

# Wpływ przewlekłych infekcji na lokalizację i replikację prionów w różnych narządach

Jerzy Kulczycki

Instytut Psychiatrii i Neurologii w Warszawie

## STRESZCZENIE

Praca przeglądowa przedstawiająca wyniki nowszych badań doświadczalnych nad akumulacją i replikacją prionów (*scrapie*) poza układem nerwowym i chłonnym. Grupa badaczy angielskich, szwajcarskich i niemieckich stwierdziła, że priony mają tendencję do gromadzenia się w przewlekłych ogniskach zapalnych zawierających nacieki limfocytarne, w różnych narządach. Sprzyja tej akumulacji obecność limfotoksyn, między innymi czynnika martwicy nowotworów (TNF, *tumor necrosis factor*). Niektóre procesy zapalne u zwierząt — nosiciele prionów, lub chorujących na encefalopatię gąbczastą mogą powodować zwiększenie „zakaźności” tkanek, które były dotychczas uznawane za niemal wolne od prionów. W dalszych etapach tych badań wykazano, że przewlekłe stany zapalne nerek, nierzadkie w późnych fazach encefalopatii gąbczastej, mogą się stać przyczyną wydalania prionów z moczem. Może to tłumaczyć utrzymywanie się zakaźności podłoża (łąki, zagrody) przez miesiące i lata po likwidacji chorych zwierząt.

**Słowa kluczowe:** choroby prionowe, przewlekłe zapalenia, akumulacja prionów poza OUN, prionouria

Nieprawidłowo skonformowane cząsteczki białka PrP, czyli priony albo PrPsc, stanowiące czynnik patogenny w transmisyjnych encefalopatiach gąbczastych, akumulują się i replikują zarówno w ośrodkowym układzie nerwowym (OUN), jak i w niektórych innych narządach. Od lat wiadomo,

że u ludzi i zwierząt zakażonych prionami istnieją duże ilościowe różnice w odkładaniu się i replikacji tych chorobotwórczych cząsteczek białka w poszczególnych tkankach [1]. W odniesieniu do zwierząt, które są dla człowieka źródłem produktów konsumpcyjnych, miało to swoje praktyczne znaczenie, ponieważ uważano, że nawet w przypadkach niezbyt pewnych, po odrzuceniu mózgu, rdzenia kręgowego i oczu, inne tkanki nadają się do spożycia jako „niezakaźne”. Poglądy takie formułowano zresztą tylko w pierwszych latach po pojawieniu się epizooocji BSE, obecnie ochrona konsumentów jest zapewniana przez dokładne badania zwierząt w ubojni.

Problem różnic w akumulacji prionów w poszczególnych tkankach nadal jednak budzi duże zainteresowanie. W badaniach prowadzonych w różnych ośrodkach potwierdzono, że największa akumulacja tej patologicznej izoformy PrP jest z reguły stwierdzana w tkankach OUN, gdzie zresztą rozwijają się największe i typowe zmiany zwyrodnieniowe pod postacią spongiozy i ubytków neuronów oraz proliferacyjne, dotyczące gleju astrocytarnego i mikrogleju. Układ nerwowy obwodowy, między innymi włókna czuciowe, ale i autonomiczne, jest tylko niekiedy, a może jedynie przejściowo, miejscem zalegania prionów. Również w tkance mięśniowej wykrywa się priony rzadko i tylko za pomocą bardzo czułych metod [2].

Uderzająca jest natomiast predylekcja białka PrPsc do wnikania do narządów układu chłonnego. Znajduje się je głównie w śledzionie, ale również w węzłach chłonnych, migdałkach i kępkach Peyera

**Adres do korespondencji:** prof. dr hab. med. Jerzy Kulczycki  
 Instytut Psychiatrii i Neurologii w Warszawie  
 al. Sobieskiego 9, 02-957 Warszawa  
 tel.: 022 458 28 12  
 e-mail: jkulczycki@data.pl  
 Polski Przegląd Neurologiczny 2007, tom 3, 1, 33-35  
 Wydawca: Wydawnictwo Via Medica  
 Copyright © 2007 Via Medica

w jelicie. Intensywność ich gromadzenia w różnych punktach układu chłonnego, a — jak obecnie wiadomo — również i replikacji, zależy od typu prionów u danego osobnika. Na przykład w przypadkach sporadycznej choroby Creutzfeldta-Jakoba narządy układu chłonnego są niemal wolne od prionów i dopiero przy zastosowaniu bardzo czułych metod laboratoryjnych wykrywa się ich obecność w śledzionie jedynie u około 30% osób zmarłych z tym rozpoznaniem. Migdałki w tej postaci CJD w ogóle nie zawierają białka prionowego w odróżnieniu od przypadków wariantu CJD, związanego etiologicznie z czynnikiem patogennym BSE („choroba szalonych krów”), gdzie wykrywano je dotychczas zawsze w przyżyciowych badaniach diagnostycznych migdałków podniebiennych [3].

W *scrapie*, chorobie prionowej owiec i kóz w naturalnych warunkach oraz w przypadkach doświadczalnego przeszczepienia na inne zwierzęta, istnieje sytuacja podobna: poza układem nerwowym, gdzie priony wywołują encefalopatię gąbczastą, znajduje się je z reguły w układzie chłonnym, w różnym nasileniu akumulacji i w różnych stadiach choroby — zarówno w czasie rozwiniętych objawów procesu mózgowego, jak i w długim niekiedy okresie inkubacji. To ostatnie zjawisko długotrwałej, często kilkuletniej, obecności prionów poza OUN w czasie bezobjawowej inkubacji stwierdzono w przypadkach wariantu CJD. Nosiciele prionów vCJD, którzy byli dawcami krwi, w 3 udokumentowanych przypadkach stali się źródłem zakażenia biorców.

Obserwacje wskazujące na bardzo częste zajęcie układu chłonnego w przebiegu chorób prionowych stały się przyczyną poszukiwania czynników, które sprzyjają temu zjawisku. Pierwszym warunkiem replikacji prionów w tkance jest obecność w podłożu dostatecznej ilości cząsteczek prawidłowego białka PrP (PrPc), które mogą podlegać wadliwej konformacji pod wpływem zetknięcia się z cząsteczkami zmienionymi patologicznie — PrPsc. Wielokrotnie stwierdzono, że w ośrodkach proliferacji limfocytów zawartość białka PrPc jest rzeczywiście wysoka.

Ponadto ustalono, że dla replikacji prionów istotne znaczenie mają niektóre cytokiny limfocytów, a mianowicie limfotoksyny  $\alpha$  i  $\beta$  (LT) oraz czynnik martwicy nowotworów (TNF, *tumor necrosis factor*). Obecność tych cytokin wiąże się z proliferacją komórek dendrytycznych oraz z aktywnością limfocytów  $\alpha$ . Zarówno wymienione cytokiny, jak i komórki dendrytyczne są warunkiem proliferacji cząsteczek PrPsc, a również — jak twierdzą nie-

którzy autorzy — odgrywają jakąś rolę w przenikaniu prionów do OUN [4].

W wyniku badań nad szczególnie intensywnym namnażaniem się prionów w narządach układu chłonnego pojawiło się przypuszczenie, że również skupiska limfocytów znajdujące się poza tym układem mogą stanowić podatne podłoże dla gromadzenia się tego patologicznego białka. Takimi pozaukładowymi ośrodkami limfocytarnymi mogłyby być więc również nacieki zapalne, szczególnie utrzymujące się przez dłuższy czas w przebiegu infekcji przewlekłej lub reakcji immunologicznej.

Sprawdzeniem tych możliwości zajęła się grupa złożona z badaczy szwajcarskich, niemieckich i angielskich [5]. Praca miała charakter eksperymentalny i została przeprowadzona na różnych szczepach myszy, zakażanych niektórymi typami prionów *scrapie*. Schemat badania był następujący:

- przy użyciu 5 różnych patogenów bakteryjnych lub wirusowych u myszy różnych szczepów wywoływano miejscowe, przewlekłe stany zapalne wątroby, trzustki lub nerki;
- zakażonym myszom wykonano dootrzewnowo inokulację prionów należących do jednego z typów prionów *scrapie*;
- w różnych odstępach czasu sprawdzano, czy podanie prionów wpływało na proces zapalny obwodowy oraz czy obecność tego procesu wpłynęła na rozwijającą się encefalopatię gąbczastą;
- po 50 dniach myszy uśpiono i pobrano im zmienione zapalnie narządy, które zbadano histologicznie w celu sprawdzenia charakteru zmian zapalnych i określenia obecności w nich cząsteczek białka PrPsc;
- homogenaty zmienionych zapalnie narządów zaszczepiono domózgowo zdrowym myszom.

W wyniku tych badań ustalono, że we wszystkich przypadkach w zapalnych ogniskach w wątrobie, trzustce lub nerce znajduje się akumulacja prionów. Zaszczepienie homogenatów tych narządów domózgowo myszom zdrowym wywołało u nich encefalopatię gąbczastą.

Poza tym stwierdzono między innymi, że u zwierząt niewykazujących ekspresji limfotoksyny  $\alpha$  w ogniskach zapalnych nieprawidłowa izoforma PrPsc nie była akumulowana. Potwierdzono to zresztą także w innych pracach [6, 7].

Autorzy tych badań uważają, że znajomość wpływu zmian zapalnych poza OUN (i układem chłonnym) na lokalizację i replikację prionów może wyjaśnić różne przypadki jatrogennej lub naturalnej, ale niezrozumiałego dotychczas, przenoszenia się encefalopatii gąbczastej wśród zwierząt

i ludzi. Wskazane wyniki nie wyczerpują wszystkich osiągnięć tych skomplikowanych i żmudnych badań; niektóre obserwacje autor musiał pominąć, choć również były interesujące. Stwierdzono na przykład, że w tkankach uprzednio zapalnie zmienionych i zawierających liczne cząsteczki PrPsc po wygaśnięciu procesu infekcyjnego i zniknięciu nacieków limfocytowych nie stwierdzało się już również obecności prionów.

Podobne badania powtarzano w innych ośrodkach, osiągając zbliżone wyniki. Trzeba jednak wspomnieć, że w jednym z badań, stosując bardzo czule metody, otrzymano izoformy białka PrP nie wykazujące własności patogennych [8].

Istotne znaczenie dla lepszego poznania wpływu limfocytowych nacieków zapalnych na dystrybucję prionów miały dalsze badania grupy szwajcarsko-niemiecko-angielskiej. Na tym etapie doświadczeń postanowiono sprawdzić wpływ przewlekłych zmian zapalnych mięszu nerek na funkcjonowanie układu moczowego. W pierwszym etapie badania przy użyciu 2 metod wywoływano u myszy *nephritis* o przewlekłym przebiegu. Następnie zwierzętom tym wszczepiono priony *scrapie*. Na podstawie obserwacji dokonanych wcześniej przyjęto, że w nerkach dojdzie do akumulacji prionów. Po kilkudziesięciu dniach rozpoczęto, w różnych odcinkach czasowych, badanie moczu tych zwierząt na obecność białka prionowego. W wyniku systematycznych badań udało się ustalić, że białko to zaczęło się pojawiać już w okresie inkubacji choroby prionowej i było obecne w moczu w jej dalszym przebiegu przez ponad 100 dni. Patogenność wydalanego z moczem białka PrPsc wykazano przez inokulację myszom zdrowym [9].

Autorzy tych badań uważają, że wykryli nieznaną dotychczas drogę zakażenia prionami środowiska przez zwierzęta, u których istnieje koincydencja przewlekłych zmian zapalnych w nerkach z infekcją

prionową. Być może, że odkrycie to pozwoli na wytłumaczenie zjawiska utrzymywania się *scrapie* na pastwiskach, z których usunięto uprzednio, przed miesiącami lub latami, stada zwierząt, wśród których pojawiała się encefalopatia gąbczasta. Zjawisko to wymaga dalszych badań. Być może, że w utrzymywaniu się *scrapie* na takich opuszczonych terenach biorą udział różne czynniki. Istnieje podejrzenie, że „nosicielami” prionów mogą tam być niektóre owady. Autorzy tych badań sądzą, że przedostawanie się prionów do moczu w przypadkach zmian zapalnych nerek, nierzadkich w końcowej fazie encefalopatii gąbczastej, może być przyczyną szerzenia się tej choroby wśród różnych gatunków dziko żyjących zwierząt. Ponadto należy wspomnieć, że w literaturze były opisy wydalania prionów z moczem w pojedynczych przypadkach choroby Creutzfeldta-Jakoba.

## PIŚMIENNICTWO

1. Tateishi J., Sato Y., Koga M. i wsp. Experimental transmission of human subacute spongiform encephalopathy to small rodents. *Acta Neuropathol. (Berl.)*. 1980; 51: 127–134.
2. Glatzel M., Abela E., Maissen M. i wsp. Extraneural pathologic prion protein in sporadic Creutzfeldt-Jakob disease. *N. Engl. J. Med.* 2003; 349 (19): 1812–1820.
3. Wadsworth J., Joiner S., Hill A. i wsp. Tissue distribution of protease resistant prion protein in variant Creutzfeldt-Jakob disease using a highly sensitive immunoblotting assay. *Lancet* 2001; 358: 171–180.
4. Aguzzi A., Heikenwalder M. Prions cytokines, and chemokines: a meeting in lymphoid organs. *Immunity* 2005; 22: 145–154.
5. Heikenwalder M., Zeller N., Seeger H. i wsp. Chronic lymphocytic inflammation specifies the organ tropism of prions. *Science* 2005; 307: 1107–1110.
6. Prinz M., Heikenwalder M., Junt T. i wsp. Positioning of follicular dendritic cells within the spleen controls prion neuroinvasion. *Nature* 2003; 425: 957–961.
7. Mabbott N., McGovern G., Jeffrey M. i wsp. Temporary blockade of the tumor necrosis factor receptor signaling pathway impedes the spread of scrapie to the brain. *J. Virol.* 2002; 76: 5131–5139.
8. Shaked G., Shaked Y., Hariv-Imbal Z. i wsp. A protease-resistant prion protein isoform is present in urine of animals and humans affected with prion disease. *J. Biol. Chemistry* 2001; 276: 31 479–31 482.
9. Seeger H., Heikenwalder M., Zeller M. i wsp. Coincident scrapie infection and nephritis lead to urinary prion excretion. *Science* 2005; 310: 324–326.