON, C. T. – GUNNING, R. F. – HANCOCK, R. D. – JEFFREY, M. – DAWSON, M. – BRADLEY, R. 1987. A novel progressive spongiform encephalopathy in cattle. In: *Veter. Rec.*, vol. 121, 1987, p. 419-420.
- WILL, R. G. – IRONSIDE, J. W. – ZIEDLER, M. - et al. 1996. A new variant of Creutzfeldt-Jakob disease in the UK. In: *Lancet*, vol. 347, 1996, p. 921-925.
- WILL, R. G. 1999. The transmission of prions to humans. In: *Acta Paediat. Suppl.*, vol. 88, 1999, p. 28-32.
- ZAHN, R. – LIU, A. – LÜHRS, T. – RIEK, R. – SCHROETTER,

CH. –GARCIA, F. –BILLETTER, M. –CALZOLAI, L.
–WIDER, G. –WÜTHRICH, K. 2000. NMR solution
structure of the human prion protein. In: *Proc. Natl. Acad.
Sci.*, vol. 97, no. 1, 2000, p.145-150.
Zákon NR SR č. 337/1998 Z.z. o veterinárnej starostlivosti a o

zmene a doplnení niektorých ďalších zákonov. Bratislava,
Ministerstvo spravodlivosti SR, 1998.
Zákona NR SR č. 488/2002 Z.z. o veterinárnej starostlivosti a
o zmene niektorých zákonov v znení neskorších predpisov.
Bratislava, Ministerstvo spravodlivosti SR, 2002.

Adresa autorov: mená aj titulmi všetkých autorov a celá adresa