

\*С.П. Капитулец, кандидат биологических наук

\*Н.Н. Полещук, доктор медицинских наук

\*\*П.А. Красочко, доктор ветеринарных наук, профессор

\*ГУ «НИИ эпидемиологии и микробиологии Министерства здравоохранения Республики Беларусь», г.Минск

\*\*РНИУП «Институт экспериментальной ветеринарии им. С.Н.Вышеслесского НАН Беларуси», г.Минск

## ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ИНФЕКЦИЯ СКРЕПИ У СИРИЙСКИХ ХОМЯЧКОВ, ИНФИЦИРОВАННЫХ В ГИПОТАЛАМУС: КЛИНИКА, ПАТОГЕНЕЗ, РЕПРОДУКЦИЯ PrP<sup>Sc</sup> В ЦНС И СЕЛЕЗЕНКЕ

*В работе представлены экспериментальные данные по развитию экспериментальной инфекции у сирийских золотистых хомячков, инфицированных в гипоталамус возбудителем скрепи, штамм 263 К. Описаны особенности развития клинических симптомов заболевания, патогенез инфекции и накопление PrP<sup>Sc</sup> в мозгу и селезенке. Обсуждается роль лимфо- и нейроинвазии в патогенезе прионной инфекции. Полученная лабораторная модель может быть рекомендована для изучения эффективности химиопрепаратов при разработке специфических средств профилактики и лечения прионных инфекций.*

*The data of experimental infection in Syrian golden hamsters was infected in hypothalamus by scrapie, strain 263 K are represented in this paper. Features of development of clinical symptoms of disease, pathogenesis of infection and accumulation PrP<sup>Sc</sup> in a brain and a spleen are described. The role lympho- and neuroinvasion in pathogenesis of prion infection is discussed. The received laboratory model can be recommended for studying efficiency of chemiopreparations for development of specific means of prophylaxis and treatment of prion infections.*

В течение последних десятилетий в вирусологии и практической медицине неуклонно нарастает интерес к проблеме прионных инфекций, вызываемых новым классом возбудителей – прионами [1-3, 16]. Болезнь Крейцфельдта-Якоба (БКЯ), наряду с куру, синдромом Герстманна-Штреусслера-Шейнкера и фатальной семейной бессонницей, еще недавно относившиеся к группе медленных вирусных инфекций, сейчас большинством исследователей относятся к доминантно наследуемым прионным болезням человека [15]. Установлено, что этиологический агент этих заболеваний - прион - представлен мелкой белковой частицей с молекулярной массой 33-35 кД (PrP<sup>Sc</sup>), устойчив к ферментативной инактивации и сохраняет свои контагиозные свойства независимо от источника возникновения [6, 16].

В 1994 году в Англии у неврологических больных впервые диагностирован новый вариант БКЯ (нвБКЯ), который поражает людей преимущественно в молодом возрасте, что нехарактерно для прионных инфекций. При исследовании мозга умерших выявлялись изменения, сходные с таковыми при трансмиссивной спонгиозной энцефалопатии коров («бешенство коров») [20]. Возбудители, выделяемые как от овец со скрепи, так и от коров с трансмиссивной спонгиозной энцефалопатией и больных с нвБКЯ, были идентичны [12, 15]. Таким образом, была выявлена пищевая цепочка в распространении нвБКЯ у людей и подтверждено предположение, что заражение человека может произойти при употреблении мяса больных животных [4, 7].

Исходя из изложенного, в странах с развитым животноводством весьма высока вероятность возникновения эпидемии нвБКЯ. Несмотря на то, что до настоящего времени в мире зарегистрировано только 155 достоверных случаев заболевания нвБКЯ (из них 150 человек уже умерли, а 5 – находятся под наблюдением), вполне возможно дальнейшее распространение данной инфекции. Риск широкого распространения этого заболевания нельзя исключить полностью и для нашей республики, и «бешенство коров» из проблемы ветеринарии может перерасти в серьезную проблему здравоохранения.

В настоящей работе нами проведены исследования по моделированию инфекции скрепи на сирийских хомячках при инфицировании в гипоталамус. Все работы с возбудителем проводились в закрытых линиях с уровнем биологической защиты Р4.

### МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

**Возбудитель.** В работе использовали возбудитель скрепи, штамм 263К, полученный от д-ра В.Б.Григорьева (Институт вирусологии им. Д.И. Ивановского РАМН РФ, г.Москва). Штамм прошел 2 пассажа на сирийских хомячках. Инфекционный титр – 6,5 ЛД<sub>50</sub>/мл.

**Лабораторные животные.** В эксперименте использовали 30 сирийских хомячков 3-х недельного возраста, массой 20-25 г., обоего пола, полученные из зоомагазина «Природа». Каждое животное, находящееся в опыте, было идентифицировано по половому признаку и индивидуальному окрасу.

**Схема эксперимента:** Животных разбили на 4 экспериментальных группы: I – контроль здоровых животных (5 самцов); II – контроль здоровых животных (5 самок); III – опытная (10 самцов); IV – опытная (10 самок). Опытных животных (группы III и IV) под легким эфирным наркозом заражали интрацеребрально путем введения в гипоталамус 10% мозговой суспензии хомячков с экспериментальным скрепи, штамм 263К, в объеме 0,03 мл на животное (инфекционный титр 4,8 ЛД<sub>50</sub>/мл). Контрольным животным (группы I и II) вводили по 0,03 мл суспензии мозга здоровых животных (разведение 10<sup>-2</sup>), приготовленной, как описано выше. Животных наблюдали в течение 3,5 месяцев.

**Прижизненные исследования** включали контроль за поведением, внешним видом и весом животных. Взвешивание хомячков осуществляли с использованием электронных весов ВЭ-15И (АО «Масса», С.-Петербург, Россия), утром, до кормления, с периодичностью 3-4 дня. У животных фиксировали состояние шерсти, слизистых глаз, ротовой полости, наличие эрозий, язв, рубцов, кровоизлияний, кахексию, аппетит, изменение поведения и реакцию на внешние раздражители (свет, звук, прикосновение), возбуждение и заторможенность, нарушение двигательных функций (нарушение координации, тремор, нарушение походки, парезы), паралич конечностей и дыхательных мышц.

**Гистологические исследования.** У контрольных и опытных животных, находящихся в терминальной стадии заболевания, под глубоким эфирным наркозом стерильно забирали головной мозг и помещали в 4% раствор нейтрального формалина. Гистологические препараты готовили по стандартной методике. Из головного мозга вычленили кусочки ткани из различных его отделов: коры полушарий большого мозга, подкорковых ядерных групп, мозжечка, продолговатого и спинного мозга. Готовили парафиновые препараты. Срезы окрашивали гематоксилином и эозином и Конго красным. Анализ проводили в световом микроскопе «Biostar» (США) при увеличении в 200- 600 раз.

**Вестерн блоттинг.** Обнаружение PrP<sup>Sc</sup> в ЦНС и селезенке опытных животных осуществляли с использованием коммерческой тест-системы «Prionics-Check Western» (Prionics AG, Switzerland). Положительным контролем служил положительный антиген тест-системы (PrP<sup>C</sup> 33-35 кДа). В качестве первичных моноклональных антител использовали моноклональные антитела к белку PrP 6Н4 (титр 1:5000). Работу с тест-системой осуществляли согласно инструкции производителя.

**Статическая обработка результатов.** При статической обработке экспериментальных данных вычисляли среднеарифметические величины, их доверительные интервалы и проводили оценку достоверности различий числовых результатов по критерию Стьюдента. Разницу считали статистически достоверной при  $p < 0,05$ .

### РЕЗУЛЬТАТЫ

**Развитие скрепи у сирийских хомячков с экспериментальной инфекцией.** Ежедневное наблюдение за животными в течение 1,5 месяцев не выявило существенных отличий со сто-

роны шерстяного покрова у контрольных и опытных животных. В группах III и IV взъерошенность шерстяного покрова у хомячков и постепенное загрязнение шерсти в области анального отверстия отмечено на  $47,7 \pm 1,45$  дн после заражения. Животные перестают чиститься, шерсть теряет блеск и тускнеет. При развитии болезни ( $67,5 \pm 1,04$  дн), и особенно это ярко выражено в терминальной стадии заболевания ( $84,6 \pm 1,03$  дн), на спине и в области верхней части головы (затылке) отмечается выпадение шерсти и «проплешины».

Изменения в поведении животных (повышение двигательной активности, возбудимость, агрессивность) появляются на  $31,2 \pm 0,59$  дн. Хомячки беспрестанно бегают по клетке, дерутся, отмечается вертячка с прогрессированием тремора головы (кручение и подергивание). Рефлексы на внешние раздражители повышены. В стадии развития неврологической симптоматики ( $73,2 \pm 0,66$  дн) у животных периоды повышенной двигательной активности сменяются периодами вялости, апатичности и сонливости: животные долго лежат в одной позе, даже днем, что является специфическим показателем прогрессирования инфекции. С развитием болезни длительность периодов вялости постепенно увеличивается. Животные не принимают пищу, глотательный рефлекс у них нарушается (глотание затруднено). Это отчетливо наблюдается при искусственном вскармливании: животные с трудом проглатывают даже незначительные объемы жидкости.

Первым специфическим признаком инфекции у животных в начальной стадии ( $57,3 \pm 0,49$  дн) развития болезни является выраженное снижение массы тела при видимом благополучии и отсутствии каких-либо отклонений и нарушений: в этот период пищевые и поведенческие рефлексы у хомячков в норме (рис. 1).

Как видно из рис. 1, потеря веса у инфицированных животных отмечается задолго до развития клинических признаков инфекции. В последствии в стадии развития неврологической симптоматики животные теряют вес из-за невозможности полноценно питаться, причем эта тенденция прогрессирует во времени (кахексия). В терминальной стадии опытные животные значительно отличаются в развитии от контрольных (группы I и II), вес тела у них снижается на 30-40% от максимального.

Важными признаками развития инфекции являются постепенно прогрессирующий тремор и покачивание головы, слабость конечностей, в результате чего хомячки постоянно опрокидываются на спину, у 30% животных отмечаются парезы задних конечностей.

Тремор достигает максимума в терминальной стадии заболевания. Животные, опрокидываясь на спину, с трудом принимают прежнее положение и длительно остаются лежать на боку. В течение 1-2 дней до гибели животные практически неподвижны. В этот период у них отсутствуют реакции на раздражители. Гибель наступает от паралича дыхательных мышц при полном истощении животного.

Следует отметить, что указанные признаки в равной степени развиваются у животных обоего пола. Различия в течении инфекции у самцов и самок отмечаются только в сроках манифестации гомологичных признаков, но не в интенсивности их проявления. Самцы более чувствительны к инфекции, чем самки (табл. 1).

У инфицированных хомячков, находящихся в терминальной стадии болезни, при вскрытии селезенка имела неестественный темно-красный цвет и уменьшенные размеры по сравнению с селезенкой здоровых животных, была дистрофичная и дряблая. В красной и белой пульпе отмечали кровоизлияния и серовато-желтоватые очаги некроза различной величины и формы, геморрагический диатез. Результаты анализа селезенки у сирийских хомячков с экспериментальным скрепи представлены в таблице 2.

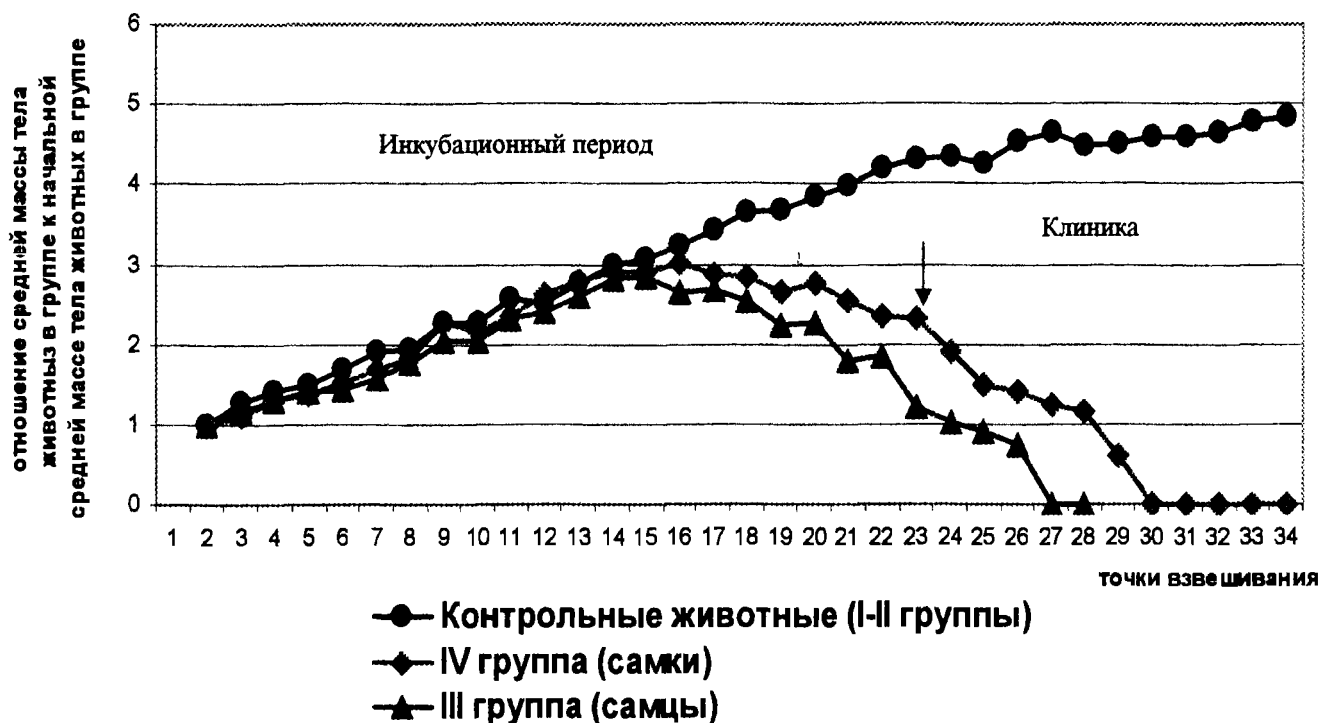


Рис. 1. Динамика изменения веса сирийских хомячков экспериментально зараженных скрепи

Таблица 1

Динамика развития скрепи у сирийских хомячков

| Группы             | Инкубационный период (дн.) | Клиника (дн.) | Длительность болезни (дн.) |
|--------------------|----------------------------|---------------|----------------------------|
| III группа (самцы) | 72,2±1,73                  | 15,0±0,55     | 87,2±1,80                  |
| IV группа (самки)  | 74,0±1,69                  | 23,3±1,73     | 97,3±2,40                  |

Таблица 2

Динамика изменения селезенки у сирийских хомячков с экспериментальным скрепи

| Группы   | Вес тела при вскрытии, г | Вес селезенки при вскрытии, мг | Отношение веса селезенки к весу животного, $\times 10^{-4}$ |
|--|--------------------------|--------------------------------|---|
| Контрольные сирийские хомячки (группы I и II)      | 142±6,0                  | 198,0±54,0                     | 13,81±3,22*   |
| Инфицированные сирийские хомячки (группы III и IV) | 40±2,0                   | 35,0±3,46                      | 8,71±0,53*  |

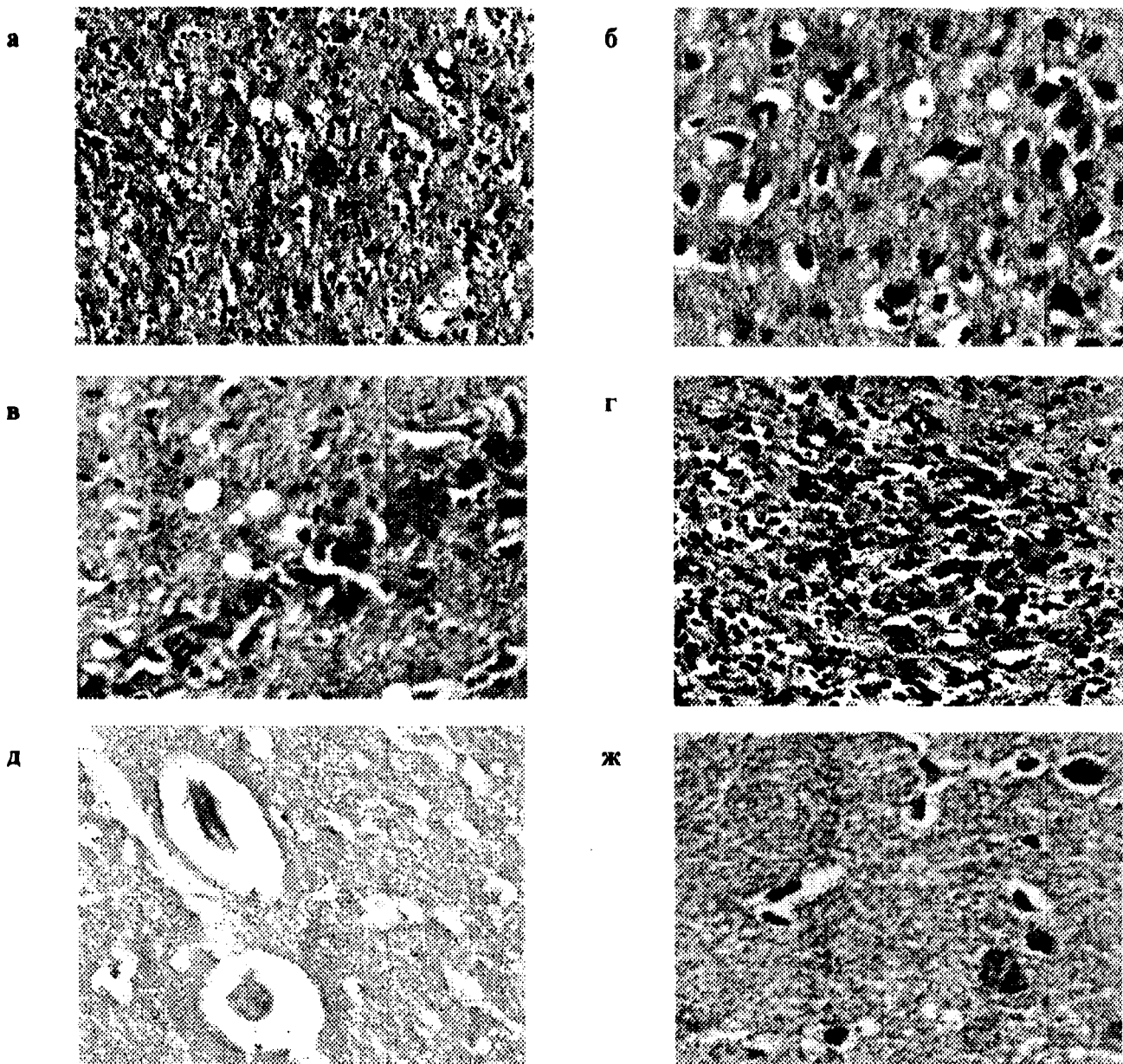
\* достоверность различий  $p < 0,05$

Продолжительность инкубационного периода у животных составила для III группы (самцы) - 72,2±1,73 дн., для IV группы (самки) - 74,0±1,69 дн. ( $p > 0,05$ ). При этом серые хомячки проявляют наибольшую устойчивость, а черные - наибольшую чувствительность к инфекции вне

зависимости от пола животного. Желтые, рыжие и рябые животные имеют средние показатели чувствительности (данные не показаны). Статистически достоверная разница отмечена в сроках манифестации инфекции и по продолжительности болезни. Клиническая картина развивается у самцов быстрее, чем у самок, на  $8,3 \pm 1,18$  дн., а длительность заболевания (срок от заражения до гибели) на  $10,1 \pm 0,60$  соответственно.

**Гистологические исследования.** Результаты исследования головного мозга сирийских хомячков (группы III и IV) в терминальной стадии заболевания представлены на рисунке 2.

- а – Корковый слой. Диффузная пролиферация астроглии. Спонгиозформные изменения
- б – Корковый слой. Спонгиозформные изменения
- в – Гиппокамп. Спонгиозформные изменения
- г – Субэпендимарный глиоз
- д – Амилоидоз стенки сосуда отеком. Окраска - Конго красный
- ж – Контроль «норма»



*Рис. 2. Патоморфологические изменения в ЦНС сирийских хомячков экспериментально зараженных скрепи*

Установлено, что в коре больших полушарий головного мозга выраженные патоморфологические изменения наблюдаются у всех инфицированных хомячков. Они характеризуются, в первую очередь, вакуолизацией цитоплазмы, и, реже, ядер отдельных пирамидных нейронов и окружающих клеток макроглии. В пирамидных нейронах помимо выраженной вакуолизации цитоплазмы отмечена дисперсия вещества Ниссля. Ядерный хроматин конденсируется в глыбки, ядрышки иногда исчезают. У части пирамидных нейронов накапливаются пигментные, содержащие липиды, включения, занимающие почти всю цитоплазму. Реже видны коллапсированные нейроны со сморщенным ядром и узким ободком цитоплазмы. Встречаются сморщенные, резко гиперхромные клетки, апикальный дендрит которых приобретает штопорообразную форму. В субкортикальном белом веществе миелиновые волокна не имеют признаков распада. Отмечается умеренная пролиферация отечных форм олигодендроглии и спонгиозное состояние отдельных участков белого вещества больших полушарий головного мозга.

В коре мозжечка выраженные дистрофические изменения отмечены в зернистых нейронах и в меньшей степени в клетках Пуркинье. Обращает внимание преобладание ультраструктурных сдвигов в ядре зернистых нейронов по сравнению с цитоплазмой. В этих клетках отчетливо заметно формирование внутриядерных вакуолей, которые возникают в участках лизиса карิโอплазмы. Образования «псевдовакуолей» за счет инвагинации мембран ядерной оболочки не выявлено.

Суммируя полученные данные, можно отметить, что в головном мозге основными морфологическими критериями у инфицированных скрепи животных являются деструкция пирамидных нейронов коры больших полушарий и зернистых нейронов мозжечка, наличие отдельных вакуолей (полостей) в нейропиле, иногда спонгиозное состояние субкортикального белого вещества. Помимо этих изменений у животных, находящихся в терминальной стадии заболевания, выявлены спонгиоформные изменения в корковом слое и гиппокампе, гибель нейронов, диффузная пролиферация астроглии, субэпендимарный глиоз, амилоидоз стенок сосудов и другие. Отмечено образование амилоидных бляшек непосредственно в ткани ЦНС.

Патоморфологических изменений в ЦНС животных контрольных групп не отмечено.

**Вестерн блот.** Патологический прионный белок PrP<sup>Sc</sup> отличается от нормального прионного белка PrP<sup>C</sup> высокой устойчивостью к ферментативной обработке протеазой К: после обработки протеиназой К нормальная форма PrP<sup>C</sup> разрушается, в то время как молекулярный вес PrP<sup>Sc</sup> уменьшается от его первоначального размера 33-35 кДа к меньшему размеру 27-30 кДа. Остающийся протеазо-устойчивый фрагмент PrP<sup>Sc</sup> выявляется иммуноблотом как PrP27-30.

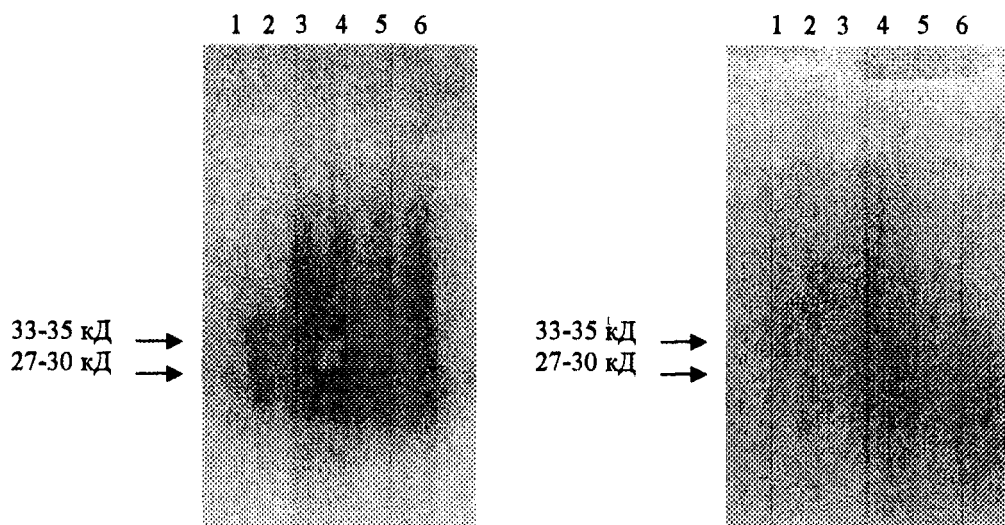
Результаты экспериментов представлены на рисунке 3.

Как видно, на электрофореграмме «А» после жесткой обработки протеиназой К в гомогенатах мозга и селезенки у инфицированных животных обнаруживается патологический прионный белок с молекулярной массой 27-30 кДа (дорожки 3-6). Положительный контроль тест-системы представлен нормальным прионным белком PrP<sup>C</sup> с М.м. 33-35 кДа (дорожка 2). Никакого белка не выявлено в препарате гомогенатов мозга контрольных животных (дорожка 1). Отсутствие каких-либо белковых полос на электрофореграмме «Б» свидетельствует о специфичности тест-системы.

### ОБСУЖДЕНИЕ

Эпидемиологическая ситуация по прионным инфекциям в РБ неизвестна. До сих пор нет сообщений о случаях заболевания людей «новым вариантом» БКЯ (нвБКЯ) и животных бычьей спонгиоформной энцефалопатией (БСЭ). Однако, отсутствие непрерывного и широкомасштабного надзора за этими инфекциями, в том числе и вследствие недостатка соответствующих эффективных методов обнаружения PrP<sup>Sc</sup>, не позволяет с уверенностью судить об их абсолютном отсутствии.

До настоящего времени, единственно надежным и наиболее достоверным методом лабораторной диагностики прионных инфекций остается биопроба на животных. Однако, все известные экспериментальные модели характеризуются выраженной длительностью развития заболевания и медленным прогрессированием неврологических нарушений (от 6 месяцев до 1 года и более), что ограничивает их использование, например, для эпизоотологического мониторинга и лабораторного анализа животного сырья, используемого для производства продуктов питания. До сих пор любые попытки совершенствования технологии получения манифестной прионной инфекции являются актуальными и находятся в сфере внимания исследователей всего мира.



дорожки: 1 – гомогенат мозга (группа I);  
 2 – PrP<sup>C</sup> (положительный контроль из тест-системы);  
 3 – гомогенат мозга (группа III);  
 4 – гомогенат селезенки (группа III);  
 5 – гомогенат мозга (группа IV);  
 6 – гомогенат селезенки (группа IV).

А - гель обработан первичными моноклональными антителами 6H4 (mouse anti-PrP IgG<sub>1</sub>), рабочее разведение 1:5000, а затем вторичными антителами AP (goat anti-mouse IgG-AP conjugated to alkaline phosphatase), рабочее разведение 1:5000;

Б - гель обработан только вторичными антителами AP (goat anti-mouse IgG-AP conjugated to alkaline phosphatase), рабочее разведение 1:5000

*Рис. 3. Обнаружение PrP<sup>Sc</sup> в ЦНС и селезенке сирийских хомячков с экспериментальным скрепи*

В данной работе при моделировании прионной инфекции были использованы оригинальные подходы, состоящие в том, что 1) заражение лабораторных животных производили в гипоталамус; 2) оценку развития и течения заболевания осуществляли комплексно по ряду специфических показателей; 3) исследуемые показатели оценивали раздельно по полу и окрасу шерсти.

В результате проведенных исследований констатировали строгую стадийность и закономерность развития патологического процесса. Полученные модели характеризовались стабильно коротким инкубационным периодом (у самцов – 72,2±1,73 дн, у самок 74,0±1,69 дн.), быстрым развитием клинических симптомов инфекции (у самцов 15,0±0,55 дн, у самок 23,3±1,08 дн.) и 100% летальностью. Продолжительность жизни хомячков составила для самцов - 87,2±1,80 дн., для самок - 97,3±2,40 (p < 0,05). Таким образом, можно сделать заключение, что половая принадлежность и генотип у сирийских хомячков влияет на развитие инфекции. Самцы более восприимчивы к инфекции, чем самки.



Установлено, что развитию неврологической симптоматики у животных предшествует прогрессирующее во времени снижение массы тела (до 20-40% от максимального), т.е. задолго до развития клинических проявлений заболевания. Особо следует подчеркнуть, что достоверно отмечено поражение селезенки при интацеребральном заражении животных. Инфицирование хомячков в гипоталамус, по неизвестному пока механизму, вызывает дистрофию селезенки и накопление в ней PrP<sup>Sc</sup>. В ЦНС и селезенке возбудитель накапливается в высоких титрах.

Селезенка, наряду с лимфатическими узлами и миндалинами, является периферическим органом иммунной системы, в котором есть так называемые Т- и В-зоны, где созревают соответственно Т- и В-лимфоциты. Фолликулярные дендритные клетки (ФДК) развиваются в «зародышевых центрах» и, как полагают, ответственны за экстранейрональный патогенез прионов, в том числе за репликацию прионов и накопление PrP<sup>Sc</sup> во вторичных лимфоидных органах [13].

Известно, что инвазия лимфоидных органов после заражения прионами происходит быстро и высокие концентрации возбудителя определяются в них до развития терминальной стадии болезни. Лимфоинвазия, по видимому, играет важную роль в патогенезе прионных инфекций, поскольку инфекционный PrP<sup>Sc</sup> может быть обнаружен фактически у каждого такого больного [5, 17]. Предполагается, что нейроинвазия организма развивается по периферическим нервным окончаниям [9], но эта связь между «зародышевыми центрами» и нервными отростками все еще неуловима. Вследствие своей подвижности, макрофаги могут являться вероятными кандидатами на транспорт PrP<sup>Sc</sup> из зародышевых центров к симпатическим нервам.

Не ясно, как накопление активности прионов в макрофагах согласуется с их очевидной защитной ролью в организме? Возможно, действие макрофагов является дозозависимым эффектом: небольшие дозы возбудителя могут быть инактивированы фагоцитозом, тогда как большие концентрации прионов не могут быть разрушены и возбудитель транспортируется и накапливается. Показано, что отсутствие выработки лимфоцитами фактора некроза опухолей может влиять непосредственно на взаимодействие макрофагов и прионов, поскольку его отсутствие снижает фагоцитарную активность макрофагов, что было показано на ряде инфекционных моделей [14]. По-видимому, другие типы клеток отличные от зрелых ФДК, вовлекаются в репликацию прионов. Факт накопления PrP<sup>Sc</sup> в пределах вторичных лимфоидных органов может помочь развитию стратегии постэкспозиционной профилактики, нацеленной на блокирование лимфо- и нейроинвазии.

Полученные нами данные целесообразно использовать при разработке средств профилактики и лечения прионных заболеваний и поиске новых эффективных химиопрепаратов. В связи со спецификой прионных инфекций (поражение ЦНС, медленно текущий инфекционный процесс, 100% летальность), лечебный эффект химиопрепарата может оцениваться, помимо обычно используемых в практике показателей выживаемости и/или задержки гибели животных, по статистически достоверному удлинению сроков снижения массы тела, инкубационного периода, развития клинической картины болезни и увеличению продолжительности жизни животных.

### ЛИТЕРАТУРА

1. Григорьев В.Б. Прионные болезни человека и животных // *Вопр. вирусол.* – 2004. – 9. – С. 4-12.
2. Капитулец С.П., Полецук Н.Н., Квачева З.Б., Рубаник Л.В. Прионы как патогены высокой степени опасности для человека и животных // *«Современные технологии в диагностике особо опасных инфекционных заболеваний»: Материалы 4-й Межгосударственной научно-практической конференции Государств – участников СНГ (30 сентября – 2 октября 2003г., Саратов).* – 2003. – С. 86-89.
3. Полецук Н.Н., Капитулец С.П., Капитулец Н.Н. Состояние и пути совершенствования лабораторной диагностики прионовых инфекций. Проблема контроля качества пищевых продуктов животного происхождения в Республике Беларусь // *Материалы Республиканской научно-практической конференции, посвященной 75-летию БелНИИЭМ.* – Мн. – 1999. – С. 415-420.
4. Bruce M.E., Will R.G., Ironside J.W. et al. Transmission to mice indicate that «new variant» Creutzfeldt-Jakob disease is caused by BSE agent // *Nature.* – 1997. – 389 (6650). – P. 498-501.



5. Bruce M.E, McConnell I, Will R.G., Ironside J.W. Detection of variant Creutzfeldt-Jakob disease infectivity in extra-neural tissues. // *Lancet* – 2001. – 358. – P. 208-209.
6. Caughey B., Chesebro B. Prion protein and the transmissible spongiform encephalopathies // *Trend Cell Biol.* - 1997. - 7. - P. 56-62.
7. Collinge J., Palmer V.S., Oriden A.J. Genetic predisposition to iatrogenic Creutzfeldt-Jakob disease // *Lancet.* - 1991. – 337. – P. 1441-1442.
8. Deslys J.P., Lasmez C.I., Streichenberger N. et al. New variant Creutzfeldt-Jakob disease in France // *Lancet.* – 1997. – 349. – P. 30-31.
9. Glatzel M., Heppner F.L., Albers K.M., Aguzzi A. Sympathetic innervation of lymphoreticular organs is rate limiting for prion neuroinvasion // *Neuron* – 2001. – 31. – P. 25-34.
10. Fraser, H. Diversity in the neuropathology of scrapie-like diseases in animals // *Br. Med. Bull.* – 1993. – 49. – P. 792-809.
11. Hadlow, W. J. Differing neurohistologic images of scrapie, transmissible mink encephalopathy, and chronic wasting disease of mule deer and elk / In: C. J. Gibbs, Jr. (ed.), *Bovine spongiform encephalopathy. The BSE dilemma.* – 1996, Springer, New York, N.Y. - P. 122-137.
12. Miller, J. M., A. L. Jenny, W. D. Taylor et al. Detection of prion protein in formalin-fixed brain by hydrated autoclaving immunohistochemistry for the diagnosis of scrapie in sheep. // *J. Vet. Diagn. Invest.* – 1994. – 6. - P. 366-368.
13. Montrasio, F., Frigg, R., Glatzel, M. et al. Impaired prion replication in spleens of mice lacking functional follicular dendritic cells // *Science* – 2000. – 288. – H. 1257-1259.
14. Nashleanas M., Kanaly, S., Scott P. Control of *Leishmania major* infection in mice lacking TNF receptors // *J. Immunol.* – 1998. – 160. – P. 5506-5513.
15. Priola S. A. Prion protein diversity and disease in the TSE // *Adv. Protein Chem.* - 2001. - 57. - P. 1-27.
16. Prusiner S. Prions // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* - 1998. - 95. - P. 13363-13383.
17. Wadsworth, J. D.F. , Joiner, S., Hill, A.F. et al. Tissue distribution of protease resistant prion protein in variant Creutzfeldt-Jakob disease using a highly sensitive immunoblotting assay // *Lancet* – 2001. – 358. – P. 171-180.
18. Wells, G.A.H., I. S. McGill. Recently described scrapie-like encephalopathies of animals: case definitions // *Res. Vet. Sci.* – 1992. – 53. – P. 1-10.
19. Wells, G.A.H., M. M. Simmons. The essential lesion profile of bovine spongiform encephalopathy (BSE) in cattle is unaffected by breed or route of infection // *Neuropathol. Appl. Neurobiol.* – 1996. – 22. - P. 453-455.
20. Will R.G., Ironside V., Zeidler M. et al. A new variant of Creutzfeldt-Jakob disease in the UK // *Lancet.* - 1996. - 347. - P. 921-925.