



УДК 57.017.23+112.7:352.465:151.643

## ФІЗІОЛОГІЧНА РОЛЬ ПРІОНІВ У РЕГУЛЯЦІЇ ТРАНСПОРТУ $\text{Ca}^{2+}$ І НЕЙРОДЕГЕНЕРАТИВНІ ЗАХВОРЮВАННЯ

**М. В. Кушкевич, В. В. Влізло**

*Інститут біології тварин НААН України, вул. Стуса, 38, Львів 79034, Україна  
e-mail: m\_kushkevych@ukr.net*

У статті узагальнено сучасні літературні дані щодо ролі фізіологічного пріона у регуляції гомеостазу  $\text{Ca}^{2+}$ , порушення якого сприяє розвитку пріон-індукованих нейродегенерацій. Описано електрофізіологічні порушення нейронів, а також дисфункцію синапсів, які виникають під час пріонних захворювань і супроводжуються зміною концентрації внутрішньоклітинного іонізованого  $\text{Ca}^{2+}$ . Подано загальну характеристику транспортних систем  $\text{Ca}^{2+}$  нейронів. Особливу увагу звернено на дані, отримані на тваринних моделях пріонних інфекцій і PrP-нокаутованих тваринах, що вказують на роль PrP<sup>c</sup> у процесах транспорту  $\text{Ca}^{2+}$ . Зокрема, описано участь PrP<sup>c</sup> у функціонуванні кальцієвих каналів унаслідок зв'язування з NR<sub>2</sub>D-субодиницею N-метил-D-аспартату (NMDA)-рецепторів  $\text{Ca}^{2+}$ -каналів, що обумовлює його нейропротекторну функцію. Крім того, охарактеризовано участь PrP<sup>c</sup> у формуванні синапсу та нейротрансмісії. Вивчено взаємодію фізіологічного пріона зі синапсином-1 і синаптофізином, які регулюють екзо-ендоцитотичний цикл синаптичних везикул. Подано характеристику порушення гомеостазу  $\text{Ca}^{2+}$  як одного з важливих факторів під час пріонних патологій.

**Ключові слова:** пріонні інфекції, фізіологічний пріон, транспортні системи  $\text{Ca}^{2+}$ , синапс.

### ВСТУП

Підтримання гомеостазу  $\text{Ca}^{2+}$  має важливе значення для фізіологічного функціонування клітин, зокрема нейронів. Останні найбільше чутливі до раптових змін концентрації внутрішньоклітинного  $\text{Ca}^{2+}$ , які можуть спричинити певні їх фізіологічні порушення, оскільки іони цього елемента контролюють просторово-часові показники електрохімічних сигналів, синаптичної пластичності, ріст аксонів, синаптогенез [13, 71]. Тому порушення гомеостазу  $\text{Ca}^{2+}$  може супроводжувати виникнення нейродегенеративних розладів, у тому числі трансмісивних спонгіоформних енцефалопатій (ТСЕ) (або пріонних захворювань) [70, 71]. Останні є хворобами з летальним наслідком, спричинені інфекційними агентами протеїнової природи – пріонами. Інфекційний пріон (PrP<sup>Sc</sup>, sc – від *scrapie* – скрейпі) утворюється внаслідок аномальної конформації фізіологічного пріона (PrP<sup>c</sup>, c – від *cellular* – клітинний) [1].

Відомо, що PrP<sup>c</sup> є протеїном, який локалізований на зовнішній поверхні клітинної мембрани та відіграє важливу роль у метаболізмі клітини [2, 3]. Через це припускають, що пріон-індуковані нейродегенерації виникають не лише за наявності екзогенного PrP<sup>Sc</sup> і через токсичність його агрегатів (амілоїдних комплексів), але й через втрату ендogenous PrP<sup>c</sup> своєї функції. Встановлено участь фізіологічного пріона у клітинній адгезії, транспорті іонів Купруму через мембрану, антиоксидантному й антиапоптичному захисті та ін. [2, 3, 62, 82]. Проте, незважаючи на численні дослідження фізіологічної ролі PrP<sup>c</sup> у метаболізмі клітини, участь PrP<sup>c</sup> у регуляції транспорту Ca<sup>2+</sup> нейронів є малодослідженою.

Метою роботи було проаналізувати й узагальнити сучасний стан знань щодо участі клітинного пріона у регулюванні систем транспорту Ca<sup>2+</sup>, оскільки пріонні захворювання пов'язані з порушенням гомеостазу Ca<sup>2+</sup>.

## 1. ПРИОННІ БІЛКИ – ЗБУДНИКИ ТРАНСМІСИВНИХ СПОНГІОФОРМНИХ ЕНЦЕФАЛОПАТІЙ

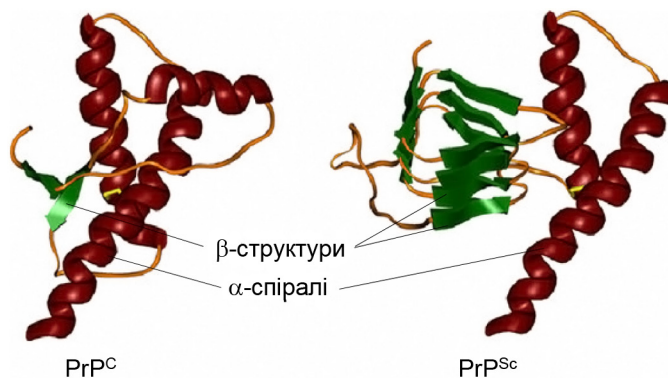
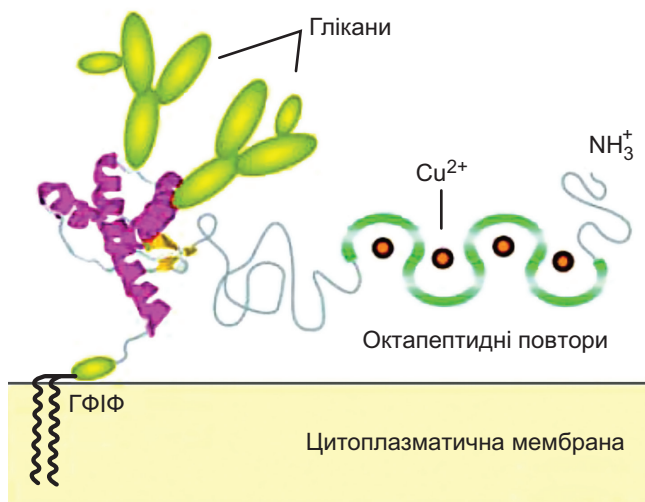
Пріонні захворювання належать до класу повільних нейродегенеративних розладів людей і тварин, які закінчуються летально. Ці хвороби можуть виникати спорадично, генетично або внаслідок інфекції [1, 80]. Клінічно вони супроводжуються виникненням недоумства, атаксії, психічних розладів. Під час гістопатологічних досліджень ураженого головного мозку зазвичай виявляють вакуолізацію (від якої походить термін «губкоподібна» – «спонгіоформна»), обширні астрогліози і стійкі до протеаз агрегати патологічного пріона (амілоїди). До трансмісивних спонгіоформних енцефалопатій (ТСЕ) належать хвороба Крейтцфельда-Якоба (ХКЯ), синдром Герстманна-Штраусслера-Шейнкера, фатальне родинне безсоння, куру в людини, скреїпі овець і кіз, хронічна виснажлива хвороба оленів, трансмісивна енцефалопатія норок, губкоподібна енцефалопатія котятчих і великої рогатої худоби (ГЕ ВРХ) [1, 4]. Встановлено, що ці захворювання є проявом молекулярної патології, за якої клітинний (фізіологічний) пріон (PrP<sup>c</sup>) зазнає структурних змін і перетворюється на інфекційний (PrP<sup>Sc</sup>), утворюючи одночасно стійкі до протеаз амілоїдні комплекси [80].

PrP<sup>c</sup> є на поверхні клітин ссавців, він складається зі сіалоглікопротеїнів, які утворені приблизно 210 амінокислотами, з'єднані з плазматичною мембраною глікозил-фосфатидил-інозитольним фрагментом (ГФІФ). Фізіологічний пріон містить два N-глікани й октапептидні повтори, які зв'язують іони Купруму та переносять їх за допомогою ендоцитозу всередину клітини [105] (рис. 1).

PrP<sup>c</sup> експресується майже в усіх тканинах ссавців, особливо багато його в центральній нервовій системі (ЦНС) і лімфоїдних органах [112]. PrP<sup>c</sup> містить гнучкі ділянки з N-кінцями та кулясті  $\alpha$ -спіралі з C-кінцевими ділянками [108], натомість PrP<sup>Sc</sup> має більшу кількість  $\beta$ -структур [81]. Така зміна конформації обумовлює нові фізико-хімічні та біологічні властивості PrP<sup>Sc</sup>, зокрема здатність утворювати амілоїдні  $\beta$ -структури і поширюватися в організмі [81, 109]. Проте, незважаючи на досягнення в розумінні перетворення PrP<sup>c</sup> до PrP<sup>Sc</sup> і шляхів проникнення екзогенних пріонів до ЦНС, нейродегенеративні процеси за участю пріонів, як і фізіологічні функції PrP<sup>c</sup>, є досі малодосліджені.

Відомо, що конверсія клітинного пріон-протеїну в його інфекційну ізоформу – посттрансляційний процес [105]. Аналіз вторинної структури PrP<sup>Sc</sup> показав, що цей перехід характеризується змінами структури пріона. Зокрема, фізіологічний пріон містить 42%  $\alpha$ -спіралей і майже не містить  $\beta$ -структур (усього близько 3%), тоді як інфекційний – 30%  $\alpha$ -спіралей і 43%  $\beta$ -структур [3, 80, 81] (рис. 2).

**Рис. 1.** Будова фізіологічного пріона ( $\text{PrP}^{\text{C}}$ ) (схема) [115]  
**Fig. 1.** Structure of the physiological ( $\text{PrP}^{\text{C}}$ ) prion structure (scheme) [115]



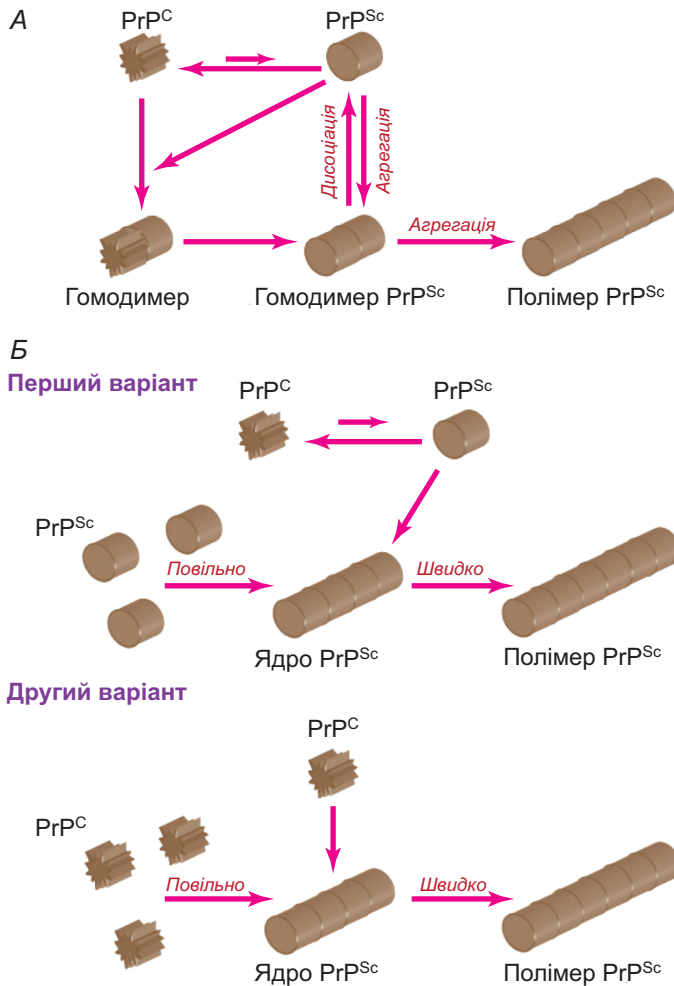
**Рис. 2.** Порівняння будови фізіологічного ( $\text{PrP}^{\text{C}}$ ) та патологічного ( $\text{PrP}^{\text{Sc}}$ ) пріонів (схема)  
**Fig. 2.** Comparison of the physiological ( $\text{PrP}^{\text{C}}$ ) and pathological ( $\text{PrP}^{\text{Sc}}$ ) prion structures (scheme)

Обробка фізіологічного пріона реагентами, що інгібують утворення  $\beta$ -структур, призводить до зменшення інфекційності переродженого пріона. Одночасно знижується і стійкість  $\text{PrP}^{\text{Sc}}$  до дії протеази К, чутливість до якої вважається маркером, що відрізняє  $\text{PrP}^{\text{C}}$  від  $\text{PrP}^{\text{Sc}}$  [31, 81]. Тобто набуття інфекційних властивостей пріоном  $\text{PrP}$  обумовлене утворенням  $\beta$ -структур.

Перетворення нормального протеїну в патогенний, імовірно, відбувається внаслідок білок-білкових взаємодій, незалежно від того, потрапляє  $\text{PrP}^{\text{Sc}}$  в організм ззовні чи виникає в ньому спонтанно (у разі спорадичних і спадкових пріонних захворювань) [114].

Пропонують дві моделі, які описують це перетворення [3]. Згідно з гетеродимерною моделлю, фізіологічний пріон є мономером і фізична взаємодія  $\text{PrP}^{\text{Sc}}$  з  $\text{PrP}^{\text{C}}$  каталізує перетворення  $\text{PrP}^{\text{C}} \rightarrow \text{PrP}^{\text{Sc}}$  (рис. 3, А). Однак після взаємодії утворюються гомодимери  $\text{PrP}^{\text{Sc}}\text{-PrP}^{\text{Sc}}$ , які можуть дисоціювати, запускаючи нові ланки конформаційного перетворення, або агрегувати. Процес нагадує ланцюгову реакцію і може відбуватися досить швидко, проте залишається неоясненим механізм утворення амілоїдних структур.

Друга модель розглядає патологічний пріон як упорядкований полімер [3]. Процес його утворення внаслідок конформаційної перебудови  $\text{PrP}^{\text{C}}$ , відповідно до цієї теорії, нагадує кристалізацію, яку запускає олігомер  $\text{PrP}^{\text{Sc}}$ . Під час цього формується ядро – олігомер  $\text{PrP}^{\text{Sc}}$ , що є інтермедіатом пріонного перетворення (рис. 3, Б). Нагромадження  $\text{PrP}^{\text{Sc}}$  (у вигляді амілоїдів) у тканині мозку хворих людей зазвичай містять ниткоподібні агрегати цього протеїну, що свідчить про впорядковану полімеризацію [113].



**Рис. 3.** Механізми пріонного перетворення: А – гетеродимерна модель; Б – два варіанти полімеризаційної моделі (утворення ядра  $\text{PrP}^{\text{Sc}}$  відбувається повільно, а полімеризація – швидко) [3]

**Fig. 3.** The mechanisms of prion conversion: А – heterodimers model; Б – two options of the polymerization model (the  $\text{PrP}^{\text{Sc}}$  nucleus formation occurs slow, and the polymerization – fast) [3]

Відповідно до цієї моделі є два можливих варіанти пріонного переходу. Перший передбачає, що  $\text{PrP}^{\text{C}}$  і  $\text{PrP}^{\text{Sc}}$  співіснують у термодинамічній рівновазі, яка зрушена до  $\text{PrP}^{\text{C}}$ , і  $\text{PrP}^{\text{Sc}}$  утворюється після приєднання мономера  $\text{PrP}$  до ядра. У результаті

цього мономер  $\text{PrP}^{\text{Sc}}$  входить до складу полімеру  $\text{PrP}^{\text{Sc}}$ . Якщо мономер  $\text{PrP}^{\text{Sc}}$  не приєднався до ядра, то відбувається зворотне перетворення  $\text{PrP}^{\text{Sc}} \rightarrow \text{PrP}^{\text{C}}$ .

Другий варіант полімеризаційної моделі передбачає, що конформаційна перебудова відбувається в момент приєднання мономера  $\text{PrP}^{\text{C}}$  до олігомерів  $\text{PrP}^{\text{Sc}}$ .

Згодом було показано існування інтермедіаторів пріонного перетворення – олігомерних комплексів, які менше структуровані, ніж пріонні фібрили, і нагадують міцели. Для того, щоб такий олігомерний комплекс міг каталізувати пріонний перехід, він має сформувати стабільне ядро, що складається із  $\text{PrP}^{\text{Sc}}$ . До нього можуть приєднуватись як мономери  $\text{PrP}^{\text{C}}$ , так і олігомерний комплекс і, як наслідок, перетворюватися у  $\text{PrP}^{\text{Sc}}$  [1, 81]. Тобто ядро є матрицею для утворення полімерів інфекційного пріона.

Отже, фізіологічний пріон є протеїном, який розміщений на поверхні клітинної мембрани та виконує важливі функції. Проте за певних умов він може перетворюватися на патологічну форму, змінюючи під час цього конформацію молекули. Припускають можливі схеми, за якими відбувається така перебудова. Інфекційна форма пріона (скреїпі-конформація) спричиняє нейродегенеративні захворювання.

## 2. УЧАСТЬ ФІЗІОЛОГІЧНОГО ПРІОНА У РЕГУЛЯЦІЇ ТРАНСПОРТУ $\text{Ca}^{2+}$

Вивчення фізіологічної ролі  $\text{PrP}^{\text{C}}$  у багатьох клітинних процесах є важливим для з'ясування причин виникнення нейродегенерацій, які спричинені безпосередньою нейротоксичною дією пріонів або втратою функціональності  $\text{PrP}^{\text{C}}$ . Крім цього, дослідження фізіологічної ролі  $\text{PrP}^{\text{C}}$  може пришвидшити розробку ефективних терапевтичних стратегій для боротьби з ТГЕ.

Відомо, що  $\text{PrP}$ -нокаутовані тварини мають імунітет до пріонних інфекцій [17, 18], нормально розвиваються без нейродегенеративних ознак, проте у них наявні нейрофізіологічні та поведінкові розлади [23, 73, 93]. Наприклад, показано, що у  $\text{PrP}$ -нокаутованих мишей порушений процес утворення гемопоетичних лімфоцитів [112] і пригнічена регенерація скелетних м'язів [94].

Дослідження функції  $\text{PrP}^{\text{C}}$  *in vitro* та *in vivo* показали, що цей протеїн залучений не лише у метаболізм Купруму і механізми захисту від окиснювального стресу й апоптозу клітин, але також у клітинній адгезії, міграції, проліферації та диференціації, взаємодії з позаклітинними компонентами [4, 62]. Крім того, фізіологічний пріон бере участь у формуванні синаптичної структури та її функціонуванні [32], оскільки дисфункція синапсів є основною молекулярною патологією за пріонних інфекцій [2, 22].

Одним із важливих показників нормального функціонування клітини є гомеостаз Кальцію. Він підтримується за рахунок функціонування систем пасивного (кальцієві канали) й активного або енергозалежного (кальцієві помпи та обмінники) транспорту, які локалізовані у субклітинних мембранних структурах.

Через  $\text{Ca}^{2+}$ -канали плазматичної мембрани відбувається пасивне надходження  $\text{Ca}^{2+}$  з навколишнього середовища у цитоплазму клітини. Іншим джерелом внутрішньоклітинного  $\text{Ca}^{2+}$  є  $\text{Ca}^{2+}$ -депо різних компартментів ендоплазматичної сітки (ЕПС) та кальцисоми [13]. До системи енергозалежного транспорту іонів Кальцію належать  $\text{Ca}^{2+}$ -помпа (PMCA) та  $\text{Na}^+$ - $\text{Ca}^{2+}$ -обмінник (NCX) цитоплазматичної мембрани,  $\text{Ca}^{2+}$ -помпа сарко(ендо)плазматичної сітки (SERCA), транспортна система  $\text{Ca}^{2+}$  мітохондрій,  $\text{H}^+$ - $\text{Ca}^{2+}$ - та  $\text{Na}^+$ - $\text{Ca}^{2+}$ -обмінні системи мітохондрій [12, 15, 36]. Порушення гомеостазу Кальцію спричиняє у кінцевому результаті загибель нейронів.

На основі результатів багатьох досліджень клітинних моделей пріонних інфекцій показано зв'язок між пріонною патологією та порушенням  $\text{Ca}^{2+}$ -обміну [26, 28, 33, 89]. Є дві гіпотези щодо способу регуляції транспортних систем  $\text{Ca}^{2+}$  фізіологічним пріоном. Перша з них передбачає, що  $\text{PrP}^c$  безпосередньо взаємодіє з системами ( $\text{Ca}^{2+}$ -канали або метаботропні рецептори), що забезпечують підтримання гомеостазу  $\text{Ca}^{2+}$ , а також модулює активність цих систем. Друга гіпотеза полягає в тому, що  $\text{PrP}^c$  розглядають як складову багатокомпонентних комплексів сигналізації клітинної поверхні, що регулює певні механізми, який в кінцевому результаті контролює експресію  $\text{Ca}^{2+}$ -транспортних протеїнів [54, 70].

Zamponi G.W. зі співавторами запропонував механізм функціональної взаємодії  $\text{PrP}^c$  і транспортних систем  $\text{Ca}^{2+}$  [110]. Встановлено, що  $\text{PrP}^c$  блокує активність NMDA- $\text{Ca}^{2+}$ -каналів у результаті взаємодії з  $\text{NR}_2\text{D}$ -субодиницею, перешкоджаючи надходженню іонів Кальцію в цитоплазму нейронів [50, 110] (рис. 4). Це забезпечує зниження збудливості нейронів гіпокампу внаслідок блокування виділення глутамату, який є основним збуджувальним нейромедіатором ЦНС.

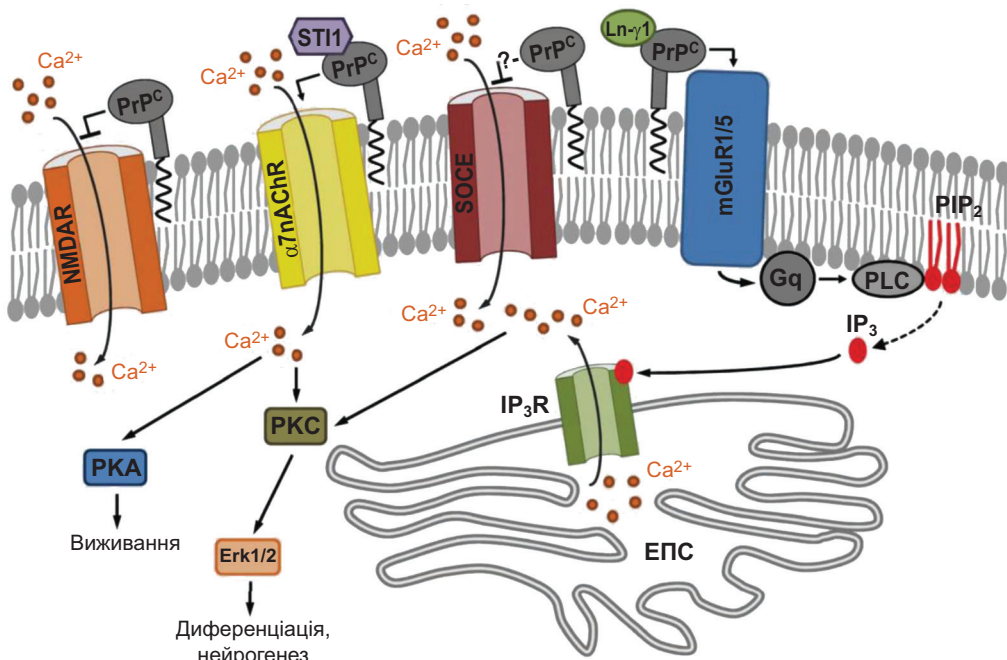


Рис. 4. Взаємодія  $\text{PrP}^c$  з  $\text{Ca}^{2+}$ -залежними транспортними системами нейронів (схема) [77]

Fig. 4.  $\text{PrP}^c$  interaction with  $\text{Ca}^{2+}$ -dependent neurons transport systems (scheme) [77]

Натомість у  $\text{CA}_1$ -ділянці гіпокампу скреїпі-інфікованих тварин довготривале потенціювання відбувається завдяки надходженню  $\text{Ca}^{2+}$  через рецепторкервані  $\text{Ca}^{2+}$ -канали<sup>+</sup> N-метил-D-аспарагінової кислоти (NMDA), що містять рецептори глутамату (NMDARs). У результаті рівень цитозольного  $\text{Ca}^{2+}$  зростає, що стимулює зростання  $\text{Ca}^{2+}$ -кальмодулінзалежної кінази II (CaMKII) і підсилює довготривале потенціювання за рахунок збільшення функціональності  $\alpha$ -аміно-3-гідрокси-5-метил-4-ізоксазол-пропіонової кислоти (AMPA)-глутаматних рецепторів  $\text{Ca}^{2+}$ -каналів

на постсинаптичних ділянках [65]. Тобто PrP<sup>c</sup> виконує нейропротекторну функцію за умов збільшення активності NMDAR- $\text{Ca}^{2+}$ -каналів [10, 50, 84, 110]. Оскільки експресія  $\text{Ca}^{2+}$ -кальмодулінзалежної кінази II встановлена лише у PrP<sup>Sc</sup>-інфікованих клітин [42], то з цього випливає, що пріонопатія виникає унаслідок втрати PrP<sup>c</sup> регуляторної функції через можливу його конверсію у PrP<sup>Sc</sup>.

Причому є дані, що пріонні нейродегенерації [101] та ішемічні ушкодження головного мозку [91, 103] включають у себе порушення синтезу та секреції нейромедіаторів, зокрема глутамату на рівні парасимпатичних нервових закінчень. Проте під час вивчення участі PrP<sup>c</sup> у механізмах контролювання гомеостазу  $\text{Ca}^{2+}$  необхідно враховувати те, що різні типи клітин експресують різні кількості PrP<sup>c</sup>.

Під час дослідження культури клітин мікроглії PrP-нокаутованих мишей встановлено, що фізіологічний пріон здатний формувати іонні канали у ліпідному бішарі плазматичної мембрани, які є вільно проникними для найбільш поширених фізіологічних іонів, зокрема  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{K}^{+}$  і  $\text{Na}^{+}$  [7, 47].

Додатково вивчений механізм взаємодії PrP<sup>c</sup> з позаклітинними протеїнами, що сприяють росту аксонів, нейрональній диференціації та їх виживанню. Крім того, відомо, що PrP<sup>c</sup> зв'язується з  $\gamma_1$  ланцюгом ламініну ( $\text{Ln-}\gamma_1$ ), і цей комплекс активує групу I метаботропних глутаматних рецепторів ( $\text{mGluR}_{1/5}$ ). У свою чергу,  $\text{mGluRs}$  стимулюють утворення інозитол-1,4,5-трифосфату ( $\text{IP}_3$ ) з фосфатиділінозитол 4,5-бісфосфату ( $\text{PIP}_2$ ) за участю G-протеїн(Gp)-активованої фосфоліпази C (PLC). Після цього  $\text{IP}_3$  зв'язується з рецепторами ( $\text{IP}_3\text{R}$ )  $\text{IP}_3$ -чутливих  $\text{Ca}^{2+}$ -каналів ЕПС і відбувається вивільнення  $\text{Ca}^{2+}$  з ЕПС у цитоплазму (рис. 4). Зростання концентрації цитозольного  $\text{Ca}^{2+}$  сприяє синтезу протеїнкінази C (PKC), яка активує  $\text{ERK}_{1/2}$ , що є посередником нейрогенезу [10, 91].

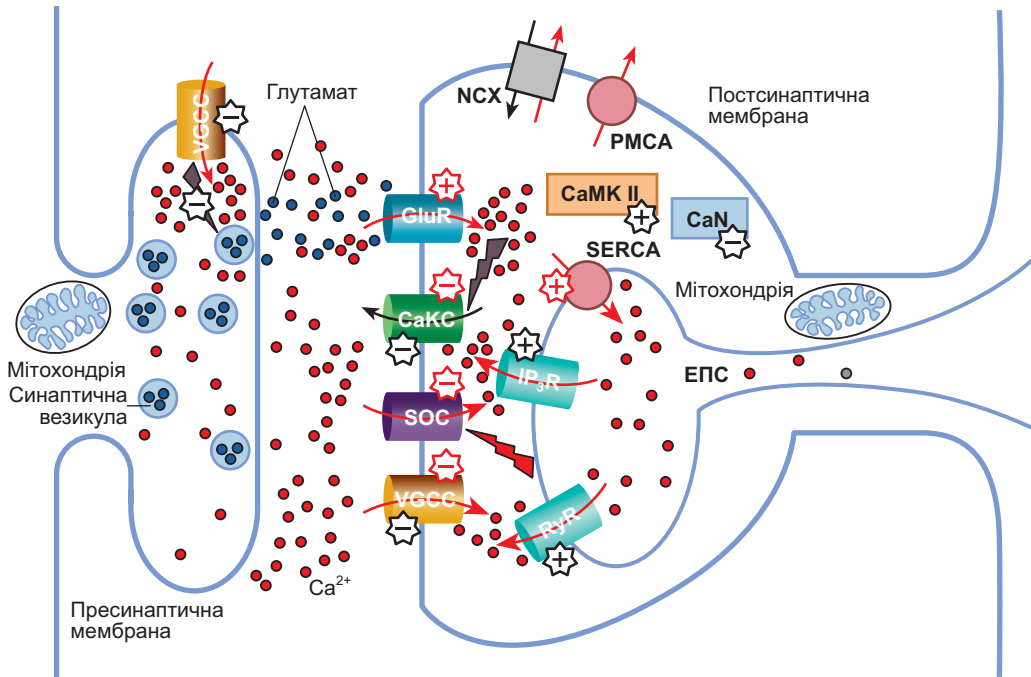
Описано аналогічний механізм взаємодії PrP<sup>c</sup> з позаклітинним стресіндукованим протеїном 1 ( $\text{STI}_1$ ) [64, 111]. Комплекс PrP<sup>c</sup>- $\text{STI}_1$  активує  $\alpha_7$  нікотиновий рецептор ацетилхоліну ( $\alpha_7\text{nAChR}$ )  $\text{Ca}^{2+}$ -каналу. У результаті збільшується концентрація цитозольного  $\text{Ca}^{2+}$ , внаслідок чого може відбуватися диференціювання нейронів або їх виживання, залежно від способу надходження  $\text{Ca}^{2+}$ : за опосередкованою участю мітоген-активованої кінази (MAPKs)  $\text{Erk}_{1/2}$  чи протеїнкінази A (PKA), відповідно [11] (рис. 4).

Підвищення рівня  $\text{Ca}^{2+}$  може впливати на здатність PrP<sup>c</sup> регулювати експресію генів через активацію різних сигнальних шляхів [38, 89, 90]. Використання методів протеоміки і транскриптоміки допомогло встановити, що PrP<sup>c</sup> впливає на рівень експресії  $\text{Ca}^{2+}$ -зв'язуючих протеїнів [16, 60, 82, 104].

Порівняння механізмів  $\text{Ca}^{2+}$ -обміну нейронів мозочка нормальних і PrP-нокаутованих тварин показало, що у нейронах останніх підвищений вміст  $\text{Ca}^{2+}$  в цитоплазмі та зменшений в ЕПС корелює зі зниженою активністю двох основних транспортних систем  $\text{Ca}^{2+}$  (PMCA та SERCA) [38, 56]. Нейрони PrP-нокаутованих тварин також експресують меншу кількість протеїну Orai-2, який є пороутворюючою субодиницею депокерованих  $\text{Ca}^{2+}$ -каналів (SOCE). Щоб пояснити цей парадокс, можна припустити можливість активуючої взаємодії PrP<sup>c</sup> з певними компонентами депокерованих (SOCE)  $\text{Ca}^{2+}$ -каналів, за подібним до вищезгаданих механізмом, яка відбувається у нейронах нормальних тварин [77] (рис. 4).

Подібні результати отримали Sorgato M. та Bertoli A. (2009) про пріонну регуляцію  $\text{Ca}^{2+}$ -каналів (рис. 5). Ймовірно, пріонної регуляції зазнають також  $\text{Ca}^{2+}$ -АТФ-аза (SERCA) та  $\text{Ca}^{2+}$ -канали, чутливі до інозитолтрифосфату ( $\text{IP}_3\text{R}$ ) або ріанодину

(RyR), як описано вище. Чорна зірочка на рис. 5 вказує на активацію процесів, які зазвичай відбуваються, коли  $\text{Ca}^{2+}$  надходить у клітину через потенціалкервані  $\text{Ca}^{2+}$ -канали (VGCC) або рецепторкервані з рецепторами глутамату (GluR). Це відкриває  $\text{Ca}^{2+}$ -активовані  $\text{K}^{+}$ -канали (CaKC) у постсинаптичній мембрані й обумовлює злиття синаптичних везикул у пресинаптичній мембрані.



**Рис. 5.** Узагальнююча схема пріонної регуляції  $\text{Ca}^{2+}$ -каналів (зірочками вказано  $\text{Ca}^{2+}$ -канали, які інгібуються (-) або активуються (+) фізіологічним пріоном  $\text{PrP}^{\text{C}}$  (чорне забарвлення) чи за його відсутності (червоне)) [89]

**Fig. 5.** Generalized scheme of prion regulation of  $\text{Ca}^{2+}$ -channels (the stars are  $\text{Ca}^{2+}$ -channels that are inhibited (-) or activated (+) by cellular prion  $\text{PrP}^{\text{C}}$  (black color) or in its absence (red)) [89]

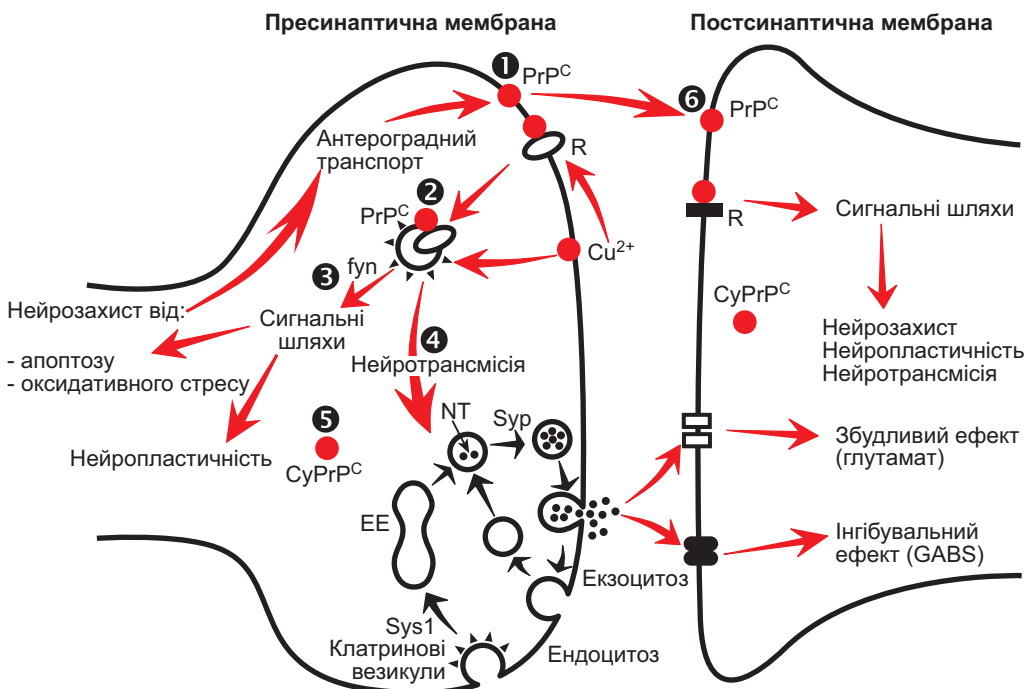
Червона зірочка на рис. 5 вказує на активацію депокерованих  $\text{Ca}^{2+}$ -каналів (SOC) та вивільнення  $\text{Ca}^{2+}$  із депо ЕПС. Крім того, виявлена експресія  $\text{Ca}^{2+}$ -кальмодулін-залежної кінази II (CaMKII) і фосфатази кальциневрину (CaN) в деяких дослідках на моделях пріонних захворювань. Навпаки, відсутні повідомлення про роботу  $\text{Na}^{+}$ - $\text{Ca}^{2+}$ -обмінника (NCX) та  $\text{Ca}^{2+}$ -АТФ-ази плазматичної мембрани (PMCA) [89].

На культурі  $\text{PrP}^{\text{Sc}}$ -інфікованих нейронів, а також в ураженому мозку тварин виявлено електрофізіологічні порушення та дисфункцію синапсів. Оскільки ці процеси пов'язані з іонами Кальцію, то їх розлади можна інтерпретувати як наслідки порушення  $\text{Ca}^{2+}$ -гомеостазу, що, у свою чергу, може бути причиною поведінкових і когнітивних патологій під час пріонних захворювань [9, 20, 24, 43–45, 67].

Використання світлової та електронної мікроскопії, імуноцитохімічних досліджень дало можливість встановити, що після синтезу в сомі нейрона  $\text{PrP}^{\text{C}}$ , унаслідок anterograde transport, потрапляє в аксон і досягає пресинаптичної мембрани (рис. 6, 1) [32]. Згодом, щоб набути функціональної активності, він специфічно



зв'язується з клітинною мембраною або позаклітинними рецепторами (NCAM, LN, LRP-LR,  $\text{LRP}_1$ ,  $\text{ST}_1$  і гліканами), утворюючи мультипротеїнові комплекси (наприклад, LRP-LR-глікани).



**Рис. 6.** Узагальнююча схема участі фізіологічного пріона ( $\text{PrP}^{\text{C}}$ ) у функціонуванні синапсу: (EE – ранні ендосоми, NT – нейромедіатор (можливо, глутамат або GABA),  $\text{Sys}_1$  – синапсин<sub>1</sub>, Syp – синаптофизин, CyPrP<sup>C</sup> – цитозольний PrP<sup>C</sup>) [32]

**Fig. 6.** Generalized scheme of the physiological prion ( $\text{PrP}^{\text{C}}$ ) participation in synapse functioning: (EE – early endosomes, NT – neuromediator (possibly glutamate or GABA),  $\text{Sys}_1$  – synapsin<sub>1</sub>, Syp – synaptophysin, CyPrP<sup>C</sup> – cytosolic PrP<sup>C</sup>) [32]

Іони Купруму здатні селективно зв'язуватися октапептидними повторами  $\text{PrP}^{\text{C}}$  і є фактором ендоцитозу, особливо в поєднанні з лігандами ( $\text{LRP}_1$ ) [32]. Комплекс  $\text{Cu}^{2+}$ - $\text{PrP}^{\text{C}}$  бере участь у сигнальних шляхах і механізмах антиоксидантного захисту. Припускають, що ендоцитоз  $\text{PrP}^{\text{C}}$  відбувається через клатринові везикули за участю протеїнів Rab і  $\text{Grb}_2$  (2).  $\text{PrP}^{\text{C}}$  активує внутрішньоклітинні протеїнкінази (fyn-кінази), які входять до складу сигнальних шляхів нейропротекції або нейропластичності (рис. 6, 3).

$\text{PrP}^{\text{C}}$  бере участь у нейротрансмісії (рис. 6, 4), взаємодіючи з синапсином<sub>1</sub> і синаптофізином, які беруть участь у процесі екзо-ендоцитотичного циклу синаптичних міхурців [32]. Така мембрано-незв'язана форма  $\text{PrP}^{\text{C}}$  (5) була виявлена у закінченнях аксонів за допомогою імунологічних методів [22]. Цитоплазматичні молекули  $\text{PrP}^{\text{C}}$  мають поліаденіляційні елемент-зв'язувальні властивості й залучені у пре-/постсинаптичні молекулярні реакції. Крім того,  $\text{PrP}^{\text{C}}$  локалізований на постсинаптичній мембрані (6) структурно або після міграції транскитозу (вільно або пов'язано з екзосомами) (рис. 6).

Реєстрація біопотенціалів мозку PrP-нокаутованих мишей підтвердила функціональну роль пріона у синаптичній передачі інформації. Зокрема, досліджували  $CA_1$ -ділянки гіпокампу, в яких виявлено більшість пріон-індукованих синаптичних порушень. Спочатку було показано послаблення довгострокового потенціювання та зниження рецептор-опосередкованого швидкого інгібування [33]. Переважна більшість досліджень вказує на позитивну кореляцію між рівнем експресії фізіологічного пріона та загальною силою глутаматергічної передачі в нейронах гіпокампу [10]. Цей ефект, можливо, є результатом більш ефективного рекрутування пресинаптичних волокон у разі зростання рівня експресії фізіологічного пріона. Поряд зі зменшенням гіперполяризації, яка спостерігається у гіпокампіальних  $CA_1$ -нейронах і клітинах Пуркінє PrP-нокаутованих мишей, відбувається зниження  $Ca^{2+}$ -залежної  $K^+$ -провідності [21, 39]. Зменшення гіперполяризації також досліджено у пірамідальних нейронах після прета постнатальної делеції гена фізіологічного пріона. Тобто за наявності фізіологічного пріона гіперполяризація нейронів зростає, як і активність  $Ca^{2+}$ -залежних  $K^+$ -каналів.

У PrP-нокаутованих мишей виявлено нейробиологічні патології, які можуть залежати від формування та функціонування синапсів. Це переважно зміни в організації нервових волокон [22], порушення циркадних ритмів і дисфункція просторового орієнтування та навчання [24].

На зрізах  $CA_1$ -ділянки гіпокампу PrP-нокаутованих мишей встановлено послаблене довготривале потенціювання, залежність рівня  $Ca^{2+}$  від  $\gamma$ -аміномасляної кислоти (ГАМК), що впливає на швидкість пресинаптичного інгібування [22, 34, 69, 74, 106]. Це допомогло підтвердити, що відсутність PrP<sup>c</sup> сприяє ушкодженню синапсів і дегенерації нейронів, які спостерігали під час пріонних захворювань. Інші дані показують, що за відсутності PrP<sup>c</sup> не змінюється нейронна збудливість, синаптична передача та довготривале потенціювання у клітинах гіпокампу [63], а також ГАМК і глутамат-рецептор-опосередковані струми мембран клітин Пуркінє [37].

Аналіз ділянки  $CA_1$  гіпокампу PrP-нокаутованих і нормальних мишей показав, що посттетанічне та довготривале потенціювання за відсутності PrP<sup>c</sup> залежить від віку тварин [25]. Одночасно з цим, порушення електричної чутливості синаптичної передачі й довготривалого потенціювання спостерігали у клітинах мозочка PrP-нокаутованих тварин на ранніх стадіях онтогенезу. Це може бути пов'язане з пізнім дозріванням цих клітин, а не з безпосередньою участю PrP<sup>c</sup> у регулюванні синаптичних функцій [79].

Дослідження електрофізіологічних особливостей цієї ділянки мозку показали значне зниження повільної слідової гіперполяризації пірамідальних клітин PrP-нокаутованих тварин, порівняно з нормальними нейронами [6, 22, 33, 66, 78]. Слідова гіперполяризація відбувається завдяки каскаду потенціалів дії, що спричинені деполяризуючими імпульсами за участю  $Ca^{2+}$ -активованих  $K^+$ -каналів [86]. Тобто ці канали мали знижену активність у нейронах PrP-нокаутованих тварин [22]. Таке порушення пояснювали зниженням надходження  $Ca^{2+}$  через потенціалкеровані  $Ca^{2+}$ -канали N-типу [33] або збільшеною активністю SERCA. У клітинах Пуркінє мозочка PrP-нокаутованих тварин також виявлено зниження деполяризації, що спричинене цитозольним  $Ca^{2+}$  та зміною  $Ca^{2+}$ -активованих  $K^+$ -каналів [39]. Також встановлено зменшення  $Ca^{2+}$ -відповіді у PrP<sup>Sc</sup>-інфікованих нейронах, яке обумовлене наявністю фібрилогенних нейротоксичних пептидів, що містять 106–126-PrP-амінокислотні залишки (PrP (106–126)) [54, 107]. Це спричинене інгібуванням потенціалкерованих  $Ca^{2+}$ -каналів N-типу [30, 31, 87, 95, 96] унаслідок взаємодії з PrP-амінокислотними залишками (106–126).

Отже, фізіологічний пріон залучений у регуляцію транспорту  $\text{Ca}^{2+}$ , впливаючи на роботу  $\text{Ca}^{2+}$ -каналів унаслідок прямої чи опосередкованої взаємодії з рецепторами, що у кінцевому результаті забезпечує найрозахисну функцію. Крім того, фізіологічний пріон бере участь у функціонуванні синапсів і нейропередачі у процесі екзо-ендоцитотичного циклу синаптичних міхурців.

### 3. ПРИОННІ НЕЙРОПАТОЛОГІЇ ТА ГОМЕОСТАЗ $\text{Ca}^{2+}$

Відомо, що нейродегенеративні захворювання характеризуються різними нейропатологічними ознаками, однією з яких є утворення амілоїдних комплексів (амілоїд  $\beta$ , зокрема  $\text{A}\beta_{1-42}$  і  $\text{A}\beta_{1-40}$ -фрагменти) [57]. Ці комплекси є агрегатами неправильно упакованих протеїнів [26, 47, 53]. Встановлений також генетичний зв'язок між хворобами Альцгеймера і Крейтцфельда-Якоба, оскільки підтверджено наявність  $\text{PrP}^c$  в  $\text{A}\beta$ -амілоїдах [98]. Крім того, варто зазначити, що  $\text{Met/Val129}$ -поліморфізм  $\text{PrP}$ -гена також розглядають як можливий фактор виникнення ранніх етапів хвороби Альцгеймера [68, 85]. Пептиди  $\text{A}\beta_{1-42}$  і  $\text{A}\beta_{1-40}$  утворюються під час амілоїдогенного каскаду, в якому попередник, трансмембранний протеїн амілоїда, послідовно протеолізується ферментами  $\beta$ - і  $\gamma$ -секретазою [8, 113]. Фізіологічна роль мономерних пептидів  $\text{A}\beta$  повністю не з'ясована. Дослідження показали, що розчинні олігомери  $\text{A}\beta$  (зокрема  $\text{A}\beta_{1-42}$ ) можуть бути основними медіаторами когнітивних порушень, пов'язаних зі збудливістю синаптичної передачі та пластичності в уразливих ділянках мозку, зокрема гіпокампі [100]. Припускають, що нейротоксична дія олігомерів  $\text{A}\beta$  у синапсах полягає в порушенні рівноваги між довготривалим потенціюванням і довготривалою депресією, що спричинена підвищенням рівня цитозольного  $\text{Ca}^{2+}$  через вивільнення із депо [51, 59, 75, 88, 99, 102]. Згідно з гіпотезою, ці порушення є наслідком зміни нейронної  $\text{Ca}^{2+}$ -сигналізації з подальшими розладами, що врешті-решт пришвидшують апоптоз нейронів [41] (рис. 7).

Рівень дисфункціонування синапсів залежить від дії  $\text{PrP}^{\text{Sc}}$ -олігомерів, пов'язаної з утворенням іон-проникних каналів мембран клітин. Крім того, припускають, що патологічні пріони (або пріон-подібні агрегати) спричиняють порушення функціонування іонних каналів [5, 7, 48, 52, 61]. Вважають, що мозок модельних  $\text{PrP}^{\text{Sc}}$ -інфікованих тварин може нагромаджувати значну кількість агрегованих  $\text{PrP}^{\text{Sc}}$ , не проявляючи нейродегенеративних симптомів [114].

Є прямий зв'язок між  $\text{PrP}^c$  і  $\text{A}\beta$ , оскільки  $\text{PrP}^c$  діє як рецептор для олігомерів  $\text{A}\beta$  [35, 55]. Це дослідження показало, що  $\text{A}\beta_{1-42}$  олігомери зв'язуються з  $\text{PrP}^c$  з високою селективністю, внаслідок чого виникає  $\text{A}\beta$ -індуковане синаптичне інгібування і зниження довготривалого потенціювання. Однак подальші дослідження не підтвердили участі комплексу  $\text{PrP}^c$ - $\text{A}\beta$  у зниженні довготривалого потенціювання і когнітивних порушеннях [8, 19, 49]. Очевидно, ці процеси потребують детального вивчення.

Використання  $\text{Ca}^{2+}$ -чутливих зондів „Aequorins” допомогло дослідити роль амілоїдних протеїнів (агрегатів  $\text{PrP}^{\text{Sc}}$ ) у порушенні гомеостазу  $\text{Ca}^{2+}$  в цитоплазмі, просвіті ЕПС і матриксі мітохондрій [16]. Зокрема, під час зараження культури клітин нейронів очищеним  $\text{PrP}^{\text{Sc}}$  відбувається значне збільшення рівня цитозольного  $\text{Ca}^{2+}$  через вивільнення цих іонів із депо ендоплазматичної сітки (ЕПС) і надходження ззовні через  $\text{Ca}^{2+}$ -канали [40, 97]. У результаті збільшується концентрація Кальцію в матриксі мітохондрій і завдяки циклофіліну D (CypD) відбувається відкриття мітохондріальної пори (mPTP). Це спричиняє ушкодження ультраструктури мітохондрій і призводить до зміни окисно-відновного балансу з подальшим виділенням активних форм кисню (АФК), у результаті чого порушується синтез АТФ [15, 46, 92]

і відбувається ініціювання апоптозу [12, 27–29, 58]. При цьому Кальцій вивільняється із депо мітохондрій. Нарешті, дефіцит енергії та виділення проапоптичних протеїнів з ушкоджених мітохондрій призводить до загибелі нейронів через гіперактивацію кальційзалежної фосфатази кальциневрину [72, 84] (рис. 7). Тобто порушення кальцієвого обміну внаслідок зміни співвідношення концентрації  $Ca^{2+}$  у різних компартментах клітини призводить до патологічних змін [70, 71]. Крім того, встановлено, що виникнення пріонних інфекцій та експресія схильних до неправильної конформації PrP<sup>c</sup>-мутантів корелюють зі зниженням кількості  $Ca^{2+}$  в ЕПС і експресією антистресових протеїнів [97]. Проте до кінця не з'ясовано причину виникнення протеїнової відповіді. Очевидно, вона обумовлена порушенням  $Ca^{2+}$ -регуляції в ЕПС або нагромадженням неправильно упакованих протеїнів.

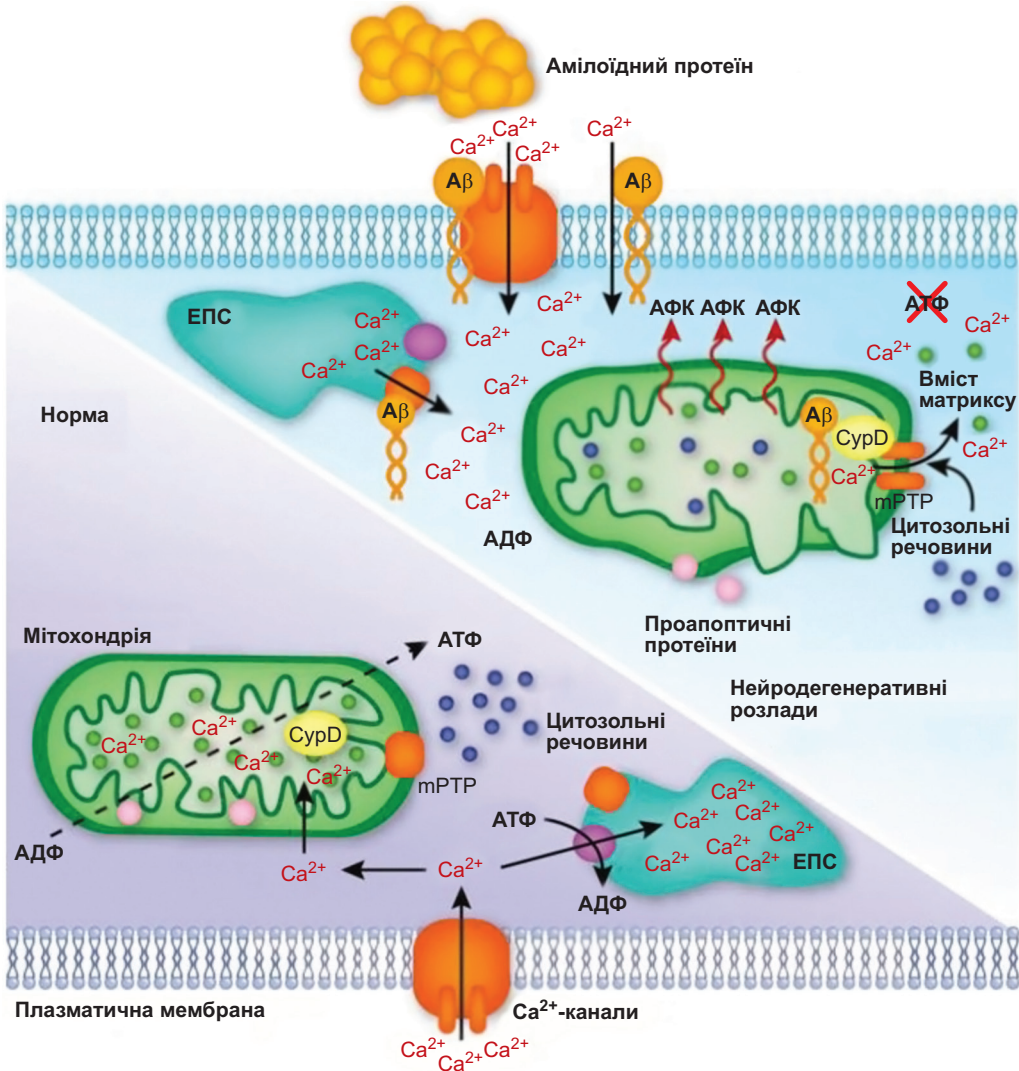


Рис. 7. Схема нейродегенерації за участю амілоїдних комплексів і  $Ca^{2+}$  [92]

Fig. 7. Neurodegeneration involving amyloid complexes and  $Ca^{2+}$  (scheme) [92]

Загалом пріонні захворювання розпочинаються із формування PrP<sup>Sc</sup>, даючи початок довгому пресимптоматичному періоду, в якому PrP<sup>Sc</sup> нагромаджується в мозку. Це спричиняє стрес ЕПС і активацію системи UPR, яка знешкоджує неправильно упаковані протеїни (рис. 8).

Наслідком нагромадження пріонних комплексів є запалення мозку (у вигляді астроцитозу й активації мікроглії) й аутофагія. Обидва ці прояви спочатку є захисними механізмами, але пізніше також сприяють загибелі нейронів мозку та вакуолізації (губкоподібній дегенерації). Першим ушкодженням, що призводить до помітних клінічних наслідків, ймовірно, є дисфункція синапсів. Остання супроводжується втратою дендритів і, як наслідок, нейронів. Кінцеві незворотні стадії захворювання характеризуються летальністю, що є наслідком порушення різних взаємопов'язаних метаболічних шляхів.

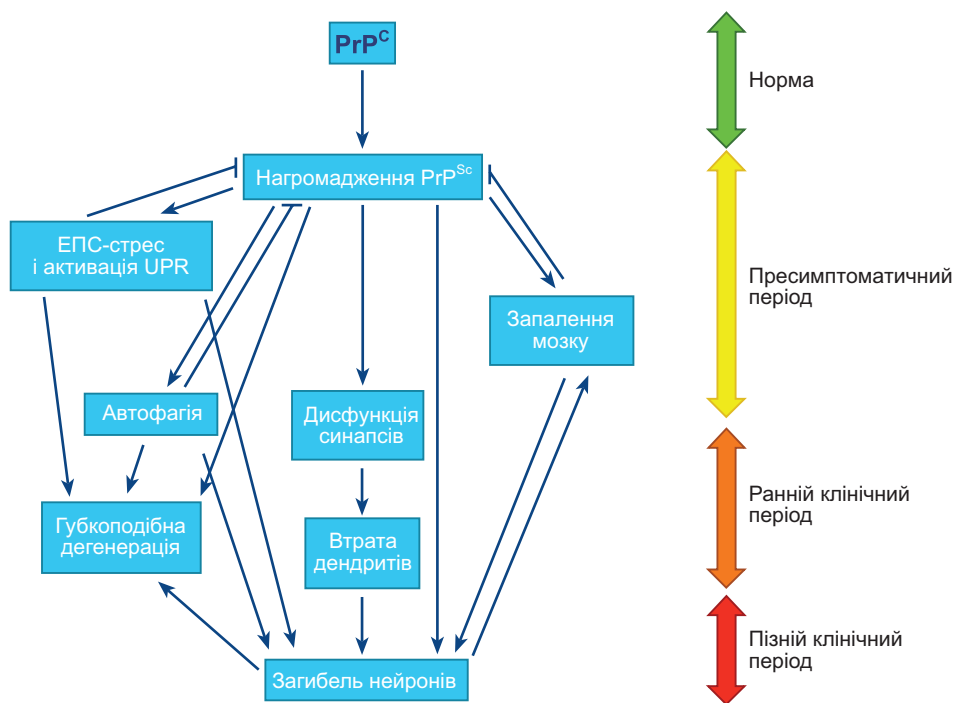


Рис. 8. Модель нейродегенерації під час пріонних захворювань [110]

Fig. 8. Model of neurodegeneration in prion diseases [110]

Отже, пріонні нейропатології супроводжуються порушенням гомеостазу Ca<sup>2+</sup> внаслідок зміни функціонування Ca<sup>2+</sup>-каналів. Внаслідок цього змінюються процеси довготривалого потенціювання та спостерігається дисфункція синапсів, що в результаті призводить до ушкодженням нейронів і їхньої загибелі.

### ВИСНОВКИ

Узагальнено фізіологічну функцію клітинного пріона, що є важливим для встановлення причин виникнення трансмісивних губкоподібних енцефалопатій. Зважаючи на локалізацію PrP<sup>C</sup> у клітині, зроблені припущення про його участь у різних

процесах метаболізму, зокрема клітинній адгезії та розпізнаванні, трансмембранній сигналізації, транспорті іонів крізь мембрану, антиоксидантному захисті. Крім того, встановлено, що PrP<sup>C</sup> локалізований уздовж аксона й у пресинаптичних закінченнях, що підтверджує його участь у функціонуванні синапсів. Фізіологічний пріон залучений у формування синаптичної структури внаслідок утворення мультипротеїнових комплексів на поверхні клітини та нейропередачі, взаємодіючи з синапсином<sub>1</sub> і синаптофізином, які беруть участь у процесі екзо-ендоцитотичного циклу синаптичних везикул.

PrP<sup>C</sup> відіграє важливу роль у підтриманні гомеостазу Ca<sup>2+</sup>, оскільки пріонні інфекції супроводжуються електрофізіологічними та синаптичними дисфункціями нейронів. Оскільки ці процеси пов'язані з іонами Кальцію, то їх розлади можна інтерпретувати як наслідки порушення гомеостазу Ca<sup>2+</sup>. Крім того, участь у регуляції Ca<sup>2+</sup>-каналів дала можливість обґрунтувати нейропротекторну функцію PrP<sup>C</sup> та її порушення під час пріонопатії. Зокрема, PrP<sup>C</sup> взаємодіє з NR<sub>2</sub>D-субодиницею NMDA (N-метил-D-аспартат)-рецепторів Ca<sup>2+</sup>-каналів, заблоковуючи їх, що перешкоджає надходженню іонів Кальцію в цитоплазму нейронів, а також виділення молекул глутамату. Глутамат є основним збуджувальним нейромедіатором центральної нервової системи, тобто фізіологічний пріон регулює захисний механізм, який використовують нейрони для запобігання збудливості й глутаматергічній зовнішній цитотоксичності, що супроводжує нейродегенерації. PrP<sup>C</sup> опосередковано впливає на диференціацію та нейрогенез завдяки регуляції інших Ca<sup>2+</sup>-каналів, сприяючи вивільненню через них іонів Кальцію. Проте це не повністю характеризує фізіологічну роль PrP<sup>C</sup> у життєдіяльності клітини.

PrP<sup>C</sup> регулює транспорт Ca<sup>2+</sup>, і втрата його фізіологічної функції спричиняє порушення гомеостазу Ca<sup>2+</sup>, що в подальшому призводить до розвитку пріонопатій та інших нейродегенеративних розладів. Зміна рівня Ca<sup>2+</sup>, від якого залежать функціонування синапсів і їхня пластичність, відбувається у заражених мишей ще до появи клінічних симптомів [20, 24, 41, 67]. Контролювання рівня цитоплазматичного Ca<sup>2+</sup> можна використовувати з терапевтичною метою для діагностики пріонних захворювань.

1. *Вербицький П.І. Губчастоподібна енцефалопатія великої рогатої худоби та інші пріонні інфекції.* К.: Ветінформ, 2005. 240 с.
2. *Влізло В.В., Стадник В.В., Майор Х.Я., Вербицький П.І.* Фізіологічний пріон та його роль у функціонуванні клітини. **Біологія тварин**, 2008; 10(1–2): 9–23.
3. *Шкундина И.С., Тер-Аванесян М.Д.* Прионы. **Успехи биол. химии**, 2006; 46: 3–42.
4. *Aguzzi A., Calella A.M.* Prions: protein aggregation and infectious diseases. **Physiol. Rev.**, 2009; 89: 1105–1152.
5. *Aliev K., Li Z., Mactavish D. et al.* Ionic mechanisms of action of prion protein fragment PrP(106–126) in rat basal forebrain neurons. **J. Neurosci. Res.**, 2010; 88: 2217–2227.
6. *Asante E.A., Li Y.G., Gowland I. et al.* Pathogenic human prion protein rescues PrP null phenotype in transgenic mice. **Neurosci. Lett.**, 2004; 360: 33–36.
7. *Bahadi R., Farrelly P.V., Kenna B.L. et al.* Channels formed with a mutant prion protein PrP(82–146) homologous to a 7-kDa fragment in diseased brain of GSS patients. **Am. J. Physiol. Cell Physiol.**, 2003; 285: 862–872.
8. *Balducci C., Beeg M., Stravalaci M. et al.* Synthetic amyloid-beta oligomers impair long-term memory independently of cellular prion protein. **Proc. Natl. Acad. Sci. USA**, 2010; 2: 2295–2300.

9. Barrow P.A., Holmgren C.D., Tapper A.J., Jefferys J.G. Intrinsic physiological and morphological properties of principal cells of the hippocampus and neocortex in hamsters infected with scrapie. **Neurobiol. Dis**, 1999; 6: 406–423.
10. Beraldo F.H., Arantes C.P., Santos T.G. et al. Metabotropic glutamate receptors transduce signals for neurite outgrowth after binding of the prion protein to laminin  $\alpha_1$  chain. **FASEB J**, 2011; 25: 265–279.
11. Beraldo F.H., Arantes C.P., Santos T.G. et al. Role of  $\alpha_7$  nicotinic acetylcholine receptor in calcium signalling induced by prion protein interaction with stress-inducible protein 1. **J. Biol. Chem**, 2010; 285: 36542–36550.
12. Bernardi P. Mitochondrial transport of cations: channels, exchangers, and permeability transition. **Physiol. Rev**, 1999; 79: 1127–1155.
13. Berridge M.J., Bootman MD, Roderick HL. Calcium signalling: dynamics, homeostasis and remodelling. **Nature Reviews on Molecular and Cell Biology**, 2003; 4: 517–529.
14. Berridge M.J. Inositol trisphosphate and calcium signaling mechanisms. **Biochimica et Biophysica Acta**, 2009; 1793: 933–940.
15. Brini M. Ca<sup>2+</sup>-signalling in mitochondria: mechanism and role in physiology and pathology. **Cell Calcium**, 2003; 34: 399–405.
16. Brini M., Miuzzo M., Pierobon N. et al. The prion protein and its paralogue Doppel affect calcium signaling in Chinese hamster ovary cells. **Mol. Biol. Cell**, 2005; 16: 2799–2808.
17. Bueler H., Aguzzi A., Sailer A. et al. Mice devoid of PrP are resistant to scrapie. **Cell**, 1993; 73: 1339–1347.
18. Bueler H., Fischer M., Lang Y. et al. Normal development and behaviour of mice lacking the neuronal cell surface PrP protein. **Nature**, 1992; 356: 577–582.
19. Calella A.M., Farinelli M., Nuvolone M. et al. Prion protein and  $\beta$ -related synaptic toxicity impairment. **EMBO Mol. Med**, 2010; 2: 306–314.
20. Chiti Z., Knutsen O.M., Betmouni S., Greene J.R. An integrated, temporal study of the behavioural, electrophysiological and neuropathological consequences of murine prion disease. **Neurobiol. Dis**, 2006; 22: 363–373.
21. Colling S.B., Collinge J., Jefferys, J.G. Hippocampal slices from prion protein null mice: disrupted Ca<sup>2+</sup>-activated K<sup>+</sup>-currents. **Neurosci. Lett**, 1996; 209: 49–52.
22. Collinge J., Whittington M.A., Sidle, K.C. et al. Prion protein is necessary for normal synaptic function. **Nature**, 1994; 370: 295–297.
23. Criado J.R., Sanchez-Alavez M., Conti B. et al. Mice devoid of prion protein have cognitive deficits that are rescued by reconstitution of PrP in neurons. **Neurobiol. Dis**, 2005; 19: 255–265.
24. Cunningham C., Deacon R., Wells H. et al. Synaptic changes characterize early behavioural signs in the ME, model of murine prion disease. **Eur. J. Neurosci**, 2003; 17: 2147–2155.
25. Curtis J., Errington M., Bliss T. et al. Age-dependent loss of PTP and LTP in the hippocampus of PrP-null mice. **Neurobiol. Dis**, 2003; 13: 55–62.
26. Demuro A., Mina E., Kaye R. et al. Calcium dysregulation and membrane disruption as a ubiquitous neurotoxic mechanism of soluble amyloid oligomers. **J. Biol. Chem**, 2005; 280: 17294–17300.
27. Ferreira E., Costa R., Marques S. et al. Involvement of mitochondria in endoplasmic reticulum stress-induced apoptotic cell death pathway triggered by the prion peptide PrP(106–126). **J. Neurochem**, 2008; 104: 766–776.
28. Ferreira E., Oliveira C.R., Pereira C.M. The release of calcium from the endoplasmic reticulum induced by amyloid-beta and prion peptides activates the mitochondrial apoptotic pathway. **Neurobiol. Dis**, 2008; 30: 331–342.
29. Ferreira E., Resende R., Costa R. et al. An endoplasmic-reticulum-specific apoptotic pathway is involved in prion and amyloid-beta peptides neurotoxicity. **Neurobiol. Dis**, 2006; 23: 669–678.
30. Florio T., Thellung S., Amico C. et al. Prion protein fragment 106–126 induces apoptotic cell death and impairment of L type voltage-sensitive calcium channel activity in the GH3 cell line. **J. Neurosci. Res**, 1998; 54: 341–352.

31. Forloni G., Angeretti N., Chiesa R. et al. Neurotoxicity of a prion protein fragment. **Nature**, 1993; 362: 543–546.
32. Fournier J.G. Cellular prion protein electron microscopy: attempts/limits and clues to a synaptic trait. Implications in neurodegeneration process. **Cell Tissue Res**, 2008; 332(1): 1–11.
33. Fuhrmann M., Bittner T., Mitteregger G. et al. Loss of the cellular prion protein affects the Ca<sup>2+</sup>-homeostasis in hippocampal CA<sub>1</sub> neurons. **J. Neurochem**, 2006; 98: 1876–1885.
34. Gerke V, Creutz CE, Moss SE. Annexins: linking Ca<sup>2+</sup>-signalling to membrane dynamics. **Nature Reviews on Molecular and Cell Biology**, 2005; 6: 449–461.
35. Gimbel D.A., Nygaard H.B., Coffey E.E. et al. Memory impairment in transgenic Alzheimer mice requires cellular prion protein. **J. Neurosci**, 2010; 5: 6367–6374.
36. Gouaux E, Mackinnon R. Principles of selective ion transport in channels and pumps. **Science**, 2005; 310: 1461–1465.
37. Herms J.W., Kretzschmar H.A., Titz S., Keller B.U. Patchclamp analysis of synaptic transmission to cerebellar purkinje cells of prion protein knockout mice. **Eur. J. Neurosci**, 1995; 7: 2508–2512.
38. Herms J.W., Madlung A., Brown D.R., Kretzschmar H.A. Increase of intracellular free Ca<sup>2+</sup> in microglia activated by prion protein fragment. **Glia**, 1997; 21: 253–257.
39. Herms J.W., Tings T., Dunker S., Kretzschmar H.A. Prion protein affects Ca<sup>2+</sup>-activated K<sup>+</sup>-currents in cerebellar Purkinje cells. **Neurobiol. Dis**, 2001; 8: 324–330.
40. Hetz C., Russelakis-Carneiro M., Maundrell K. et al. Caspase-12 and endoplasmic reticulum stress mediate neurotoxicity of pathological prion protein. **EMBO J**, 2003; 22: 5435–5445.
41. Jeffrey M., Halliday W.G., Bell J. et al. Synapse loss associated with abnormal PrP precedes neuronal degeneration in the scrapie-infected murine hippocampus. **Neuropathol. Appl. Neurobiol**, 2000; 26: 41–54.
42. Jin J.K., Choi J.K., Lee H.G. et al. Increased expression of CaM kinase II alpha in the brains of scrapie-infected mice. **Neurosci. Lett**, 1999; 273: 37–40.
43. Johnston A.R., Black C., Fraser J., MacLeod N. Scrapie infection alters the membrane and synaptic properties of mouse hippocampal CA<sub>1</sub> pyramidal neurons. **J. Physiol**, 1997; 500: 1–15.
44. Johnston A.R., Fraser J.R., Jeffrey M., MacLeod N. Alterations in potassium currents may trigger neurodegeneration in murine scrapie. **Exp. Neurol**, 1998; 151: 326–333.
45. Johnston A.R., Fraser J.R., Jeffrey M., MacLeod N. Synaptic plasticity in the CA<sub>1</sub> area of the hippocampus of scrapie-infected mice. **Neurobiol. Dis**, 1998; 5: 188–195.
46. Jouaville L.S., Pinton P, Bastianutto C. et al. Regulation of mitochondrial ATP synthesis by calcium: evidence for a long-term metabolic priming. **Proc. Natl. Acad. Sci. USA**, 1999; 96: 13807–13812.
47. Kagan B.L., Azimov R., Azimova R. Amyloid peptide channels. **J. Membr. Biol**, 2004; 202: 1–10.
48. Kawahara M., Kuroda Y., Arispe N., Rojas E. Alzheimer's beta-amyloid, human islet amylin, and prion protein fragment evoke intracellular free calcium elevations by a common mechanism in a hypothalamic GnRH neuronal cell line. **J. Biol. Chem**, 2000; 275: 14077–14083.
49. Kessels H.W., Nguyen L.N., Nabavi S., Malinow R. The prion protein as a receptor for amyloid-beta. **Nature**, 2010; 12: 3–4.
50. Khosravani H., Zhang Y., Tsutsui S. et al. Prion protein attenuates excitotoxicity by inhibiting NMDA receptors. **J. Cell Biol**, 2008; 181: 551–565.
51. Kim J.H., Anwyl R., Suh Y.H. et al. Use-dependent effects of amyloidogenic fragments of (beta)-amyloid precursor protein on synaptic plasticity in rat hippocampus in vivo. **J. Neurosci**, 2001; 15: 1327–1333.
52. Kourie J.I., Culverson A. Prion peptide fragment PrP (106–126) forms distinct cation channel types. **J. Neurosci. Res**, 2000; 62: 120–133.
53. Kourie J.I., Culverson A.L., Farrelly P.V. et al. Heterogeneous amyloid-formed ion channels as a common cytotoxic mechanism: implications for therapeutic strategies against amyloidosis. **Cell Biochem. Biophys**, 2002; 36: 191–207.



54. *Kristensson K., Feuerstein B., Taraboulos A.* et al. Scrapie prions alter receptor-mediated calcium responses in cultured cells. **Neurology**, 1993; 43: 2335–2341.
55. *Lauren J., Gimbel D. A., Nygaard H.B.* et al. Cellular prion protein mediates impairment of synaptic plasticity by amyloid-beta oligomers. **Nature**, 2009; 26: 1128–1132.
56. *Lazzari C., Peggion C., Stella R.* et al. Cellular prion protein is implicated in the regulation of local Ca<sup>2+</sup>-movements in cerebellar granule neurons. **J. Neurochem**, 2011; 116: 881–890.
57. *Lesne S., Koh M.T., Kotilinek L.* et al. A specific amyloid-beta protein assembly in the brain impairs memory. **Nature**, 2006; 16: 352–357.
58. *Li P., Nijhawan D., Budihardjo I.* et al. Cytochrome c and dATP-dependent formation of Apaf-1-caspase-9 complex initiates an apoptotic protease cascade. **Cell**, 1997; 91: 479–489.
59. *Li S., Hong S., Shepardson N.E.* et al. Soluble oligomers of amyloid Beta protein facilitate hippocampal long-term depression by disrupting neuronal glutamate uptake. **Neuron**, 2009; 25: 788–801.
60. *Liang J., Luo G., Ning X.* et al. Differential expression of calcium-related genes in gastric cancer cells transfected with cellular prion protein. **Biochem. Cell Biol**, 2007; 85: 375–383.
61. *Lin M.C., Mirzabekov T., Kagan B.L.* Channel formation by a neurotoxic prion protein fragment. **J. Biol. Chem**, 1997; 272: 44–47.
62. *Linden R., Martins V.R., Prado M.A.* et al. Physiology of the prion protein. **Physiol. Rev**, 2008; 88: 673–728.
63. *Lledo P.M., Tremblay P., DeArmond S.J.* et al. Mice deficient for prion protein exhibit normal neuronal excitability and synaptic transmission in the hippocampus. **Proc. Natl. Acad. Sci. USA**, 1996; 93: 2403–2407.
64. *Lopes M.H., Hajj G.N., Muras A.G.* et al. Interaction of cellular prion and stress-inducible protein 1 promotes neuritogenesis and neuroprotection by distinct signaling pathways. **J. Neurosci**, 2005; 25: 11330–11339.
65. *Malenka R.C., Bear M.F.* LTP and LTD: an embarrassment of riches. **Neuron**, 2004; 44: 5–21.
66. *Mallucci G.R., Ratte S., Asante E.A.* et al. Post-natal knockout of prion protein alters hippocampal CA<sub>1</sub> properties, but does not result in neurodegeneration. **EMBO Jour**, 2002; 21: 202–210.
67. *Mallucci G.R., White M.D., Farmer M.* et al. Targeting cellular prion protein reverses early cognitive deficits and neurophysiological dysfunction in prion-infected mice. **Neuron**, 2007; 53: 325–335.
68. *Manson J.C., Clarke A.R., Hooper M.L.* et al. 129/Ola mice carrying a null mutation in PrP that abolishes mRNA production are developmentally normal. **Mol. Neurobiol**, 1994; 8: 121–127.
69. *Manson J.C., Hope J., Clarke A.R.* et al. PrP gene dosage and long term potentiation. **Neurodegeneration**, 1995; 4: 113–115.
70. *Mattson M.P.* Calcium and neurodegeneration. **Aging Cell**, 2007; 6: 337–350.
71. *Mattson M.P., LaFerla F.M., Chan S.L.* et al. Calcium signaling in the ER: its role in neuronal plasticity and neurodegenerative disorders. **Trends Neurosci**, 2000; 23: 222–229.
72. *Mukherjee A., Morales-Scheihing, D., Gonzalez-Romero* et al. Calcineurin inhibition at the clinical phase of prion disease reduces neurodegeneration, improves behavioral alterations and increases animal survival. **PLoS Pathog**, 2010; 6: 100–138.
73. *Nazor K.E., Seward T., Telling G.C.* Motor behavioral and neuropathological deficits in mice deficient for normal prion protein expression. **Biochim. Biophys. Acta**, 2007; 1772: 645–653.
74. *Nguyen P.V., Duffy S.N., Young J.Z.* Differential maintenance and frequency-dependent tuning of LTP at hippocampal synapses of specific strains of inbred mice. **J. Neurophysiol**, 2000; 84: 2484–2493.
75. *Oddo S., Caccamo A., Shepherd J.D.* et al. Triple-transgenic model of Alzheimer's disease with plaques and tangles: intracellular Abeta and synaptic dysfunction. **Neuron**, 2003; 31: 409–421.

76. Parkash J., Asotra K. Calcium wave signaling in cancer cells. **Life Sci**, 2010; 87(19–22): 587–595.
77. Peggion C., Bertoli A., Sorgato M.C. Possible role for Ca<sup>2+</sup> in the pathophysiology of the prion protein? **BioFactors**, 2011; 37: 241–249.
78. Powell A.D., Toescu E.C., Collinge J., Jefferys J.G. Alterations in Ca<sup>2+</sup>-buffering in prion-null mice: association with reduced afterhyperpolarizations in CA<sub>1</sub> hippocampal neurons. **J. Neurosci**, 2008; 28: 3877–3886.
79. Prestori F., Rossi P., Bearzatto B. et al. Altered neuron excitability and synaptic plasticity in the cerebellar granular layer of juvenile prion protein knock-out mice with impaired motor control. **J. Neurosci**, 2008; 28: 7091–7103.
80. Prusiner S.B. Novel proteinaceous infectious particles cause scrapie. **Science**, 1982; 216: 136–144.
81. Prusiner S.B. Prions. **Proc. Natl. Acad. Sci. USA**, 1998; 95: 13363–13383.
82. Ramljak S., Asif A.R., Armstrong V.W. et al. Physiological role of the cellular prion protein (PrP<sup>c</sup>): protein profiling study in two cell culture systems. **J. Proteome Res**, 2008; 7: 2681–2695.
83. Ramsey IS, Delling M, Clapham DE. An introduction to TRP channels. **Annual Reviews of Physiology**, 2006; 68:619–647.
84. Rangel A., Burgaya F., Gavin R. et al. Enhanced susceptibility of Prnp-deficient mice to kainate-induced seizures, neuronal apoptosis, and death: role of AMPA/kainate receptors. **J. Neurosci. Res**, 2007; 85: 2741–2755.
85. Riemenschneider M., Klopp N., Xiang W. et al. Prion protein codon 129 polymorphism and risk of Alzheimer disease. **Neurology**, 2004; 27: 364–366.
86. Sah P., Davies P. Calcium-activated potassium currents in mammalian neurons. **Clin. Exp. Pharmacol. Physiol**, 2000; 27: 657–663.
87. Sandberg M.K., Wallen P., Wikstrom, M.A., Kristensson K. Scrapie-infected GT1-1 cells show impaired function of voltagegated N-type calcium channels (Ca(v) 2.2) which is ameliorated by quinacrine treatment. **Neurobiol. Dis**, 2004; 15: 143–151.
88. Shankar G.M., Li S., Mehta T.H. et al. Amyloid-beta protein dimers isolated directly from Alzheimer's brains impair synaptic plasticity and memory. **Nat. Med**, 2008; 14: 837–842.
89. Sorgato M.C., Bertoli A. From cell protection to death: May Ca<sup>2+</sup>-signals explain the chameleonic attributes of the mammalian prion protein? **Biochemical and Biophysical Research Communications**, 2009; 379: 171–174.
90. Sorgato M.C., Peggion C., Bertoli A. Is, indeed, the prion protein a Harlequin servant of “many” masters? **Prion**, 2009; 3: 202–205.
91. Spudich A., Frigg R., Kilic E. et al. Aggravation of ischemic brain injury by prion protein deficiency: role of ERK-1/-2 and STAT-1. **Neurobiol. Dis**, 2005; 20: 442–449.
92. Starkov A.A., Beal F.M. Portal to Alzheimer's disease. **Nature Medicine**, 2008; 14: 1008–1021.
93. Steele A.D., Lindquist S., Aguzzi A. The prion protein knockout mouse: a phenotype under challenge. **Prion**, 2007; 1: 83–93.
94. Stella R., Massimino M.L., Sandri M. et al. Cellular prion protein promotes regeneration of adult muscle tissue. **Mol. Cell. Biol**, 2010; 30: 4864–4876.
95. Thellung S., Florio T., Corsaro A. et al. Intracellular mechanisms mediating the neuronal death and astrogliosis induced by the prion protein fragment 106–126. **Int. J. Dev. Neurosci**, 2000; 18: 481–492.
96. Thellung S., Florio T., Villa V. et al. Apoptotic cell death and impairment of L-type voltage-sensitive calcium channel activity in rat cerebellar granule cells treated with the prion protein fragment 106–126. **Neurobiol. Dis**, 2000; 7: 299–309.
97. Torres M., Castillo K., Armisen R. et al. Prion protein misfolding affects calcium homeostasis and sensitizes cells to endoplasmic reticulum stress. **PLoS One**, 2010; 5: 15658.
98. Voigtlander T., Kloppe S., Birner P. et al. Marked increase of neuronal prion protein immunoreactivity in Alzheimer's disease and human prion diseases. **Acta Neuropathol**, 2001; 101: 417–423.

99. Walsh D.M., Klyubin I., Fadeeva J.V. et al. Naturally secreted oligomers of amyloid beta protein potently inhibit hippocampal long-term potentiation in vivo. **Nature**, 2002; 4: 535–539.
100. Walsh D.M., Selkoe D.J. Abeta oligomers – a decade of discovery. **J. Neurochem**, 2007; 101: 1172–1184.
101. Walz R., Amaral O.B., Rockenbach I.C. et al. Increased sensitivity to seizures in mice lacking cellular prion protein. **Epilepsia**, 1999; 40: 1679–1682.
102. Wang H.W., Pasternak J.F., Kuo H. et al. Soluble oligomers of beta amyloid (1–42) inhibit long-term potentiation but not long-term depression in rat dentate gyrus. **Brain Res**, 2002; 11: 133–140.
103. Weise J., Sandau R., Schwarting S. et al. Deletion of cellular prion protein results in reduced Akt activation, enhanced postischemic caspase-3 activation, and exacerbation of ischemic brain injury. **Stroke**, 2006; 37: 1296–1300.
104. Weiss E., Ramljak S., Asif A.R. et al. Cellular prion protein overexpression disturbs cellular homeostasis in SH-SY5Y neuroblastoma cells but does not alter p53 expression: a proteomic study. **Neuroscience**, 2010; 169: 1640–1650.
105. Westergard L., Christensen H., Harris D. The cellular prion protein (PrP<sup>C</sup>): its physiological function and role in disease. **Biochim. Biophys. Acta**, 2007; 1772: 629–644.
106. Whittington M.A., Sidle K.C., Gowland I. et al. Rescue of neurophysiological phenotype seen in PrP null mice by transgene encoding human prion protein. **Nat. Genet**, 1995; 9: 197–201.
107. Wong K., Qiu Y., Hyun W. et al. Decreased receptor-mediated calcium response in prion-infected cells correlates with decreased membrane fluidity and IP<sub>3</sub> release. **Neurology**, 1996; 47: 741–750.
108. Wuthrich K., Riek R. Three-dimensional structures of prion proteins. **Adv. Protein Chem**, 2001; 57: 55–82.
109. Yuan J., Xiao X., Mc Geehan J. et al. Insoluble aggregates and protease-resistant conformer of prion protein in uninfected human brain. **J. Biol. Chem**, 2006; 281: 34848–34858.
110. Zamponi G.W., Stys P.K. Role of prions in neuroprotection and neurodegeneration: a mechanism involving glutamate receptors? **Prion**, 2009; 3: 187–189.
111. Zanata S.M., Lopes M.H., Mercadante A.F. et al. Stress-inducible protein 1 is a cell surface ligand for cellular prion that triggers neuroprotection. **EMBO J**, 2002; 21: 3307–3316.
112. Zhang C.C., Steele A. D., Lindquist S., Lodish H.F. Prion protein is expressed on long-term repopulating hematopoietic stem cells and is important for their self-renewal. **Proc. Natl. Acad. Sci. USA**, 2006; 103: 2184–2189.
113. Zheng H., Koo E.H. The amyloid precursor protein: beyond amyloid. **Mol. Neurodegener**, 2006; 3: 1–5.
114. Zou W.Q., Gambetti P. Prion: the chameleon protein. **Cell. Mol. Life Sci**, 2007; 64: 3266–3270.
115. [http://www.fbs.leeds.ac.uk/staff/Hooper\\_N/prion.htm](http://www.fbs.leeds.ac.uk/staff/Hooper_N/prion.htm)

---

## PHYSIOLOGICAL ROLE OF PRIONS IN REGULATION OF Ca<sup>2+</sup>-TRANSPORT AND NEURODEGENERATIVE DISEASES

**M. V. Kushkevych, V. V. Vlizlo**

*Institute of Animal Biology NAAS of Ukraine, 38, Stus St., Lviv 79034, Ukraine  
e-mail: m\_kushkevych@ukr.net*

Literature data on the role of physiological prion in Ca<sup>2+</sup>-homeostasis regulation, violation promoting prion-induced neurodegenerations, are summarized. The electrophysiological neuronal disorders and synaptic dysfunction which occur during prion diseases and are accompanied by changes in intracellular ionized Ca<sup>2+</sup> concentration, are

described. Short description of  $\text{Ca}^{2+}$ -transport systems in neurons is presented. Special attention is paid to data obtained in animal models of prion infections and PrP<sup>C</sup>-knocked animals, indicating possible role of PrP<sup>C</sup> in the process of  $\text{Ca}^{2+}$ -transport in neurons. In particular, a PrP<sup>C</sup> mediated participation in functioning of calcium channels due to binding with NR<sub>2</sub>D-subunit of N-methyl-D-aspartate (NMDA)-receptors of  $\text{Ca}^{2+}$ -channels, which provides its neuroprotective role, is described. Also, a PrP<sup>C</sup> participation in the synaptic structure formation and neurotransmission is characterized. The interaction of physiological prion with synapsin-1 and synaptophysin that regulates exo-endoendocytosis synaptic vesicles cycle, was studied. The violation of  $\text{Ca}^{2+}$ -homeostasis as one of important factors during prion pathologies is characterised.

**Keywords:** prion infection, physiological prion,  $\text{Ca}^{2+}$ -transport systems, synapse.

### ФИЗИОЛОГИЧЕСКАЯ РОЛЬ ПРИОНОВ В РЕГУЛЯЦИИ ТРАНСПОРТА $\text{Ca}^{2+}$ И НЕЙРОДЕГЕНЕРАТИВНЫЕ ЗАБОЛЕВАНИЯ

**М. В. Кушкевич, В. В. Влизло**

*Институт биологии животных НААН Украины, ул. Стуса, 38, Львов 79034, Украина  
e-mail: m\_kushkevych@ukr.net*

Обобщены современные литературные данные о роли физиологического приона в регуляции гомеостаза  $\text{Ca}^{2+}$ , нарушение которого способствует развитию прион-индуцированных нейродегенераций. Описаны электрофизиологические нарушения нейронов, а также дисфункция синапсов, возникающие при прионных заболеваниях и сопровождающиеся изменением концентрации внутриклеточного ионизированного  $\text{Ca}^{2+}$ . Дана краткая характеристика  $\text{Ca}^{2+}$ -транспортных систем клеток нейронов. Особое внимание обращено на данные, полученные на животных моделях прионных инфекций и PrP-нокаутированных животных, которые указывают на роль PrP<sup>C</sup> в процессах транспорта  $\text{Ca}^{2+}$  нейронов. В частности, описано участие PrP<sup>C</sup> в функционировании кальциевых каналов вследствие связывания с NR<sub>2</sub>D-субъединицей N-метил-D-аспартата (NMDA)-рецепторов  $\text{Ca}^{2+}$ -каналов, что обуславливает его нейрозащитную роль. Кроме того, охарактеризовано участие PrP<sup>C</sup> в формировании синапса и нейротрансмиссии. Установлено, что физиологический прион взаимодействует с синапсином-1 и синаптофизин, регулирующими экзо-эндоцитотический цикл синаптических везикул. Дана характеристика нарушения гомеостаза  $\text{Ca}^{2+}$  как одного из важных факторов при прионных патологиях.

**Ключевые слова:** прионные инфекции, физиологический прион, транспортные системы  $\text{Ca}^{2+}$ , синапс.

Одержано: 8.02.2013