

ГЛІКОЗАМІНОГЛІКАНИ — МОЖЛИВІ ЗАСОБИ ЛІКУВАННЯ ТА ПРОФІЛАКТИКИ ПРИОННИХ ІНФЕКЦІЙ

В. В. Влізло, Л. А. Ізюмова, П. І. Вербицький, Х. Я. Майор, В. В. Стадник

Інститут біології тварин УААН

Трансмісивні спогіформні енцефалопатії — це фатальні захворювання центральної нервової системи ссавців. Збудником ТСЕ є патологічний пріон-протеїн. Тепер найбільш перспективною групою сполук, які можуть застосовуватись для профілактики та лікування пріонних інфекцій, є глікозаміноглікани. У статті представлено узагальнені дані про вплив глікозаміногліканів на експресію клітинного (PrP^c) та патологічного (PrP^{Sc}) пріонів і патогенез пріонних інфекцій.

Ключові слова: ТРАНСМІСИВНІ СПОНГІФОРМНІ ЕНЦЕФАЛОПАТІЇ, ПРИОН, ГЛІКОЗАМІНОГЛІКАНИ, ГЕПАРИНОЇДИ, ДЕКСТРАН, ПЕНТОСАН ПОЛІСУЛЬФАТ.

Трансмісивні спонгіформні енцефалопатії (ТСЕ) — це група нейродегенеративних хвороб, які характеризуються вибірковою ураженню центральної нервової системи та стовідсотковою летальністю [1–3]. Ці хвороби, на відміну від інших нейродегенеративних захворювань, зокрема хвороб Альцгеймера, Паркінсона, Хантінгтона тощо, є контагіозними. Інфекційним агентом при розвитку пріонних інфекцій виступає білок. Цей випадок є унікальним у біології, оскільки спадкову інформацію про хворобу несе в собі не нуклеїнова кислота, як це властиво для вірусів та бактерій, а протеїд [4–6].

Відомо, що існують дві форми пріону — фізіологічна або клітинна (PrP^c) та патологічна або інфекційна (PrP^{Sc}). При потраплянні в організм патологічної форми вона рекрутує на себе фізіологічну та викликає її перетворення в інфекційну. Цей процес перетворення було названо «реплікацією», за аналогією з самовідтворенням, відомим для нуклеїнових кислот [7–9].

Справжній бум у вивченні біології пріонів стався після спалаху епізоотії губчастоподібної енцефалопатії великої рогатої худоби (ГЕ ВРХ) у Великобританії в 80–90-х роках минулого століття, коли внаслідок хвороби щороку гинули десятки тисяч тварин. З того часу починається активне вивчення ТСЕ та пріонів. Апогеєм цих досліджень стало присудження Нобелівської премії 1998 року професору Каліфорнійського університету S. B. Prusiner, який на початку 80-х років ХХ ст. відкрив пріони. Prusiner S. B. провів фундаментальні дослідження з біології пріонів, які лягли в основу всіх подальших робіт у цій галузі [11–13]. І, хоча, в останні роки, завдяки новим методам досліджень, якими володіє сучасна біологія, помітно прогрес у дослідження пріонних інфекцій, однак до повного розуміння механізмів цієї патології наука ще не наблизилася.

Зокрема, ще мало відомим є механізм подолання PrP^{Sc} міжвидового бар'єру, розповсюдження збудника по організму, досить тривалий інкубаційний період тощо.

В останні роки з'явилися нові, нетипові форми ТСЕ. Зокрема, губчастоподібна амілоїдна енцефалопатія великої рогатої худоби (ГАЕ ВРХ), яка характеризується особливостями клінічного перебігу та розвитком патологічних змін у мозку [14, 15]. Було встановлено особливості штаму патологічного пріона при ГЕ ВРХ і ГАЕ ВРХ [16]. Проте молекулярні властивості цього штаму вивчені ще недостатньо. Встановлення характерних ознак патологічних пріонів, які викликають нетипові форми ТСЕ, є дуже актуальним, оскільки не існує чітких рекомендацій для їх диференціації.

На нашу думку, на сьогодні головним невирішеним питанням є відсутність ефективних засобів лікування ТСЕ. Існує багато робіт, присвячених пошукам препаратів, які б зупинили розвиток пріонної інфекції. Було запропоновано різноманітні антибіотики [17, 18], конго червоний та його похідні [19, 20], полікатиони [21, 22], модифіковані олігонуклеотиди [23], міРНК [24], специфічні пептиди [25, 26] тощо. Але наразі найбільше ефективними виявляються сполуки з групи глікозаміногліканів (ГАГ), дослідження яких в якості антипріонних агентів триває вже 20 років. Про їх ефективність поряд з іншими сполуками свідчить той факт, що тільки окремі речовини з цієї групи та квінарцин були допущені до клінічних випробувань.

Гетерополіаніон-23 (ГПА-23)

Антивірусна сполука ГПА-23 (амоній 5-вольфрамо-2-антимоніат) вперше була тестована в якості лікарського засобу проти скреїпі ще тоді, коли переважала гіпотеза про те, що ТСЕ спричиняються «повільними вірусами». ГПА-23 був першим агентом, який продемонстрував позитивний результат при експериментальних пріонних інфекціях [27]. При периферійному інфікуванні мишей та хом'яків застосування ГПА-23 спричинило затримку клінічних ознак на 9–12 днів [27–29]. Проте не має ефекту при преінкубації з PrP^{Sc}-вмісним інокулюмом [29]. Ступінь ефективності ГПА-23 залежить від штаму пріону, часу та способу введення препарату. Зокрема, ГПА-23 є ефективнішим при інтраперитонеальному введенні, ніж при внутрішньовенному. Він проявляє кращий ефект при застосуванні у перші дні інфікування [28, 29].

Механізм дії ГПА-23 на патологічний пріон не відомий, але, на нашу думку, він може бути пов'язаний з його поліаніонною структурою.

Декстран сульфат (ДС)

Початок дослідження декстран сульфату в якості антипріонного агента було розпочато після встановлення ролі у патогенезі пріонних інфекцій лімфоретикулярної системи, оскільки ДС спричиняє короткотермінове ураження органів цієї системи [30, 31]. ДС з молекулярною масою 500 кДа здатний знижувати рівень патологічного пріона в інфікованій культурі клітин [32, 33], а також, подібно до пентосан полісульфату, веде до зникнення фізіологічного пріона з поверхні клітин [34]. За декілька днів до чи після інфікування мишей інтраперитонеально ДС500 затримує розвиток хвороби при одноразовому введенні в інфікованих мишей [30, 31, 35]. Аналогічний ефект відмічено для інтраперитонеального та інтрацеребрального інфікування збудником скреїпі сирійських хом'яків [36]. ДС500 здатний знижувати рівень патологічного пріона в селезінці [30], але його ефект при преінкубації з патологічним інокулюмом є сумнівним, оскільки згідно з одними даними це не викликає жодного ефекту [30], а інші роботи вказують на зниження динаміки накопичення PrP^{Sc} у селезінці [29, 37]. Зокрема, однією з останніх робіт [37] встановлено, що преінкубація ДС500 з інокулюмом викликає відсутність патологічного пріона у селезінці інфікованих мишей з 7 по 42 дні після інфікування. Наближення рівня патологічного пріона до контрольного відбувається лише на 100 день [37], що свідчить про досить високу ефективність ДС500 стосовно лімфотропних мишачих штамів патологічного пріону на ранніх стадіях інфекції, коли ще не відбулося проникнення PrP^{Sc} у нервову систему. Для хом'яків, інфікованих штамом 263К, ДС500 є ефективним як при інтраперитонеальному, так і при інтрацеребральному введенні препарату, якщо ДС500 застосували не пізніше, ніж через 2 години після інфікування [36]. Подібно до ДС500 лімфотропним ефектом володіють також сіліцій (IV) оксид та трипановий синій, але вони не виявили жодних антипріонних активностей [31, 35].

Незважаючи на таку ефективність, застосування ДС500 для терапії пріонних інфекцій є дуже обмеженим через високу токсичність препарату. Так, відмічено загибель майже 10 % піддослідних мишей, яким проводилося багаторазове введення препарату протягом

4 тижнів [38]. Тому існує велика необхідність у пошуку менш токсичних альтернатив ДС, якими можуть бути гепариноїди і пентосан полісульфат.

Гепариноїди

На прикінці 1980 років вперше було продемонстровано [39], що агрегати патологічного пріона колокалізуються з високосульфатованими глікозаміногліканами. Наступні дослідження дозволили виявити природу цих сполук. Ними виявилися гепарансульфат протеоглікани (ГСПГ) [40]. При цьому вони колокалізувалися з амілоїд-подібними фібрилами при КЯХ, ГШШс та скрейпі. Пізніше було виявлено, що головним компонентом ГСПГ, який взаємодіє з патологічним пріоном, є гепаран сульфат (ГС) і ця взаємодія є високоспецифічною [41]. Детальніше вивчення механізмів взаємодії цих молекул показало, що для зв'язування з рекомбінантним пріоном є важливими 2-О-сульфатні групи у ГС, тоді як 6-О-сульфатні залишки не впливають на інтенсивність взаємодії ГС та пріон-протеїну [42]. Використання спеціального біосенсору, на поверхні якого було імібілізовано ГС, дало можливість встановити фрагменти молекули пріону, які залучені до взаємодії з PrP. Це ділянки PrP53-93 та PrP110-128 [42]. Додавання іонів міді (Cu^{2+}) знижувало рівень біосенсорного сигналу для PrP110-128, що є свідченням чутливості до цього металу взаємодії між PrP110-128 та ГС, тоді як для PrP53-93 присутність міді посилювала взаємодію з ГС майже у 7 разів [42]. Можливо, в цьому випадку іони міді відіграють роль містка між негативно зарядженими 2-О-сульфатними групами ГС та амінокислотними залишками пріону, які теж мають від'ємний заряд та володіють надзвичайно високою афінністю відносно міді [43–45]. Але для повнорозмірної форми бичачого рекомбінантного пріону (brecPrP) встановлено, що іони міді різко інгібують його взаємодію з гепарином, який є наближеним за своєю структурою до ГС. Також інгібіторами цієї взаємодії виступають той же ж гепарин, ГС та декстран [46]. Вимірювання константи дисоціації для взаємодії гепарину з brecPrP дозволило виявити, що вона є досить високою та складає приблизно 74 нМ, що говорить про високу афінність взаємодії цих молекул [46]. Всі ці факти викликають питання: якщо взаємодія між пріоном та ГС (і гепарином) є надзвичайно специфічною *in vitro*, то, можливо, ця взаємодія у клітинах (точніше, на поверхні клітин) має якесь функціональне значення?

Дуже важливим аргументом на користь цього припущення є, на нашу думку, необхідність присутності поліаніонів, зокрема ГС та пентосан полісульфату при «cell-free» конверсії фізіологічного пріона у патологічний [47]. Тобто, поліаніони і є тим кофактором, який дозволяє проводити конверсію *in vitro* у системі, яка складається лише з PrP^C, PrP^{SC} та поліаніону [48].

Дійсно, в цілому ряді робіт встановлено функціональні зв'язки між ГС та пріоном. Зокрема, показано стимулюючий ефект ГС відносно накопичення патологічного пріона у культурі клітин, тоді як інші глікозаміноглікани та гепаран-подібні молекули, такі як низькомолекулярний гепарин, навпаки — інгібували утворення PrP^{SC} [49].

Додавання до хронічно інфікованих патологічним пріоном клітин лінії N2a інгібіторів метаболізму ГС, таких як гепариназа III, нартрій гіпохлорат, який є інгібітором сульфатування, та β -D-ксилозид (інгібітором глікозилювання ГСПГ) вело до зниження рівня накопичення патологічного пріона у клітинах ліній N2a, CHO-K1 та GT1-1 [50]. Той факт, що ГС є рецептором для багатьох молекул патогенів [51], стимулював дослідження можливості виконання ГС рецепторної функції відносно PrP. Було виявлено [52], що зв'язування ГС агрегатів патологічного пріона на поверхні клітини стимулює їх ендоцитоз, а додавання гепаринази III або натрій хлорату знижує інтенсивність цього процесу. Але це не може бути остаточним свідченням на користь того, що ГС є єдиним рецептором для патологічного пріона. Мутантні клітини лінії CHO pgs A-745 [53], у яких заблоковано синтез ГАГ на коров'ячих білках ГСПГ, здатні зв'язувати та інтерналізувати агрегати патологічного

пріона [52]. Таким чином, ГС, на нашу думку, є одним з додаткових компонентів мультимолекулярного комплексу, залученого до процесів ендоцитозу патологічного пріона.

І, дійсно, сьогодні головним кандидатом на роль рецептора для пріон-протеїна є 37 кДа/67 кДа ламінін-рецептор (ЛРП). Він здатний зв'язувати молекули патологічного пріона [54], при цьому кофактором у цьому процесі виступає ГСПГ [55], що є підтвердженням висловленого вище припущення про роль ГС у ендоцитозі PrP^{Sc}. Гіпотетичний механізм інтерналізації та ендоцитозу патологічного пріона зображено на рисунку 1. Утворений комплекс ЛРП-PrP^C-PrP^{Sc}-ГСПГ, який є високоструктурованим через розташування у зоні ліпідних рафтів [56–59], інтерналізується, при цьому цей процес є клатрин-залежним [60]. Якщо це відбувається у кавеоло-подібних доменах [61], то молекули фізіологічного пріона перетворюються на патологічний або рециклізуються на поверхню плазматичної мембрани, тоді як агрегати патологічного пріона спрямовуються у пізні ендосоми, а потім — у лізосоми [54] (рис. 1). Роль ГС у комплексі ЛРП-PrP^C-PrP^{Sc}-ГСПГ полягає, можливо, у забезпеченні відповідного просторового розташування контактуючих молекул, тобто, ГСПГ є скаффолдом. Важливою ділянкою у молекулі пріона для взаємодії є октапептидний регіон, який забезпечує зв'язування з ЛРП через ГСПГ [55]. Надзвичайно цікавим є той факт, що ГС-міметики здатні інгібувати інтерналізацію PrP^{Sc} [54]. Найімовірніше це відбувається за рахунок конкурентної взаємодії ГС-міметиків з молекулами фізіологічного та патологічного пріонів, що знижує рівень їх зв'язування з ГСПГ.

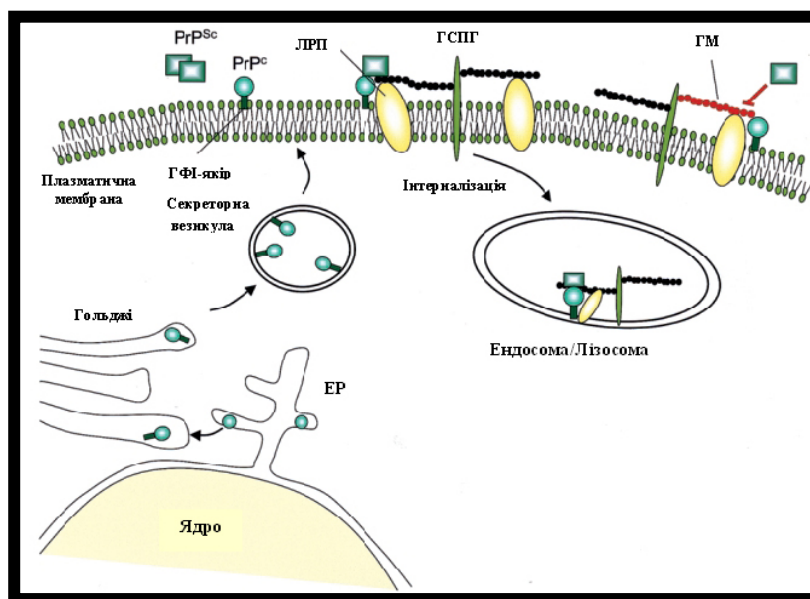


Рис. 1. Гіпотетичний механізм рецептор-опосередкованого ендоцитозу PrP^{Sc} при його взаємодії з ЛРП та ГСПГ (ГМ — ГС-міметики; ЕР — ендоплазматичний ретикулум).

Що стосується гепарину, то встановлено, що він здатний зв'язуватися з фізіологічним пріоном *in vitro* [46] та *in vivo*, знижуючи його рівень у пріон-реплікативних органах лабораторних тварин [62].

Застосування ГС та його похідних для лікування та профілактики ТСЕ показало, що найбільш ефективними є ГС-міметики — похідні декстрану, які містять хімічні модифікації гідроксильних груп, з різним вмістом сульфатів, карбоксиметильних та бензиламідних груп [38, 63]. Подібний до ДС500 ефект зниження патологічного пріона у культурі клітин мали ГС-міметики НМ2602 та НМ5004, але тільки НМ2602 виявив активність *in vivo*, яка проявлялася у зростанні інкубаційного періоду на 14 % [38]. Ефективним виявився ще один

ГС-міметик — це сполука CR36. Вона здатна викликати довготривале інгібування накопичення патологічного пріона в культурі клітин, знижує рівень патологічного пріона у селезінці та мозку інфікованих тварин на 40 % та продовжує час від інфікування до появи клінічних ознак, а також до загибелі тварин на 10 % [64].

Пентосан полісульфат (ППС)

ППС (інша назва — Елмірон®) застосовується для антикоагулянтної терапії [65], лікування хронічних циститів [66] у людей та остеоартритів у собак [67].

Перші публікації про взаємозв'язок між ППС та пріон-протеїном стосувалися зниження рівня PrP^{Sc} при застосуванні ППС у культурі клітин [68, 69]. Пізніше було показано, що ППС стимулює конверсію фізіологічного пріона у патологічний *in vitro* [70]. Також встановлено, що ППС може впливати не тільки на патологічний, а й на фізіологічний пріон-протеїн, спричиняючи його зниження при введенні лабораторним тваринам [62, 71]. Незважаючи на дещо подібну структуру ППС до гепарину, механізм взаємодії ППС з фізіологічним пріоном відрізняється від гепарину. PrP^C взаємодіє з сульфатними групами ППС за рахунок позитивно заряджених аміногруп залишків Arg149 та Arg151 [72]. І ця взаємодія не залежить від іонів міді, зважаючи на локалізацію цих залишків не у ділянці октапептидних повторів, але послаблюється анти-PrP моноклональними антитілами або вільним ППС [72]. Існують переконливі дані про те, що зниження рівня фізіологічного пріона при введенні ППС у культурі клітин та лабораторних тварин опосередковується шляхом ендцитозу PrP^C, який стимулюється зв'язуванням фізіологічного пріона з ППС [71, 73].

Застосування ППС для терапії ТСЕ розпочалося на початку 1990 років, коли було показано, що одночасне інтраперитонеальне введення ППС та інфекційної дози патологічного пріона подовжує час розвитку хвороби в мишей [30, 74, 75] та при інтракраніальному та інтраперитонеальному введенні сирійським хом'якам [36]. Профілактичний ефект ППС встановлено шляхом внутрішньовенного введення ППС мишам за три місяці до інфікування, що збільшувало тривалість інкубаційного періоду, тоді як внутрішньовенне введення ППС після інфікування було менш ефективним або ж не давало жодного позитивного ефекту [76]. Скоріше за все, це зумовлено потраплянням патологічного пріона у ПНС та ЦНС, де досліджуваний препарат не є ефективним. Інтравентрикулярні (і.в.) та інтрацеребральні (і.ц.) ін'єкції ППС виявилися набагато ефективнішими. Так, на 10-й день після інфікування одноразове введення ППС мишам у дозі 460 мг/кг/день збільшувало тривалість інкубаційного періоду на 141 %, а на 35-й день — на 71 % [77]. Але найбільш ефективною дозою ППС на дуже пізніх стадіях інфекції виявилася доза 230 мг/кг/день, яка подовжувала тривалість життя тварин на 29 % (рис. 2).

Отримано підтвердження неефективності внутрішньовенного введення ППС для лікування пріонних інфекцій після потрапляння в організм інфекційного агента [77]. Було показано, що парентеральне введення ППС у дозах 0,2; 2 та 20 мг/кг/день, яке розпочиналося на 10-й чи 35-й постінфекційні дні і тривало один місяць, не виявило жодного статистично достовірного позитивного ефекту. Крім штаму патологічного пріона 263K, який використовувався у вищеописаних дослідженнях, доведено ефективність ППС проти штамів RML та Fukuoka-1, якими було інфіковано трансгенних мишей лінії Tga20 [77], які надекспресують фізіологічну форму пріон-протеїна з частково делетованою N-кінцевою ділянкою [78].

Дані щодо дії ППС при КЯХ невісні. Існують повідомлення, що інтравентрикулярне введення ППС пацієнтам з КЯХ не викликає будь-яких видимих позитивних ефектів [79]. І, хоча показано, що ППС у дозі 11 мг/кг/день протягом 18 місяців не спричиняє побічних ефектів, але й позитивний ефект стосовно перебігу КЯХ наразі виявити не вдалося [80]. На думку деяких авторів [81], це пов'язано з відсутністю ефективних прелетальних методів для оцінки ефективності терапевтичних агентів при ТСЕ.

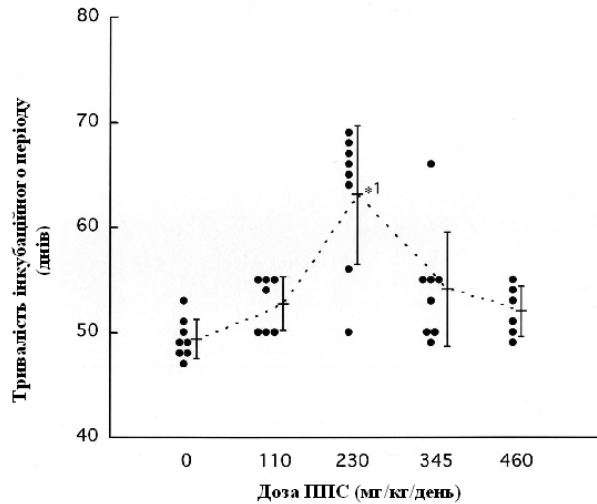


Рис. 2. Залежність тривалості інкубаційного періоду від дози ГПС на пізніх стадіях інфекції [77].

Висновки

Таким чином, ГАГ — це група речовин, серед яких виявлено найефективніші на сьогодні засоби профілактики та лікування пріонних інфекцій. Ці сполуки не забезпечують повної емісії хвороби, а лише збільшують тривалість інкубаційного періоду. Молекулярний механізм дії для них є спільний — за умови наявності в організмі патологічного пріона ГАГ блокують його зв'язування з PrP^C. У випадку профілактики ТСЕ з використанням ГАГ відбувається їх пряме зв'язування з PrP^C з наступним його видаленням з поверхні клітин. Це знижує ризик розвитку пріонних інфекцій.

У майбутньому необхідно проводити широкомасштабний скринінг з метою виявлення таких сполук, які б не лише гальмували конверсію клітинного пріона у патологічний, а й забезпечували вилучення з організму молекул PrP^{SC}. Аналізуючи вищенаведені факти, можна зробити висновок, що ці сполуки повинні мати як і ГАГ негативний заряд (оскільки у пріонах переважають позитивно заряджені амінокислотні залишки), володіти здатністю розпізнавати агреговані білки та забезпечувати їх або реконверсію у нормальну, клітинну форму, або виведення з клітини та організму. На жаль, до цього часу такі сполуки ще не знайдено.

Перспективи подальших досліджень. Виявлена здатність речовин глікозаміногліканового ряду до специфічної взаємодії із фізіологічним пріоном відкриває перспективи досліджень їх в якості лікувальних та профілактичних засобів. Зокрема, цікавим видається підхід із застосуванням ГАГ у комбінації із генною терапією, що дозволить вилучити з організму не лише молекули пріону, а й специфічно впливати на трансляцію його мРНК, що, безперечно, буде ефективнішим та знизить частоту побічних ефектів.

V. V. Vlizlo, L. A. Izyumova, Ch. Ya. Mayor, V. V. Stadnyk

GLYCOSAMINOGLYCANS AS POSSIBLE AGENTS FOR TREATMENT AND PROPHYLAXIS OF PRION INFECTIONS

Summary

Transmissible spongiform encephalopathies are fatal neurodegenerative diseases which affect central nervous system of mammal. Infectious agent for TSE is a pathological prion-protein. The most perspective group of compounds which can be used for a prophylaxis and treatment of

prion infections is glycosaminoglycans. The article presents summary data about influence of glycosaminoglycans on expression of cellular (PrP^c) and pathological (PrP^{Sc}) prions and pathogeny of prion infections.

В. В. Влізло, Л. А. Изюмова, П. И. Вербицкий Х. Я. Майор, В. В. Стадник

ГЛИКОЗАМИНОГЛИКАНЫ — ВОЗМОЖНЫЕ СРЕДСТВА ЛЕЧЕНИЯ И ПРОФИЛАКТИКИ ПРИОННЫХ ИНФЕКЦИЙ

А н н о т а ц и я

Трансмиссивные спогиформные энцефалопатии — это фатальные заболевания центральной нервной системы млекопитающих. Возбудителем ТСЕ является патологический прион-протеин. Сейчас наиболее перспективной группой соединений, которые могут применяться для профилактики и лечения прионных инфекций, являются гликозаминогликаны. У статье представлены обобщенные данные про влияние гликозаминогликанов на экспрессию клеточного (PrP^c) и патологического (PrP^{Sc}) прионов и на патогенез прионных инфекций.

1. *Вербицкий П. И.* Пріони — новий вид збудника захворювань тварин і людини / Вербицкий П. И. // Біологія тварин. — 2003. — Т. 5, № 1–2. — С. 247–252.
2. *Вербицкий П. И.* Структура білків — пріонів / Вербицкий П. И. // Наук. техн. бюлетень Інституту біології тварин УААН. — Львів, 2004. — Вип. 5, № 3. — С. 252–256.
3. *Бусол В. О.* Губчата форма енцефалопатії великої рогатої худоби / Бусол В. О., Влізло В. В., Левченко В. І. // Вісник аграрної науки. — 1995. — № 6. — С. 57–64.
4. *Merz P. A.* Abnormal fibrils from scrapie-infected brain / Merz P. A., Somerville R. A., Wisniewski H. M. et al. // Acta Neuropathol Berl. — 1981. — Vol. 54, № 1. — P. 63–74.
5. *Prusiner S. B.* Scrapie prions aggregate to form amyloid-like birefringent rods / Prusiner S. B., McKinley M. P., Bowman K. A. et al. // Cell. — 1983. — Vol. 35, № 2. — P. 349–358.
6. *Prusiner S. B.* Novel proteinaceous infectious particles cause scrapie / Prusiner S. B. // Science. — 1982. — Vol. 216, № 45. — P. 136–144.
7. *Chesebro B.* Introduction to the transmissible spongiform encephalopathies or prion diseases / Chesebro B. // British Medical Bulletin. — 2003. — Vol. 66. — P. 1–20.
8. *Вербицкий П. И.* Виявлення пріонів у мозку / Вербицкий П. И., Влізло В. В., Остапів Д. Д., Петрух І. М. // Науковий вісник Львівської національної медицини ім. С. З. Гжицького. — Львів, 2004. — Т. 6 (№ 3), Ч. 1 — С. 26–31.
9. *Влізло В. В.* Біологічні особливості пріона / Влізло В. В., Вербицкий П. И. // Вісник аграрної науки. — 2002. — № 5. — С. 32–35.
10. *Prusiner S.* Prions / Prusiner S. // Proc Natl Acad Sci U S A. — 1998 Nov 10;95(23):13363–83.
11. *Bonn D.* Prusiner awarded the Nobel prize for work on prions / Bonn D., Ault A. // Lancet. — 1997. — № 11. — P. 1079.
12. *Dormont D.* Discovery of the prion protein by Stanley B. Prusiner, Nobel Prize 1997 / Dormont D. // Rev Prat. — 1998. — № 14. — P. 1513–5.
13. *Casalone C.* Identification of a second bovine amyloidotic spongiform encephalopathy: Molecular similarities with sporadic Creutzfeldt-Jakob disease / Casalone C., Zanusso G., Acutis P. et al. // Proc. Nat. Acad. Sci. USA. — 2004. — № 101. — P. 3065–3070.
14. *Capobianco R.* Conversion of the BASE Prion Strain into the BSE Strain : The Origin of BSE? / Capobianco R., Casalone C., Suardi S. et al. // PLoS Pathog. — 2007. — Vol. 3, № 3. — P. 0001–0008.
15. *Biacabe A.* Distinct molecular phenotypes in bovine prion diseases / Biacabe A., Laplanche J., Ryder S. et al. // EMBO J. — 2004. — № 5. — P. 10–14.

16. *Adjou K. T.* MS-8209, a water-soluble amphotericin B derivative, affects both scrapie agent replication and PrPres accumulation in Syrian hamster scrapie / Adjou K. T., Demaimay R., Deslys J. P. et al. // *J. Gen. Virol.* — 1999. — № 80. — P. 1079–85.
17. *Adjou K. T.* MS-8209, an amphotericin B analogue, delays the appearance of spongiosis, astrogliosis and PrPres accumulation in the brain of scrapie-infected hamsters / Adjou K. T., Privat N., Demart S. et al. // *J. Comp. Pathol.* — 2000. — № 122. — P. 3–8.
18. *Rudyk H.* Screening Congo Red and its analogues for their ability to prevent the formation of PrP-res in scrapie-infected cells / Rudyk H., Vasiljevic S., Hennion R. M., et al. // *J. Gen. Virol.* — 2000. — № 81. — P. 1155–64.
19. *Sellarajah S.* Synthesis of analogues of congo red and evaluation of their anti-prion activity / Sellarajah S., Lekishvili T., Bowring C. et al. // *J. Med. Chem.* — 2004. — № 47. — P. 5515–34.
20. *Supattapone S.* Elimination of prions by branched polyamines and implications for therapeutics / Supattapone S., Nguyen H. O. B., Cohen F. E. et al. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* — 1999. — № 96. — P. 14529–34.
21. *Supattapone S.* Branched polyamines cure prion-infected neuroblastoma cells / Supattapone S., Wille H., Uyechi L. et al. // *J. Virol.* — 2001. — № 75. — P. 3453–61.
22. *Kocisko D. A.* Potent antiscrapie activities of degenerate phosphorothioate oligonucleotides / Kocisko D. A., Vaillant A., Lee K. S. et al. // *Antimicrob. Agents Chemother.* — 2006. — № 50. — P. 1034–44.
23. *Sutou S.* Knockdown of the bovine prion gene PRNP by RNA interference (RNAi) technology / Sutou S., Kunishi M., Kudo T. et al. // *BMC Biotechnol.* — 2007. — № 26. — P. 7 : 44.
24. *Chabry J.* Specific inhibition of in vitro formation of protease-resistant prion protein by synthetic peptides / Chabry J., Caughey B., Chesebro B. // *J. Biol. Chem.* — 1998. — № 273. — P. 13203–7.
25. *Chabry J.* Species-independent inhibition of abnormal prion protein (PrP) formation by a peptide containing a conserved PrP sequence / Chabry J., Priola S. A., Wehrly K. et al. // *J. Virol.* — 1999. — № 73. — P. 6245–50.
26. *Kimberlin R. H.* Antiviral compound effective against experimental scrapie / Kimberlin R. H., Walker C. A. // *Lancet.* — 1979. — № 2. — P. 591–2.
27. *Kimberlin R. H.* The antiviral compound HPA-23 can prevent scrapie when administered at the time of infection / Kimberlin R. H., Walker C. A. — *Arch Virol.* — 1983; 78 : 9–18.
28. *Kimberlin R. H.* Suppression of scrapie infection in mice by heteropolyanion 23, dextran sulfate and some other polyanions / Kimberlin R. H., Walker C. A. // *Antimicrob. Agents Chemother.* — 1986. — № 30. — P. 409–13.
29. *Ehlers B.* Dextran sulphate 500 delays and prevents mouse scrapie by impairment of agent replication in spleen / Ehlers B., Diring H. // *J. Gen. Virol.* — 1984. — № 65. — P. 1325–30.
30. *Ehlers B.* The reticuloendothelial system in scrapie pathogenesis / Ehlers B., Rudolph R., Diring H. // *J. Gen. Virol.* — 1984. — № 65. — P. 423–8.
31. *Barret A.* Evaluation of quinacrine treatment for prion diseases / Barret A., Tagliavini F., Forloni G. et al. // *J. Virol.* — 2003. — № 77. — P. 8462–9.
32. *Caughey B.* Sulfated polyanion inhibition of scrapie-associated PrP accumulation in cultured cells / Caughey B., Raymond G. J. // *J. Virol.* — 1993. — № 67. — P. 643–50.
33. *Shyng S. L.* Sulfated glycans stimulate endocytosis of the cellular isoform of the prion protein, PrPC in cultured cells / Shyng S. L., Lehmann S., Moulder K. L., Harris D. A. // *J. Biol. Chem.* — 1995. — № 270. — P. 30221–9.
34. *Farquhar C. F.* Prolongation of scrapie incubation period by an injection of dextran sulphate 500 within the month before or after infection / Farquhar C. F., Dickinson A. G. // *J. Gen. Virol.* — 1986. — № 67. — P. 463–73.

35. *Ladogana A.* Sulphate polyanions prolong the incubation period of scrapie-infected hamsters / Ladogana A., Casaccia P., Ingrosso L. et al. // *J. Gen. Virol.* — 1992. — № 73. — P. 661–5.
36. *Beringue V.* Opposite Effects of Dextran Sulfate 500, the Polyene Antibiotic MS-8209, and Congo Red on Accumulation of the Protease-Resistant Isoform of PrP in the Spleens of Mice Inoculated Intraperitoneally with the Scrapie Agent / Beringue V., Karim T., Adjou F. et al. // *J. Virol.* — 2000 — Vol. 74, N. 12. — P. 5432–5440
37. *Adjou K. T.* A novel generation of heparan sulfate mimetics for the treatment of prion diseases / Adjou K. T., Simoneau S., Sales N. et al. // *J. Gen. Virol.* — 2003. — № 84. — P. 2595–603.
38. *Snow A. D.* Sulfated glycosaminoglycans in amyloid plaques of prion diseases / Snow A. D. et al. // *Acta Neuropathol.* — 1989. — № 77. — P. 337–342.
39. *Snow A. D.* Immunolocalization of heparan sulfate proteoglycans to the prion protein amyloid plaques of Gerstmann-Straussler syndrome, Creutzfeldt-Jakob disease and scrapie / Snow A. D., Wight T. N., Nochlin D. et al. // *Lab, Invest.* — 1990. — № 63. — P. 601–11.
40. *Gabizon R.* Heparin-like molecules bind differentially to prion-proteins and change their intracellular metabolic fate / Gabizon R., Meiner Z., Halimi M., Ben-Sasson S. A // *J. Cell. Physiol.* — 1993. — № 157. — P. 319–25.
41. *Richard G. W.* Identification of the Heparan Sulfate Binding Sites in the Cellular Prion Protein / Richard G. W., Hundt C., Weiss S., Turnbull J. E. // *J. Biol. Chem.* — 2002. — Vol. 277, № 21. — P. 18421–18430.
42. *Viles J. H.* Copper binding to the prion protein: structural implications of four identical cooperative binding sites / Viles J. H., Cohen F. E., Prusiner S. B. et al. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* — 1999. — № 96. — P. 2042–7.
43. *Bonomo R. P.* Copper (II) binding modes in the prion octapeptide PHGGGWGQ: a spectroscopic and voltammetric study / Bonomo R. P., Imperlizzeri G., Pappalardo G. et al. // *Chemistry.* — 2000. — № 6. — P. 4195–202.
44. *Jackson G. S.* Location and properties of metal-binding sites on the human prion protein / Jackson G. S., Murray I., Hosszu L. L. et al. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* — 2001. — № 98. — P. 8531–5.
45. *Andrievskaia O.* Binding of bovine prion protein to heparin: a fluorescence polarization study / Andrievskaia O., Potetinova Z., Balachandran A., Nielsen K. // *Arch. Biochem. Biophys.* — 2007. — № 1. — P. 10–16.
46. *Deleault N. R.* Protease-resistant Prion Protein Amplification Reconstituted with Partially Purified Substrates and Synthetic Polyanions / Deleault N. R., Geoghegan J. C., Nishina K. et al. // *J. Biol. Chem.* — 2005. — Vol. 280, № 29. — P. 26873–26879.
47. *Deleault N. R.* Formation of native prions from minimal components in vitro / Deleault N. R., Harris B. T., Rees J. R., Supattapone S. // *PNAS.* — 2007. — Vol. 104, № 23. — P. 9741–9746.
48. *Gabizon R.* Heparin-like molecules bind differentially to prion-proteins and change their intracellular metabolic fate / Gabizon R., Meiner Z., Halimi M., Ben-Sasson S. A. // *J Cell Physiol.* — 1993. — № 157. — P. 319–25.
49. *Ben-Zaken O.* Cellular Heparan Sulfate Participates in the Metabolism of Prions / Ben-Zaken O., Tzaban S., Tal Y. et al. // *J. Biol. Chem.* — 2003. — Vol. 278, № 41. — P. 40041–40049.
50. *Liu J.* Cell surface heparan sulfate and its roles in assisting viral infections / Liu J., Thorp S. C. // *Med. Res. Rev.* — 2002. — № 22. — P. 1–25.
51. *Horonchik L.* Heparan Sulfate Is a Cellular Receptor for Purified Infectious Prions / Horonchik L., Tzaban S., Ben-Zaken O. et al. // *J. Biol. Chem.* — 2005. — Vol. 280, № 17. — P. 17062–17067.

52. *Esko J. D., Stewart T. E., Taylor W. H., Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. — 1985. — № 82. — P. 3197–3201.*
53. *Gauczynski S. The 37-kDa/67-kDa laminin receptor acts as the cell-surface receptor for the cellular prion protein / Gauczynski S., Peyrin J. M., Haik S. et al. // EMBO J. — 2001. — № 20. — P. 5863–75.*
54. *Hundt C. Identification of interaction domains of the prion protein with its 37-kDa/67-kDa laminin receptor / Hundt C., Peyrin J. M., Haik S. et al. // EMBO J. — 2001. — № 20. — P. 5876–86.*
55. *Sanghera N. Binding of prion protein to lipid membranes and implications for prion conversion / Sanghera N., Pinheiro T. J. // J. Mol. Biol. — 2002. — № 15. — P. 1241–56.,*
56. *Baron G. S. Conversion of raft associated prion protein to the protease-resistant state requires insertion of PrP-res (PrP(Sc)) into contiguous membranes / Baron G. S., Wehrly K., Dorward D. W. et al. // EMBO J. — 2002. — № 21. — P. 1031–40.*
57. *Elfrink K. Interaction of the cellular prion protein with raft-like lipid membranes / Elfrink K., Nagel-Steger L., Riesner D. // Biol Chem. — 2007. — № 1. — P. 79–89.*
58. *Taylor D. R. The prion protein and lipid rafts / Taylor D. R., Hooper N. M. // Mol. Membr. Biol. — 2006. — № 1. — P. 89–99.*
59. *Shyng S. L. A glycolipid-anchored prion protein is endocytosed via clathrin-coated pits / Shyng S. L., Heuser J. E., Harris D. A. // J. Cell. Biol. — 1994. — № 125. — P. 1239–50.*
60. *Vey M. Subcellular colocalization of the cellular and scrapie prion proteins in caveolae-like membranous domains / Vey M., Pilkuhn S., Wille H. et al. // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. — 1996. — № 93. — P. 14945–9.*
61. *Стадник В. В. Експресія фізіологічного пріону у головному мозку ссавців за дії глікозаміногліканів / Стадник В. В. // Біологія тварин. — 2007. — Т. 9, № 1–2. — С. 141–145.*
62. *Schonberger O. Novel heparan mimetics potently inhibit the scrapie prion protein and its endocytosis / Schonberger O., Horonchik L., Gabizon R. et al. // Biochem. Biophys. Res. Commun. — 2003. — № 312. — P. 473–9.*
63. *Larramendy-Gozalo C. Comparison of CR36, a new heparan mimetic, and pentosan polysulfate in the treatment of prion diseases / Larramendy-Gozalo C., Barret A., Daudigeos E. et al. // J. Gen. Virol. — 2007. — № 88. — P. 1062–1067.*
64. *Coccheri S. The activation of fibrinolysis by means of acid polysaccharides. II. Therapeutic prospects of a new pentosan polysulfoester / Coccheri S., Loreti A., Gennari P. // Clin. Ter. — 1963. — № 25. — P. 103–18.*
65. *Parsons C. L. Successful treatment of interstitial cystitis with sodium pentosanpolysulfate / Parsons C. L., Schmidt J. D., Pollen J. J. // J. Urol. — 1983. — № 130. — P. 51–3.*
66. *Aragon C. L. Systematic review of clinical trials of treatments for osteoarthritis in dogs / Aragon C. L., Hofmeister E. H., Budsberg S. C. // J. Am. Vet. Med. Assoc. — 2007. — № 230. — P. 514–21.*
67. *Caughey B. Sulfated polyanion inhibition of scrapie-associated PrP accumulation in cultured cells / Caughey B., Raymond G. J. // J. Virol. — 1993. — № 67. — P. 643–50.*
68. *Caughey B. Binding of the protease-sensitive form of prion protein PrP to sulfated glycosaminoglycan and Congo red / Caughey B., Brown K., Raymond G. J. et al. // J. Virol. — 1994. — № 68. — P. 2135–41.*
69. *Wong C. Sulfated glycans and elevated temperature stimulate PrPSc-dependent cellfree formation of protease-resistant prion protein / Wong C., Xiong L. W., Horiuchi M. et al. // EMBO J. — 2001. — № 20. — P. 377–86.*
70. *Влізло В. В. Вміст фізіологічної форми пріону за дії пентосан полісульфату (sp-54) у тканинах щура / Влізло В. В., Стадник В. В., Майор Х. Я. та ін. // Укр. біохім. журн. — 2008. — Т. 80, № 1. — С. 10–14.*

71. Стадник В. В. Взаємодія фізіологічного пріона з пентосан полісульфатом *in vitro* / Стадник В. В., Майор Х. Я., Вербицький П. І., Влізло В. В. // Експ. та клін. фізіол. та біохім. — 2008. — № 3. — С. 33–37.
72. Shyng S.-L. Sulfated Glycans Stimulate Endocytosis of the Cellular Isoform of the Prion Protein, PrPC, in Cultured Cells / Shyng S.-L., Lehmann S., Moulder K. L., Harris D. A. // J. Biol. Chem. — 1995. — Vol. 270, № 50, — P. 30221–30229.
73. Diringer H. Chemoprophylaxis of scrapie in mice / Diringer H., Ehlers B. // J. Gen. Virol. — 1991. — 72. — P. 457–60.
74. Farquhar C. Prophylactic potential of pentosan polysulphate in transmissible spongiform encephalopathies / Farquhar C., Dickinson A., Bruce M. // Lancet. — 1999. — № 353. — P. 117.
75. Dealler S. Pentosan polysulfate as a prophylactic and therapeutic agent against prion disease / Dealler S., Rainov N. G. // J. Drugs. — 2004. — № 1. — P. 88.
76. Doh-ura K. Treatment of transmissible spongiform encephalopathy by intraventricular drug infusion in animal models / Doh-ura K., Ishikawa K., Murakami-Kubo I. et al. // J. Virol. — 2004. — № 78. — P. 4999–5006.
77. Fischer M. Prion protein (PrP) with amino-proximal deletions restoring susceptibility of PrP knockout mice to scrapie / Fischer M., Rüllicke T., Raeber A. et al. // EMBO J. — 1996. — № 6. — P. 1255–64.
78. Whittle I. R. Unsuccessful intraventricular pentosan polysulphate treatment of variant Creutzfeldt-Jakob disease / Whittle I. R., Knight R. S., Will R. G. // Acta. Neurochir. — 2006. — № 148. — P. 677–9.
79. Bone I. Intraventricular pentosan polysulphate in human prion diseases: an observational study in the UK / Bone I., Belton L., Walker A. S., Darbyshire J. // Eur. J. Neurol. — 2008. — № 5. — P. 458–64.
80. Rainov N. G. Experimental treatments for human transmissible spongiform encephalopathies: is there a role for pentosan polysulfate? / Rainov N. G., Tsuboi Y., Krolak-Salmon P. et al. // Expert. Opin. Biol. Ther. — 2007. — № 5. — P. 713–26.

Рецензент: завідувач відділу регуляції проліферації та апоптозу, доктор біологічних наук, проф., членкор НАНУ Стойка Р. С.