Baština Akademije nauka i umjetnosti Bosne i Hercegovine

RADOVI XCI, knj. 30.

Rezaković, Džemal

2002

Akademija nauka i umjetnosti Bosne i Hercegovine

https://bastina.anubih.ba/items/bd15ed37-b36d-4fde-9b5a-2482564851dc

Preuzeto s Baštine Akademije nauka i umjetnosti Bosne i Hercegovine

https://bastina.anubih.ba/

ISSN 1512-8245



AKADEMIJA NAUKA I UMJETNOSTI BOSNE I HERCEGOVINE

RADOVI

KNJIGA XCI

Odjeljenje medicinskih nauka

Knjiga 30

Centar za medicinska istraživanja

Knjiga 1

Redakcioni odbor

Jela Grujić-Vasić, Faruk Konjhodžić, Slobodan Loga

Urednik

Džemal Rezaković
redovni član Akademije nauka i umjetnosti
Bosne i Hercegovine

SARAJEVO 2002

Transmisibilne spongiformne encefalopatije (TSE) životinja uzrokovane prionima

Hajrudin Beširović,[1] Senad Prašović,[1] Edin Šatrović[1]

Patohistološka karakteristika za bolesti i ljudi i životinja iz ove grupe oboljenja je izrazita vakuolizacija sive materije mozga (spužvast izgled). Zbog histopatološkog nalaza na mozgu te prenosive prirode sve se ove bolesti nazivaju jednim imenom "Transmisibilne spongiformne encefalopatije" (TSE). Uzročnik svih TSE je infektivni agens poznat pod imenom "Prion" ili "Prionski protein" - skraćeno "PrP" od proteinaceus infectious particle ili proteaza resistent protein. Zbog toga se bolesti iz ove skupine često nazivaju "prionske bolesti".

Prionski protein "PrP" spada u grupu proteina male molekularne težine, a javlja se u dvije isoforme istog aminokiselinskog sastava ali različitih biohemijskih karakteristika. Apatogeni ili celularni $PrP^{(c33-35kda)}$ se nalazi kao normalni membranski celularni protein, potpuno razgradiv deterdžentima i osjetljiv na djelovanje proteaze K. Patogeni ili koji uzrokuje oboljenje screpi $PrP^{(sc27-30kda)}$ je veoma otporan u deterdžentima kao i na djelovanje proteaza. Kada dođe do nervnog tkiva (ne zna se tačno na koji način) djeluje na normalni ili ćelijski PrP pretvarajući ga u abnormalni. To dovodi do lančane reakcije sa velikom akumulacijom abnormalnog PrP^{Sc} u mozgu koji izaziva nepopravljiva oštećenja mozga u vidu neuronalne degeneracije (vakuolizacije i glioze).

Veoma bitna karakteristika PrP^{Sc} je da ne stvara upalnu reakciju niti imuni odgovor organizma zbog čega je i dijagnostika svih TSE veoma otežana.

U spongiformne encefalopatije životinja ubrajaju se:

- Skrepi (Scrapie) kod ovaca, koza i muflona.
- Spongiformna encefalopatija goveda (Bovine spongiform encephalopaty - BSE).
- Spongiformna encefalopatija nerčeva javlja se sporadično i slična je screpiju ovaca.
- Hronična bolest mršavljenja (Chonic wasting disease - CWD) losova, jelena i mula u planinama Sjeverne Amerike.

[1] Katedra za patologiju, Veterinarski fakultet Univerzitet u Sarajevu.

- Spongiformna encefalopatija mačaka i drugih egzotičnih životinja držanih u u zoološkim vrtovima u Velikoj Britaniji.

Skrepi ovaca, koza i muflona

Oboljenje koje je poznato više od 250 godina. Klinički znaci se javljaju kod ovaca starosti od 2-5 godina i traju do 1 mjeseca sa letalnim ishodom. Životinje postaju toliko osjetljive i češu se da ponekad zgule ili sastružu vunu (odatle i naziv scrapie - zguliti).

Spongiformna encefalopatija goveda (BSE)

Prvi put je ustanovljena u Velikoj Britaniji 1985. god. Do 1997. ustanovljeno je oko 170000 oboljelih goveda. Zaražene životinje su nestabilne na nogama, gube na težini, nervozne su te zbog toga dobijaju ime "lude krave". Važno je napomenuti da sve oboljele životinje ne pokazuju sve kliničke simptome karakteristične za skrepi i BSE.

Zajedničko je bilo kod svih slučajeva BSE, ishrana sa mesno-koštanim brašnom kontaminiranim uzročnikom ovčijeg skrepija PrPSc.

Promjene u ponašanju i temperamentu su obično najraniji znaci bolesti koji se mogu uočiti i kod skrepija ovaca i BSE goveda.

Nakon infekcije goveda sa BSE, obično prođe 3-6 godina prije pojave prvih kliničkih simptoma, mada taj inkubacioni period se može protezati od najranije 20 mjeseci do 16 godina. Kao rezultat inkubacionog perioda, proizvodi od inficiranih goveda, ali bez kliničkih znakova oboljenja mogu završiti kao hrana za ljude. U prvoj fazi nakon infekcije infektivnost inficiranih životinja je veoma mala. Zvaničnici govore da nema opasnosti po ljudsko zdravlje u ovoj fazi bolesti, što opet potpuno ne isključuje potencijalni rizik.

U drugoj fazi, prije pojave prvih kliničkih simptoma infektivni agens se nalazi u visokoj koncentarciji, posebno u mozgu i kičmenoj moždini. Ova faza bolesti traje najmanje 6 mjeseci i tada goveda predstavljaju glavnu opasnost po ljudsko zdravlje, jer su isto toliko opasne kao i goveda koja klinički pokazuju znake bolesti.

U trećoj fazi bolesti nastaju klinički simptomi, a bolest obavezno završava smrću životinje.

Do sada nije dokazan horizontalni prenos bolesti (sa krave na kravu) te preko mlijeka i sjemena bikova, ali postoji sumnja o placentarnom prenosu.

Dijagnostički metodi koji se primjenjuju kod životinja oboljelih od TSE su:

- Klinički simptomi
- Histopatologija
- Imunohistohemija

- Transmisionoelektronska mikroskopija
- Imunohemija (Western blot, ELISA)

Moramo znati da ni jedan dijagnostički test nije 100% perfektan, ako gledamo na njegovu sposobnost da tačno ustanovi i odvoji inficiranu od neinficirane životinje. Svi dijagnostički testovi imaju nivo lažno pozitivnih i lažno negativnih reakcija. Iako su TSE, relativno rijetke kod većine populacija životinja, čak i mali nivo lažno pozitivnih reakcija može imati nesagledive posljedice gledajući uticaj takve informacije na javnost, te izazvati velike ekonomske gubitke. S druge strane, mala senzitivnost dijagnostičkog testa rezultira lažno negativnim reakcijama, pa se može desiti da bolesna životinja dođe u lanac ishrane ljudi sa nesagledivim posljedicama po njihovo zdravlje.

Zbog toga sve referentne laboratorije za dijagnostiku TSE životinja primjenjuju više različitih testova. Prema iskustvima drugih laboratorija neophodno je provesti histopatologiju, imunohistohemiju i imunohemiju, a po potrebi uključiti i elektronsku mikroskopiju.

Uz kliničke simptome dijagnostika je primarno bazirana na postmortalnim svjetlosnomikroskopskim istraživanjima mozga zasnovanim na standardnoj histopatološkoj proceduri. Vakuolarne promjene u mozgu, a posebno u produženoj moždini (obex) se koriste kao glavni indikator za histopatološku potvrdu oboljenja. Ciljno mjesto promjena u obex-u je siva materija neuropile sa sistemskom i bilateralnom distribucijom promjena.

Imunohistohemijskom metodom koristi se specifični PrP antiserum kojim se otkriva akumulacija abnormalnog $PrP^{(sc27-30kda)}$ u centralnom nervnom sistemu. Akumulacija abnormalnog PrP-a se podudara sa mjestima spongiformnih promjena. Nastojanja su da se usavrši specifičnost reakcije kako bi se isključila unakrsna reakcija sa normalnom isoformom $PrP^{(c33-35kda)}$ što zavisi od načina fiksiranja, izabranog antitjela, načina demaskiranja, imunohistohemijskog protokola, te interperetacije nalaza.

Transmisiona elektronska mikroskopija koristi se kao pomoćna metoda rutinskoj patohistološkoj dijagnostici za utvrđivanje prisustva abnormalnih PrP fibrila (ekvivalent scrapie associated fibrils (SAF)). Uzorci mozga i produžene moždine za TEM moraju biti nefiksirani.

Tehnika Western immunoblotting je ukratko imunohemijska detekcija abnormalnog PrP-a, koja se za sada pokazala kao najsigurnija metoda. Od svih imunohemijskih testova (brzih testova kao što su Enfer - test, Prionics - test, CEA - test) koji su primjenjivi u svrhu dijagnosticiranja TSE životinja, prema podacima Komisije EU Prionics - test (koristi Western-blot metodu) je jedini test koji je pokazao 100% senzitivnost i senzibilnost bez ponavljanja testiranja. Ova osobina je veoma bitna u razlikovanju bolesnih od zdravih životinja kao i diferencijalno dijagnostički odvajanje životinja sa drugim neurološkim bolestima. Sigurna je i u slučajevima uznapredovalih autolitičnih procesa.

Veoma važna napomena je da standardni postupci čišćenja i dekontaminacije koji se koriste u borbi protiv drugih infektivnih agensa ne daju zadovoljavajuće rezultate kada se radi sa patogenim prionskim proteinom. Prema tome, neučinkoviti je standardno autoklaviranje, te primjena sredstava kao što su: alkohol, formalin, aldehidi (glutaraldehid), hidrogen peroksid, acetatna kiselina, fenoli i sl. Zadovoljavajuća gasna dezinfekcija ne postoji.

Preporučuje se upotreba natrium hipohlorita 20,000 ppm tokom 1 sata. 2M natrium hidroksida tokom 1 sata. Za histološke uzorke 96% mravlja kiselina u trajanju od 1 sata. Sterilizacija na 1340C - 1370 C za 18 minuta, ili 6 uzastopnih ciklusa sa po 3 minuta.

Diskusija

Cilj našeg rada je pokušaj aktueliziranja ove problematike i donošenja odluke o neophodnosti dijagnostike TSE u našoj zemlji. Kod nas ne postoji niti jedan laboratorij sposoban da korektno dijagnosticira TSE životinja, koristeći se svim naprijed navedenim metodama. Uz adekvatnu opremu, Fakultet bi mogao postati referentna institucija za dijagnostiku TSE, a što je veoma značajno sa aspekta sigurnosti zdravlja građana. Katedra za patologiju Veterinarskog fakulteta u Sarajevu je djelimično osposobljena (postoji dio opreme za patohistološku i imunohistohemijsku dijagnostiku). Ne posjeduje *transmisionoelektronski mikroskop* kao ni *Opremu za izvođenje western imunoblotting metode*, koja je za sada i najpouzdanija metoda u dijagnostici TSE. Nema opremljenog prostora za rad sa veoma opasnim infektivnim agensima kakvi su prionski proteini.

Opremanje jednog laboratorija, koji bi između ostalih opasnih bolesti, bio u funkciji dijagnostike TSE životinja je prilično skupa investicija. Bez materijalne pomoći šire društvene zajednice (države) za sada nema mogućnosti dijagnosticiranja prionskih bolesti fatalnih i za ljude i životinje.

Literatura

1. **Austin A.R., Hawkins S.A.C., Kelay N.S., Simmons M.M.:** *New observation on the clinical sings of BSE and scrapie,* Proceedings of a Consultation with the Scientific Committee of the Commission of the European Communities., 277-287, September 1993, Brussels.
2. **Austin A.R., Simmons M.M., Wels G.A.H.:** *Pathological temperment changes in bovines,* Irish Veterinary Journal 50, 304-309, 1997.
3. **Scott A.C., Wells G.A.H., Stack M.J., White H. and Dawson M.:** *Bowine spongioform encephalopathy: detection and quantitation of fibrlis, fibril protein (PrP) and vaculation in brain,* Veterinary Microbiology 23, 295-304, (1990).

4. **Taylor D.M., Fraser H., McConell D.A., Brown D.A., Brown K.L Lmaza K.A. Smith G.R.A.:** *Decontamination studies with the agents of bovine spongiform encephalophaty and scrapie* Arch. Virol. 139; 313-326, 1994.
5. **Wells G.A.H., Hawkins S.A.C., Hadlow, W.J. and Spencer Y.I.:** *The discovery of bovine spongioform encephalopathy and observations on the vacuolar changes. In: Prion Disease of human and animals,* Eds. S.B. prusiner, J. Collinge, J, Powell and B. Anderton. Ellis Horwood limited, chichester, England p 256-274, 1992.
6. **Wells G.A.H. and Wells M.:** *Neuropil vacuolation in brain: a reproducible histological processing artefact,* Journal of Comparative Pathology 101, 355-362, 1989.

ANU
BiH
АНУ
БиХ