



Современное состояние проблемы прионных болезней и причины их опасности для человека и животных

Зуев В.А., Кальнов С.Л., Куликова Н.Ю., Гребенникова Т.В.

Институт вирусологии им. Д.И. Ивановского ФГБУ «Национальный исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии имени почётного академика Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России, 123098, Москва, Россия

В обзоре представлено современное состояние проблемы прионов и прионных болезней с акцентом на эпидемиологическую и эпизоотическую опасность возбудителей, вызывающих смертельные нейродегенеративные болезни человека и животных. Описаны результаты молекулярно-генетических исследований конверсии нормальных молекул прионного белка (PrP^c) в их инфекционные формы (PrP^d), устойчивость последних к физическим методам дезинфекции, особенно к высоким температурам, а также их способность преодолевать межвидовые барьеры, увеличивая при этом вирулентность. Подчёркнуты необычно продолжительный инкубационный период, возможность заражения не только алиментарным путём, – при употреблении в пищу даже термически обработанного мяса заражённых животных, но и вследствие хирургических вмешательств, особенно нейрохирургических и офтальмологических, а также в результате использования иммунобиологических препаратов. Отсутствие средств лечения прионных болезней обосновывает крайнюю необходимость разработки отечественных высокочувствительных тест-систем, способных эффективно обнаруживать инфекционный прионный белок прижизненно, на доклинической стадии заболевания. Кратко описаны новейшие методы автоматической белковой амплификации и идентификации прионных белков как наиболее перспективные направления исследований в области диагностики прионных болезней.

Ключевые слова: обзор; инфекционный прионный белок PrP^d; термостабильность; конверсия.

Для цитирования: Зуев В.А., Кальнов С.Л., Куликова Н.Ю., Гребенникова Т.В. Современное состояние проблемы прионных болезней и причины их опасности для человека и животных. *Вопросы вирусологии*. 2020; 65(2): 71-76. DOI: <https://doi.org/10.36233/0507-4088-2020-65-2-71-76>

Для корреспонденции: Зуев Виктор Абрамович, д-р мед. наук, проф., глав. науч. сотр. ФГБУ «Национальный исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии имени почётного академика Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России, 123098, Москва. E-mail: zuev.factor@mail.ru

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Участие авторов: сбор и обработка материалов – Зуев В.А., Кальнов С.Л.; написание текста – Зуев В.А., Кальнов С.Л., Гребенникова Т.В.; заключение, научное редактирование – Гребенникова Т.В.; резюме, общая редакция – Куликова Н.Ю.

Поступила 18.03.2020

Принята в печать 31.03.2020

Prion diseases and the biosecurity problems

Victor A. Zuev, Sergey L. Kalnov, Nadezhda Yu. Kulikova, Tatyana V. Grebennikova

National Research Centre for Epidemiology and Microbiology named after the honorary academician N.F. Gamaleya, Moscow, 123098, Russia

The review presents the current state of the problem of prions and prion diseases with an emphasis on the epidemiological and epizootological risks of pathogens that cause fatal neurodegenerative diseases in humans and animals. The results of molecular genetic studies of the conversion of normal PrP^c prion protein molecules to infectious forms of PrP^d, resistance to physical disinfection methods, in particular exceptional thermal stability, and their ability to overcome interspecific barriers, while increasing virulence, are described. The possibility of infection not only by nutrition, when eating even heat-treated meat of sick animals, but also due to surgical interventions, especially neurosurgical and ophthalmic, as well as the use of immunobiological preparations, are emphasized. Since there are currently no means for the effective treatment of prion diseases in the world, attention is drawn to the high degree of relevance for the biosafety of the country to develop domestic highly sensitive test systems that can effectively detect prion infectious protein *in vivo* at the preclinical stage of the disease. The latest methods of automatic protein amplification and identification of prion proteins are briefly described as the most promising areas of research in the field of diagnosis of prion diseases.

Keywords: review; proteinaceous infectious particle PrP^d; conversion; thermal stability.

For citation: Zuev V.A., Kalnov S.L., Kulikova N.Yu., Grebennikova T.V. Prion diseases and the biosecurity problems. *Voprosy Virusologii (Problems of Virology)*. 2020; 65(2): 71-76. (In Russian). DOI: <https://doi.org/10.36233/0507-4088-2020-65-2-71-76>

For correspondence: Victor A. Zuev, MD, PhD, DSc, Professor, Chief Scientist of the National Research Centre for Epidemiology and Microbiology named after the honorary academician N.F. Gamaleya, Moscow, 123098, Russia. E-mail: zuev.factor@mail.ru

Information about the authors:

Zuev V.A., <https://orcid.org/0000-0002-7371-6662>

Kalnov S.L., <https://orcid.org/0000-0002-3130-4790>

Kulikova N.Yu., <https://orcid.org/0000-0002-3008-3383>

Grebennikova T.V., <https://orcid.org/0000-0002-6141-9361>

Acknowledgments. The study had no sponsorship.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Contribution: collection and processing of materials – Zuev V.A., Kalnov S.L.;

spelling text – Zuev V.A., Kalnov S.L., Grebennikova T.V.;

conclusion, scientific editing -- Grebennikova T.V.;

Summary, general edition – Kulikova N.Yu.

Received 18 March 2020

Accepted 31 March 2020

В 2020 г. исполнилось 38 лет открытию этиологии группы особо опасных «медленных» инфекций – прионных болезней (ПБ) человека и животных. Установление роли инфекционного прионного белка (PrP^d), как единственного фактора патогенности ПБ [1], оказалось шокирующим для научной общественности, но впоследствии изменило подходы к исследованиям даже таких конформационных болезней, как болезнь Альцгеймера, болезнь Паркинсона, диабет и других, патогенез которых характеризуется выраженным амилоидообразованием. Главный вывод пионерной работы лаборатории S. Prusiner и соавт. [1, 2] заключался в том, что единственным этиологическим агентом наиболее широко распространённой ПБ – скрепи овец – является только высокоочищенный белок. Данный факт, установленный впервые и противоречивший генетической парадигме, – о безусловной необходимости содержания одной или обеих нуклеиновых кислот (РНК/ДНК) в составе любого инфекционного агента, будь то вирусы, бактерии или простейшие, – породил многолетние исследования, имевшие целью опровергнуть высказанную гипотезу.

Однако все эти попытки, хотя и отсрочили получение S. Prusiner Нобелевской премии до 1997 г. (он был вторым после D. Gajdusek за открытия в области ПБ), но, тем не менее, даже внесли существенный вклад в патогенез ПБ [3]. Вместе с тем коллеги и последователи S. Prusiner в лабораториях разных стран более 25 лет совершенствовали доказательную базу «белковой гипотезы», расширяя методы диагностики ПБ и тем окончательно подтверждая её. Так, в 2018 г. были получены инфекционные рекомбинантные изоформы PrP^d в бесклеточной системе *in vitro* со строго фиксированными реагентами, не содержащими нуклеиновых кислот [4]. За прошедшие годы накоплены значительные знания о биологии прионных белков и о патогенезе вызываемых ими болезней, первоначально на основе патогенетического сходства объединённых в понятие «трансмиссивных губкообразных энцефалопатий», а также был определён круг мишеней, поражаемых данными этиологическими агентами [5]. И именно в связи с открытием прионов вызываемые ими заболевания получили этиологическое

название «прионные болезни», к лечению которых, к сожалению, до сих пор нет подходов.

В организме млекопитающих прионный белок может существовать в двух изоформах, т.е. в здоровом организме неинфекционный прионный белок, обозначенный как «нормальный» или «клеточный» (PrP^c, cellular), имеет ту же молекулярную массу и также состоит из 253 аминокислот, но отличается от инфекционного лишь по своей третичной и даже четвертичной структуре [6]. Инфекционный прионный белок сначала обозначали как PrP^{Sc}, где апостроф *Sc* использовался в связи с наибольшим распространением в природе ПБ скрепи у овец. Однако в современной литературе чаще используют более короткий апостроф *d*, как символ слова *disease* (болезнь). Предположительно, нормальный прионный белок PrP^c поддерживает сохранность нейронов и глии, играет важную роль в эмбриогенезе, плюрипотенции и дифференциации эмбриональных стволовых клеток, участвует в процессах мышечной регенерации, поддержании циркадианных (околосуточных) ритмов [7, 8]. Процесс пространственных изменений, т.е. третичной или четвертичной структуры в молекуле PrP^c и превращение его в инфекционный PrP^d, носит название «конформационного перехода» или конверсии [9]. Патогенная изоформа приона представляет собой инфекционный белок с молекулярной массой 27–30 кДа, устойчивый к действию ультрафиолета, ультразвука, проникающей радиации и, что очень важно, к кипячению, и даже к фламбированию (при сжигании образца, содержащего PrP^d, в течение 10 мин, в нём сохраняется 10% инфекционной активности). S. Prusiner обозначил обнаруженный им этиологический агент как «инфекционный прионный белок» и в качестве инфекционной единицы предложил термин «прион» (*prion*) как анаграмму английских слов *proteinaceous infectious (particles)*. В зарубежной литературе встречаются сокращения с указанием на прионы, полученные от конкретного вида, т.е. из тканей определённого животного или человека (PrP^{Sc}, PrP^{BSE}, PrP^{PCJD}, PrP^{PCWD}, PrP^{PCSE} – от овец, коров, человека, оленей, кошек).

Характерна устойчивость патогенных изоформ прионов к протеазе К, что длительное время считали

патогномичным признаком инфекционного приона [1–3] и обозначали как PrP^{res} (resistant). А недавно были открыты патогенные изоформы, чувствительные к протеолизу эндопептидазой К и обозначенные как PrP^{sens} (sensitive). Установлено, что инфекционные изоформы PrP^d в ходе патогенеза преобразуют путём конверсии нормальные клеточные мономеры белков PrP^c в PrP^d-подобные олигомеры (фолдинг) и далее в протофибриллы, которые, в свою очередь, формируют амилоидные бляшки, поражающие нейроны и клетки глии головного мозга, вызывая губкообразную вакуолизацию мозга и гибель всего организма [1–5].

Накопление клеточного прионного белка PrP^c является результатом экспрессии гена *PRNP* (хромосома 20 у человека). У различных видов животных длина его полипептидной цепи изменяется слабо: от 252 аминокислотных остатков (а.о.) у кролика до 264 а.о. у крупного рогатого скота (КРС). Наличие на N-конце белковой молекулы PrP^c 22-членной сигнальной последовательности обеспечивает котрансляционный перенос новообразующейся полипептидной цепи через мембрану эндоплазматического ретикулума (ЭР). При прохождении полипептидной цепи через канал (SEC61) в стенке мембраны ЭР происходят удаление лидерной сигнальной последовательности, а также свёртывание молекулы в глобулу и её ковалентная модификация. Два сайта N-гликозилирования типа Asn-Ile-Thr и Asn-Phe-Thr расположены у 181 и 197 а.о. соответственно (прионный белок человека). Распределение ди-, моно- и негликозилированных форм приона может варьировать как у различных организмов одного вида, так и в пределах одного организма. Гликозилированные формы белка также разнообразны, что позволяет выделить около 400 различных гликоформ PrP^c. Установлен ряд фактов, свидетельствующих о влиянии степени гликозилирования прионных белков на эффективность трансмиссии ПБ, а также на процесс образования различных штаммов возбудителя ПБ. Предпосылкой к подобной множественности гликоформ прионной молекулы, возможно, служит способность к формированию белком политопных мембранных форм. Обнаружено, что прионный белок человека может существовать в трёх формах: секретрируемой (^{sec}PrP), мембранной с двумя трансмембранными доменами и свободным N-концом в люмене ЭР (^{Ntm}PrP), мембранной с двумя трансмембранными доменами и свободным C-концом в люмене ретикулума (^{Ctm}PrP). Подвижные трансмембранные комплексы нормальных прионных молекул образуют так называемые плоты (rafts) или рецепторные комплексы, через которые взаимодействуют с патогенной изоформой PrP^d [10].

Природные и индуцированные мутации в гидрофобной последовательности, расположенной в средней части молекулы, вблизи неё, а также в области N-концевого участка, приводят к увеличению доли ^{Ctm}PrP, который вызывает нейродегенеративные заболевания. Установлен ряд фактов, свидетельствующих о влиянии степени гликозилирования прионных

белков на эффективность трансмиссии ПБ, а также на процесс образования различных штаммов возбудителя ПБ. К настоящему времени описано более 30 возможных мутаций прионного белка человека, из них большая часть достоверно связана с наследственными прионными заболеваниями. Вместе с инфекционной изоформой они не превышают 10–20% всех зарегистрированных случаев ПБ, остальные приходится на спорадическую форму болезни Крейтцфельда – Якоба (БКЯ) [10, 11].

В 1986 г. эпизоотии прионного заболевания КРС, или «коровьего бешенства», в Великобритании привели опосредованно к возникновению нового варианта БКЯ среди людей (нвБКЯ), с многолетними тяжёлыми последствиями для многих стран мира [8–10]. Высокая термостабильность инфекционного прионного белка, попавшего в мясо-костную муку, широко использовавшуюся в качестве кормовой добавки скоту, стала причиной развития варианта ПБ, подобного куру, выявленному в 1957 г. D. Gajdusek и V. Zigas у папуасов-канибалов Новой Гвинеи [12]. Последовавшие активные молекулярно-генетические исследования значения инфекционного прионного белка в изучении функции белковых структур *in vitro* и *in vivo* в зависимости от их конформационного состояния, а именно ключевой роли «складкообразования» (folding) и последующей олигомеризации и фибрилизации мономерных молекул PrP^d, позволили сформировать экспериментальные модели «конформационных болезней» [9, 15, 16]. Сегодня практически установлено, как «цепная реакция» конверсии нормальных молекул PrP^c, индуцированная взаимодействием с «затравкой» (seed), может приводить к образованию амилоидных структур и вызывать патологический процесс и в других тканях или органах [13–15]. В этот период также было доказано, что наиболее агрессивная форма нвБКЯ, отличающаяся коротким инкубационным периодом (до нескольких месяцев) и поражающая молодых людей до 30 лет, вызвана употреблением мясopодуKтов от заражённых коров [17], т.е. заражение происходит алиментарным путём.

Подводя итог вышесказанному, следует зафиксировать установленные и экспериментально доказанные признаки летальных и особо опасных прионных инфекционных заболеваний (см. таблицу). ПБ представляют собой группу нейродегенеративных заболеваний животных и человека, вызываемых инфекционными изоформами одного из белков организма-хозяина, названного прионом (PrP) и кодируемого клеточным геномом. В настоящее время термин PrP используют как для обозначения изоформы белка, образующейся при нормальном метаболизме клеток (PrP^c), так и его патологической (инфекционной) изоформы (PrP^d), вызывающей ПБ у человека и разных видов животных. Отличительными особенностями PrP^d являются, во-первых, его способность перестраивать по собственному подобию молекулы PrP^c, а во-вторых, высокая резистентность к протеиназам, позволяющая PrP^d накапливаться в виде практически

нерастворимых агрегатов (олигомеров и протофибрилл) в клетках и межклеточном пространстве организма-хозяина, что приводит к болезни и смерти. Для ПБ существуют как внутри-, так и межвидовая передача PrP^d. До настоящего времени в мировой практике диагностика ПБ человека и животных осуществляется посмертно путём выявления PrP^d в тканях головного или спинного мозга с помощью гистологического, иммуногистохимического, иммуноферментного, иммунохроматографического методов и иммуноблоттинга. При этом лишь немногие системы диагностики ПБ достигли уровня коммерческих продуктов. Все они рассчитаны на посмертную диагностику ПБ и не отличаются высокой надёжностью.

В России отечественные аналоги тест-систем для диагностики ПБ отсутствуют. Между тем передача инфекционных агентов возможна при хирургическом вмешательстве (особенно нейрохирургическом и офтальмологическом), применении препаратов крови, иммунобиологических препаратов и трансплантации органов. Развитие прионных инфекций до появления симптомов может происходить как относительно быстро (в течение полугода), так и чрезвычайно медленно, иногда в течение нескольких десятков лет с момента попадания инфекционного приона в организм человека. Таким образом, для обеспечения биобезопасности населения государству необходимы сверхчувствительные аналитические системы для мониторинга как установленных прионных инфекций, так и возникающих их вариантов, подобно штаммам бактериальных и вирусных возбудителей в биологических образцах различного происхождения.

Недавно была описана так называемая протеазачувствительная прионопатия, при которой возбудитель – инфекционный прионный белок – оказался чувствительным к инактивирующему действию протеазы К [18]. Другой пример связан с описанием случаев новой прионной патологии, проявляющейся в признаках специфической нейропатии в сочетании с прогрессирующей потерей чувствительности в разных областях организма и хронической диареей [17,19]. Большого внимания заслуживают характеристики восприимчивости и невосприимчивости организма млекопитающих к прионной инфекции. Установленная ранее и генетически обусловленная степень восприимчивости к инфекционному прионному белку у разных пород овец и коз была реализована сотрудником Исследовательского центра Департамента сельского хозяйства США К. О’Рourke – автором первой прижизненной диагностики скрепи овец [20]. В течение ряда лет селекцией и выбраковкой К. О’Рourke и соавт. удалось добиться практически полного искоренения на территории США скрепи, которая нанесла очень большой урон нашей отечественной Романовской породе овец [21].

Генотипирование прионного локуса *PRNP* показало, что замена всего лишь одной аминокислоты в человеческом прионном белке – глицина в 127-м положении на валин – будучи в одном аллеле защищает от куру и классического варианта БКЯ, а в двух

Особо опасные прионные болезни человека и животных
Especially dangerous prion diseases of humans and animals

Заболевание Disease name	Хозяин Carrier
Куру Kuru	Человек Human
Болезнь Крейтцфельда – Якоба: Creutzfeldt – Jakob Disease: – спорадическая – sporadic – инфекционная – infectious – семейная – family – ятрогенная – iatrogenic	Человек Human
Новый вариант болезни Крейтцфельда – Якоба New variant of Creutzfeldt’s – Jakob Disease	Человек Human
Смертельная семейная бессонница Fatal familial insomnia	Человек Human
Спорадическая смертельная бессонница Sporadic fatal insomnia	Человек Human
Протеаза-чувствительная нейропатия Protease-sensitive neuropathy	Человек Human
Нейропатия с диареей Neuropathy with diarrhea	Человек Human
Хроническая прогрессирующая энцефалопатия детского возраста (болезнь Альперса) Alpers’s disease	Человек Human
Спонгиозный миозит Spongiform myositis	Человек Human
Скрепи Scrapie	Овцы, козы Sheep, goats
Хроническая изнуряющая болезнь диких копытных Chronic wasting disease	Олени, лоси Deer, moose
Трансмиссивная энцефалопатия норок Transmissible encephalopathy of minks	Норки Minks
Типичная губкообразная энцефалопатия крупного рогатого скота Type bovine spongiform encephalopathy	Коровы, быки Cattle
Атипичная губкообразная энцефалопатия крупного рогатого скота Atypical bovine spongiform encephalopathy	Коровы, быки Cattle
Губкообразная энцефалопатия кошек Cats spongiform encephalopathy	Кошки Cats
Губкообразная энцефалопатия экзотических копытных Hoofs spongiform encephalopathy	Антилопы, большой куду Antilope, kudu

аллелях – делает невосприимчивым ко всем штаммам инфекционного прионного белка. Оказалось также, что в структуре нормального прионного белка замена метионина на валин в 129-м положении в одном аллеле защищает её носителя от всех ПБ [22].

Все вышеперечисленные особенности ПБ значительно расширяют и усложняют рамки понимания рисков этой патологии, выдвигают совершенно новые задачи и обосновывают необходимость разра-

ботки и применения особых мер биобезопасности. Поскольку до настоящего времени в мире нет средств эффективного лечения ПБ, следует сосредоточить основное внимание на профилактических мероприятиях и средствах опережающей доклинической диагностики ПБ. Благодаря зоонозному характеру патологии профилактические меры, естественно, должны носить и медицинскую, и ветеринарную направленность. Поэтому профилактика ПБ прежде всего основывается на исключении инфицированных мясных продуктов, что и было своевременно обеспечено Минсельхозом России предупреждением о запрете закупок мяса, мясных продуктов и продуктов убоя КРС без предоставления соответствующих документов, подтверждающих в стране-экспортере отсутствие ПБ среди этих животных. В этой связи ветеринарными службами были предприняты меры строго предварительного контроля на местах закупок мяса и мясных продуктов за рубежом. Эти положения также были отражены Главным государственным санитарным врачом РФ Г.Г. Онищенко в постановлении от 15.12.2000 № 15 «О мерах по предупреждению распространения болезни Крейтцфельда – Якоба на территории Российской Федерации» [23, 24].

Хотя в отношении ПБ до настоящего времени не выделены группы риска по профессиям, известны документированные случаи внутрибольничных заражений персонала (лаборанты-гистологи, нейропатоморфолог, хирурги, нейрохирурги), а также довольно широкий круг так называемых ятрогенных случаев [4, 10], что обосновывает принятие мер к широкому информационному обеспечению больниц, поликлиник, фельдшерско-акушерских пунктов и отдельных поселковых медицинских пунктов. Эти меры направлены на выявление болезней, которые сегодня, несмотря на распоряжения вышестоящих организаций, чаще всего проходят мимо учёта и регистрации. Выявленного больного или с подозрением на заболевание следует госпитализировать в инфекционное отделение неврологического стационара, где подтверждение диагноза и уход могут быть обеспечены в наибольшем объёме. Сказываются и отсутствие обеспечения служб клинической лабораторной диагностики современными тест-системами, и низкая квалификация медицинского персонала. Эти соображения должны быть приняты во внимание в связи с постепенно расширяющимся кругом ПБ человека, появлением различных «штаммов», т.е. конформеров этого возбудителя, различной патогенности.

Особенно опасна способность возбудителя не только преодолевать межвидовые барьеры, что особенно наглядно было продемонстрировано во время эпидемии ПБ в Великобритании, но, что не менее опасно, значительно повышать вирулентность инфекционного прионного белка [25–27]. К особенностям ПБ следует отнести и 100% летальность, а также необычайно продолжительный инкубационный период (иногда десятилетия), что как бы маскирует время заражения, и особенно длительно скрытый процесс распространения болезней в популяции [28]. Установлено, что все при-

онные белки как антигены иммунотолерантны, т.е. отсутствие образования антител в заражённом организме создаёт особые трудности в лабораторной диагностике ПБ, сама симптоматика которых, как отмечено выше, нередко отличается достаточным разнообразием [29].

До настоящего времени в мировой практике лабораторная диагностика ПБ людей и животных, как правило, осуществлялась посмертно путём выявления прионной формы белка в биоптатах головного или спинного мозга с помощью морфологических или иммунохимических методов анализа [30]. Однако в последние годы стали появляться варианты прижизненной, в том числе доклинической диагностики. Поэтому одной из наиболее актуальных исследовательских задач для обеспечения прионной биобезопасности страны остаётся разработка современных высокочувствительных отечественных тест-систем, способных эффективно обнаруживать инфекционный прионный белок в биологических жидкостях (кровь, моча, слюна, слеза) на доклинической стадии заболевания. Формат журнала не позволяет в этом обзоре даже кратко обозначить все эти методы, поэтому укажем наиболее перспективные из них. Современными новейшими методами автоматизированной белковой амплификации и идентификации прионных белков являются:

– MDCK – метод циклической амплификации с дезинтеграцией образующихся (на первичных молекулах инфекционных прионов в исходном образце) ультразвуком PrP^C-подобных олигомеров;

– метод индуцированной вибрацией конверсии (рекомбинантных прионов) в реальном времени (ИБК-РВ, quacking-induced conversion, QuIC) в амилоидоподобные фибриллы [31].

Важным направлением является изучение природы возможного происхождения различных «штаммов» прионов и, соответственно, их патогенных изоформ (изолятов) как естественным, так и искусственным, т.е. экспериментальным, путём *in vivo* и *in vitro* в опытах по межвидовой трансмиссии ПБ между животными (включая высших приматов).

В 2000 г. в Институте вирусологии им Д.И. Иванова в рамках международных проектов были впервые в нашей стране получены полноразмерные рекомбинантные антигены прионных белков КРС, оленей и уникальная панель моноклональных антител к прионным белкам, апробированная в России и за рубежом [32, 33]. Прототипы тест-систем для выявления прионов были успешно испытаны в форматах иммуногистохимического исследования, иммуноферментного анализа и вестерн-блоттинга.

В настоящее время в ФГБУ «НИЦЭМ им. Гамалеи» Минздрава России такие исследования продолжают для последующего создания прототипных тест-систем на основе иммуноферментных методик и белковой амплификации [31]. Современные подходы к диагностике ПБ человека и животных позволят разработать отечественные тест-системы с высокой чувствительностью и специфичностью для выявления прионов не только посмертно, но и в доклинической стадии развития заболевания.

ЛИТЕРАТУРА (п.п. 1-4, 6-15, 17-22, 25, 27-31, 33
см. REFERENCES)

5. Кальнов С.Л., Верховский О.А., Алипер Т.И. Прионные болезни животных. В кн.: Львов Д.К., ред. *Руководство по вирусологии. Вирусы и вирусные инфекции человека и животных*. М.: МИА; 2013: 910-21.
16. Зуев В.А., Завалишин И.А., Ройхель В.М. *Прионные болезни человека и животных. Руководство для врачей*. М.: Медицина; 1999: 8-12.
23. Покровский В.И., Киселев О.И., Черкасский Б.Л. *Прионы и прионные болезни*. М.: РАМН; 2004.
24. Зуев В.А. Медленные инфекции человека и животных. *Вопросы вирусологии*. 2014; 59(5): 5-12.
26. Иллариошкин С.Н. *Конформационные болезни мозга*. М.: Янус-К; 2002.
32. Кальнов С.Л., Григорьев В.Б., Алексеев К.Н., Власова А.П., Гибадулин Р.А., Покидышев А.Н. и др. Получение и характеристика полноразмерного рекомбинантного РГРС белка крупного рогатого скота. *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины*. 2006; 141(1): 68-71.
15. Prusiner S.B. Prions and neurodegenerative diseases. *N. Engl. J. Med.* 1987; 317(25): 1571-81. DOI: <http://doi.org/10.1056/NEJM198712173172505>
16. Zuev V.A., Zavalishin I.A., Roykhel' V.M. *Prion Diseases of Humans and Animals. A Guide for Doctors [Prionnye bolezni cheloveka i zhivotnykh. Rukovodstvo dlya vrachey]*. Moscow: Meditsina; 1999: 8-12. (in Russian)
17. Brander S., Whitfield J., Boone K., Puwa A., O'Malley C., Linehan J.M., et al. Central and peripheral pathology of kuru: pathological analysis of a recent case and comparison with other forms of human prion disease. *Philos. Trans. R. Soc. Lond. B Biol. Sci.* 2008; 363(1510): 3755-63. DOI: <http://doi.org/10.1098/rstb.2008.0091>
18. Mead S., Gandhi S., Beck J., Caine D., Gallujipali D., Carswell C., et al. A novel prion disease associated with diarrhea and autonomic neuropathy. *New Engl. J. Med.* 2013; 369(20): 1904-14. DOI: <http://doi.org/10.1056/NEJMoa1214747>
19. O'Rourke K.I., Baszler T.V., Besser T.E., Miller J.M., Cutlip R.C., Wells G.A., et al. Preclinical diagnosis of scrapie by the immunohistochemistry of third eyelid lymphoid tissue. *J. Clin. Microbiol.* 2000; 38(9): 3254-9
20. O'Rourke K.I., Melco R.P., Mickelson J.R. Allelic frequencies of an ovine scrapie susceptibility gene. *Anim. Biotech.* 1996; 7(2): 155-62. DOI: <http://doi.org/10.1080/10495399609525856>
21. Asante E.A., Smidak M., Grimshaw A., Houghton R., Tomlinson A., Jeelani A., et al. A naturally occurring variant of the human prion protein completely prevents prion disease. *Nature*. 2015; 522(7557): 478-81. DOI: <http://doi.org/10.1038/nature14510>
22. Collinge J., Whitfield D.J., McKintosh E., Beck J., Mead S., Thomas D.J., et al. Kuru in the 21st century – an acquired human prion disease with very long incubation period. *Lancet*. 2006; 367(9528): 2068-74. DOI: [http://doi.org/10.1016/S0140-6736\(06\)68930-7](http://doi.org/10.1016/S0140-6736(06)68930-7)
23. Pokrovskiy V.I., Kiselev O.I., Cherkasskiy B.L. *Prions and Prion Diseases [Priony i prionnye bolezni]*. Moscow: RAMN; 2004. (in Russian)
24. Zuev V.A. Slow infections of humans and animals. *Voprosy virusologii*. 2014; 59(5): 5-12. (in Russian)
25. Carrel R.W., Lomas D.A. Conformational disease. *Lancet*. 1997; 350(9071): 134-8. DOI: [http://doi.org/10.1016/S0140-6736\(97\)02073-4](http://doi.org/10.1016/S0140-6736(97)02073-4)
26. Illarioshkin S.N. *Conformational Diseases of the Brain [Konformatsionnye bolezni mozga]*. Moscow: Yanus-K; 2002. (in Russian)
27. Bu X.L., Xiang Y., Jin W.S., Wang J., Shen L.L., Huang Z.L., et al. Blood-derived amyloid-β protein induces Alzheimer's disease pathologies. *Mol. Psychiatry*. 2018; 23(9): 1948-56. DOI: <http://doi.org/10.1038/mp.2017.204>
28. Gajdusek D.C., Zigas V. Degenerative disease of the central nervous system in New Guinea; endemic occurrence of kuru in the native population. *New Engl. J. Med.* 1957; 257(20): 974-8. DOI: <http://doi.org/10.1056/NEJM195711142572005>
29. Telling G. Neurodegeneration: Evolved protection against human prion. *Nature*. 2015; 522(7557): 423-4. DOI: <http://doi.org/10.1038/nature14534>
30. Will R.J., Ironside J.W., Zeidler M., Cousens S.N., Estibeiro K., Alperovitch A., et al. A new variant of Creutzfeldt-Jakob disease in the UK. *Lancet*. 1996; 347(9006): 921-5. DOI: [http://doi.org/10.1016/s0140-6736\(96\)91412-9](http://doi.org/10.1016/s0140-6736(96)91412-9)
31. Sano K., Satoh K., Atarashi R., Takashima H., Iwasaki Y., Yoshida M., et al. Early detection of abnormal prion protein in genetic human prion diseases now possible using real-time QUIC assay. *PLoS One*. 2013; 8(1): 54915. DOI: <http://doi.org/10.1371/journal.pone.0054915>
32. Kal'nov S.L., Grigor'ev V.B., Alekseev K.N., Vlasova A.P., Gibadulin R.A., Pokidyshchev A.N., et al. Isolation and characterization of full-length recombinant cattle PrPC protein. *Byulleten' eksperimental'noy biologii i meditsiny*. 2006; 141(1): 68-71. (in Russian)
33. Grigoriev V.B., Kalnov S.L., Pokidyshchev A.N., Tsibezov V.V., Balandina M.V., Gibadulin R.A., et al. Fibrillization of recombinant bovine prion protein (rec-PrP) in vitro. *Doklady Biochem. Biophys.* 2008; 420(1): 112-4. DOI: <http://doi.org/10.1134/S1607672908030046>

REFERENCES

1. Prusiner S.B. Novel proteinaceous infectious particles cause scrapie. *Science*. 1982; 216(4542): 136-44. DOI: <http://doi.org/10.1126/science.6801762>
2. Bolton D.C., McKinley M.P., Prusiner S.B. Identification of protein that purifies with the scrapie prion. *Science*. 1982; 218(4579): 1309-11. DOI: <http://doi.org/10.1126/science.6815801>
3. Prusiner S.B. Molecular biology of prion diseases. *Science*. 1991; 252(5012): 1515-22. DOI: <http://doi.org/10.1126/science.1675487>
4. Kim C., Xiao X., Chen S., Haldiman T., Smirnovas V., Kofskey D., Warren M., et al. Artificial strain of human prions created in vitro. *Nat. Commun.* 2018; 9(1): 2166. DOI: <http://doi.org/10.1038/s41467-018-04584-z>
5. Kal'nov S.L., Verkhovskiy O.A., Aliper T.I. Prion diseases of animals. In: L'vov D.K., ed. *Virology Guide. Viruses and Viral Infections of Humans and Animals [Rukovodstvo po virusologii. Virusy i virusnye infektsii cheloveka i zhivotnykh]*. Moscow: MIA; 2013: 910-21. (in Russian)
6. McKinley M.P., Bolton D.C., Prusiner S.B. A protease-resistant protein is a structural component of the scrapie prion. *Cell*. 1983; 35(1): 57-62. DOI: [http://doi.org/10.1016/0092-8674\(83\)90207-6](http://doi.org/10.1016/0092-8674(83)90207-6)
7. Imran M., Mahmood S. An overview of human prion diseases. *Virology*. 2011; 8: 559. DOI: <http://doi.org/10.1186/1743-422X-8-559>
8. Stella R., Massimino M.L., Sandri M., Sorgato M.S., Bertoli A. Cellular prion protein promotes regeneration of adult muscle A tissue. *Mol. Cell. Biol.* 2010; 30(20): 4864-76. DOI: <http://doi.org/10.1128/MCB.01040-09>
9. Miranda A., Ramos-Ibeas P., Pericuesta E., Ramirez M.A., Gutierrez-Adan A. The role of prion protein in stem cell regulation. *Reproduction*. 2013; 146(3): R91-9. DOI: <http://doi.org/10.1530/REP-13-0100>
10. Prusiner S.B. An introduction to prion biology and diseases. In: Prusiner S.B., ed. *Prion Biology and Diseases*. New York: Cold Spring Harbor Laboratory Press; 2004: 1-87.
11. Chakrabortee S., Byers J.S., Jones S., Garcia D.M., Bhullar B., Chang A., et al. Intrinsically disordered proteins drive emergence and inheritance of biological traits. *Cell*. 2016; 167(2): 369-81. DOI: <http://doi.org/10.1016/j.cell.2016.09.017>
12. Gajdusek D.C., Zigas V. Degenerative disease in the central nervous system in the New Guinea – the endemic occurrence of “Kuru” in the native population. *N. Engl. J. Med.* 1957; 257(20): 974-8. DOI: <http://doi.org/10.1056/NEJM195711142572005>
13. Gambetti P., Dong Z., Yuan J., Xiao X., Zheng M., Alshekhlee A., et al. A novel human disease with abnormal prion protein sensitive to protease. *Ann. Neurol.* 2008; 63(6): 697-708. DOI: <http://doi.org/10.1002/ana.21420>
14. Zou W.Q., Puoti G., Xiao X., Yuan J., Qing L., Gali I., et al. Variably protease-sensitive prionopathy: A new sporadic disease of the prion protein. *Ann. Neurol.* 2010; 68(2): 162-72. DOI: <http://doi.org/10.1002/ana.22094>