

# Biokemien bag kogalskab

## Biokemi

Danmark var i chok, da kogalskaben for nylig ramte landet. Man mener nemlig, at en ny variant af den dødelige Creutzfeld-Jakobs sygdom hos mennesket stammer fra indtagelse af inficeret kød. Sygdommens årsag er såkaldte prioner – smitsomme proteinkomplekser, der medfører huller i hjernen.



Foto: Jørgen Dalgaard

*Sundt dansk kvæg - der er endnu kun konstateret et tilfælde af kogalskab i Danmark.*

Smitsomme sygdomme har gennem tiden haft dramatiske konsekvenser for mennesker og dyr overalt på jorden, og nye former for smitte opstår med jævne mellemrum. Ved hjælp af den molekylære biologis teknikker tager det i dag kun kort tid, før arvematerialet fra en smitsom organisme er identificeret og karakteriseret, således at man kan teste for smitten samt begynde arbejdet på at udvikle behandlinger.

### Scrapie - en sygdom hos får

En undtagelse fra dette er en smitsom sygdom hos får kaldet *scrapie*. På trods af, at den har været kendt i flere hundrede år, er det først inden for de seneste årtier, at forskning har kastet lys over fænomenet. Får, der er smittet, gnubber sig kraftigt op ad de omgivende hegn og har vanskeligt ved at stå stille. Sygdommen kan ikke behandles og medfører altid døden. Analyser

af de døde dyrs hjerner viser forekomsten af et stort antal små huller, så hjernen mere eller mindre ligner en svamp. Sygdommen var oprindeligt kun kendt fra får og geder, men da det lykkedes at overføre den til mindre forsøgsdyr (ved simpelthen at sprøjte inficeret hjernemasse ind i hamstere) blev det muligt at studere den mere indgående.

### Creutzfeld-Jakobs sygdom ligner scrapie

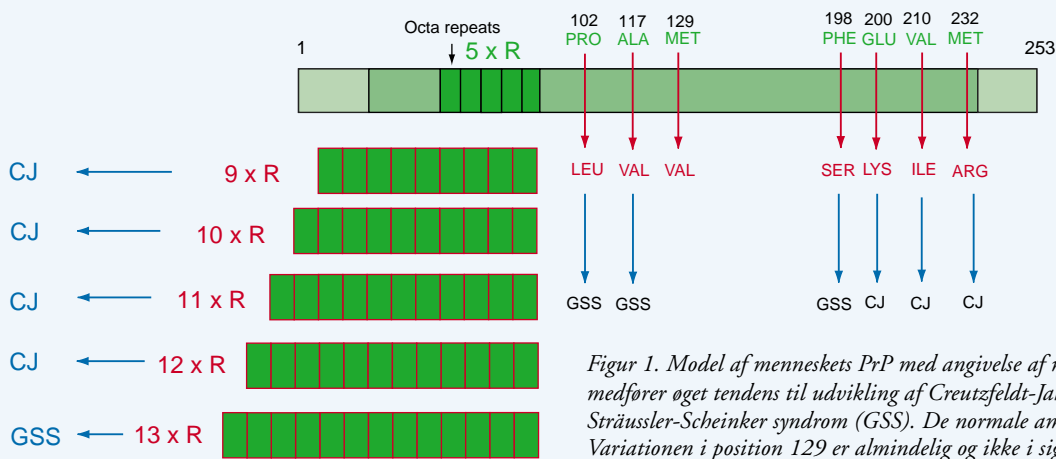
En sjælden sygdom hos mennesker, kaldet Creutzfeld-Jakobs sygdom, har mange ligheder med scrapie. I de fleste tilfælde opstår den spontant med en hyppighed svarende til et tilfælde om året pr. million mennesker. I nogle familier forekommer sygdommen dog hyppigere, hvorfor den også kan være arveligt betinget. I de senere år er man blevet klar over, at den desuden kan være smit-

som, idet det har vist sig, at personer, der er blevet behandlet med væksthormon, i nogle tilfælde udviklede Creutzfeld-Jakobs sygdom. Tidligere blev væksthormonet isoleret fra afdøde personers hjerner, og dette materiale har formentlig indeholdt smitten. I dag produceres væksthormon udelukkende fra gensplejsede mikroorganismer og kan derfor ikke indeholde smitte.

### Kogalskab

Hos kvæg har man ikke tidligere kendt en sygdom, som svarer til scrapie hos geder og får. Dette ændrede sig brat i 1986, hvor der officielt blev rapporteret om tilfælde af en lignende sygdom i nogle kvægbesætninger i det sydlige England. Derefter gik det stærkt, og antallet af syge kreaturer toppede i 1992, hvor næsten 40.000 tilfælde blev diagnosticeret fordelt over hele England.

Af Torben Ellebæk Petersen



Figur 1. Model af menneskets PrP med angivelse af nogle genetiske varianter, der medfører øget tendens til udvikling af Creutzfeldt-Jakobs sygdom (CJ) og Gerstmann-Sträussler-Scheinker syndrom (GSS). De normale aminosyrer er angivet foroven. Variationen i position 129 er almindelig og ikke i sig selv sygdomsfremkaldende.

Det er sandsynligt, at årsagen til udbruddet i England var en følge af stigende energipriser i 70'erne, som medførte ændrede opvarmningsbetingelser af kød og benmel lavet af døde dyr. Kød og benmel fra får med scrapie er kommet med i foderet til kvæg, som derved er blevet smittet. Kvæg med smitte er yderligere blevet brugt til produktion af kød og benmel, hvilket har sat en kædereaktion i gang. I slutningen af 80'erne blev det forbudt at blande kød og benmel fra drøvtyggere i foderet til kvæg, hvilket medførte at antallet af tilfælde begyndte at falde efter 1992. I 1999 blev der dog stadig fundet flere end 1500 tilfælde.

Sygdommen hos kvæg kaldes BSE (bovine spongiform encephalopathy), mens betegnelsen *kogalskab* (mad cow disease) ofte anvendes i mere populær beskrivende sammenhænge. Fra England har BSE spredt sig til en række europæiske lande med flest tilfælde i Irland, Frankrig, Schweiz og Portugal.

### Prioner

Forsøg med infektiøst materiale isoleret fra inficerede fårehjerner har hverken kunnet påvise forekomsten af DNA eller RNA, der normalt er en nødvendig bestanddel af enhver smitsom organisme. Dette tvang forskerne til at tænke i nye baner, og i slutningen af 60'erne foreslog J.S. Griffith, at et protein alene var ansvarlig for smitten. Efterfølgende blev

hypotesen udbygget af professor i neurologi, Stanley Prusiner, som i begyndelsen af 1980'erne postulerede, at en forkert rumlig struktur i et protein kunne inducere en tilsvarende forkert struktur i et normalt protein og på den måde overføre en sygdomstilstand fra et dyr til et andet. Han kaldte den infektiøse partikel en *prion*. Dette ord er dannet ved at ombytte bogstaverne i ordet proin (proteinaceous infectious particle). Prusiners arbejde med prioner gav ham nobelprisen i medicin i 1997.

På nuværende tidspunkt mener man, at der er tale om et enkelt protein kaldet PrP, som er ansvarlig for smitten.

### Proteiners foldning

Proteiner består af aminosyrer bundet sammen i en lang kæde, hvor længden af kæden kan variere lige fra nogle få aminosyrer til mange tusinde. For at

et protein kan opfylde sin funktion er det afgørende, at det foldes rumligt korrekt. Man har længe ment, at denne foldning var bestemt alene af rækken af aminosyrer, men i de senere år er det blevet klart, at foldningen ofte er afhængig af omgivelserne samt af andre proteiner i de omgivelser, hvor proteinet bliver foldet. Den nøjagtige foldning af mange forskellige proteiner er blevet eksperimentelt bestemt, og det viser sig, at to foldningstyper er almindeligt forekommende. I den ene type folder kæden af aminosyrer sig i en spiral, der kaldes en *alfa-helix*. I den anden er der tale om dannelsen af en plade kaldet et *beta-sheet*. Proteiner med beta-sheet strukturer kan i visse tilfælde lægge sig oven på hinanden ligesom tallerkener i en stabel.

### Mutationer giver øget risiko

Prp findes i hjernen hos mange dyr, og rækken af aminosyrer i

flere dyrs PrP er blevet kortlagt. I figur 1 er skitseret nogle karakteristika ved PrP fra mennesket. Proteinet består af 253 aminosyrer, hvoraf de første 22 bliver fjernet i forbindelse med syntesen af proteinet. Disse 22 aminosyrer bestemmer, at proteinet skal eksporteres ud af den celle, hvor det dannes. I den anden ende af proteinet bestemmer aminosyrerne, at der skal påsættes et såkaldt *lipid-anker*, der medfører at PrP bliver hængende på ydersiden af cellen. Mellem aminosyrerne 23 og 100 findes fem små sekvenser på otte aminosyrer kaldet "octa repeats". Disse repeats – eller gentagelser – ligner hinanden og kan binde kobberioner. Selvom man ikke kender den nøjagtige funktion af PrP, er det muligt, at denne binding til kobber har betydning for proteinets funktion. Antallet af octa repeats kan i sjældne tilfælde variere, og der kendes tilfælde med 13 repeats. Uheldigvis medfører flere repeats end de normale fem en forøget tendens til at få Creutzfeldt-Jakobs sygdom (CJ) eller den nært beslægtede sygdom Gerstmann-Sträussler-Scheinker syndrom (GSS). I resten af proteinet er der desuden fundet en række mutationer, hvor en enkelt aminosyre er forandret i forhold til det normale. I figur 1 er angivet nogle af de mutationer, der er forbundet med en øget risiko for at få CJ eller GSS sygdomme. Disse mutationer er sjældne og tegner sig for om-

## Prioner og varme

Autoklavering er den mest anvendte metode til destruktion af smitsomt materiale. Denne metode er kun delvis brugbar, når det drejer sig om prioner, idet man ikke kan være sikker på, at disse nedbrydes fuldstændigt. I nogle tilfælde har der kunnet påvises rester af infektiøst materiale efter autoklavering ved 134 grader C. Specielt hvis opvarmningen foretages i tør tilstand har forsøg med hjernevæv fra hamstere, smittet med en særlig stabil form af scrapie, vist, at efter opvarmning til 600 grader kan det stadig være

infektiøst. Ved opvarmning til 1000 grader destrueres det smitsomme stof fuldstændigt. Da proteiner normalt nedbrydes ved høje temperaturer, er det derfor muligt, at der også kan indgå uorganisk materiale i opbygningen af prioner. I så tilfælde kan man forestille sig, at en endnu ukendt uorganisk forbindelse fungerer som kimen til, at det normale PrP omdannes til scrapie form af PrP.

Brown et al. (2000) Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 97: 3418-21

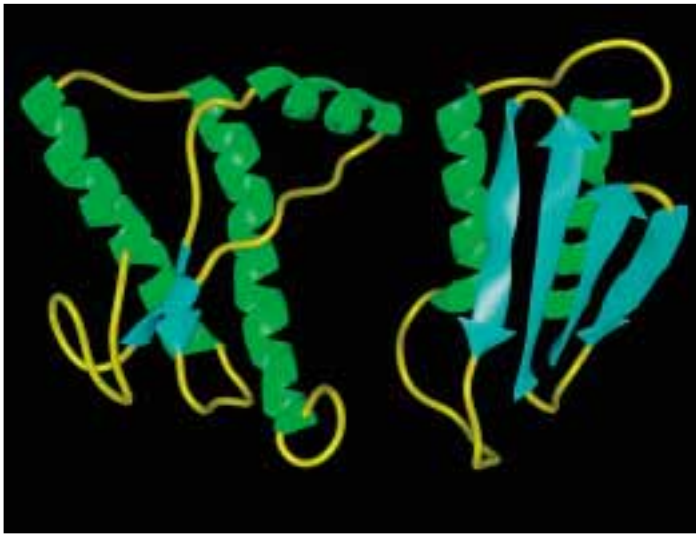


Illustration: venligst stiller til rådighed af Fred Cohen, UCSF, USA

Figur 2. Til venstre er vist foldningen af aminosyrerne fra nummer 120 i PrP. Strukturen består hovedsageligt af tre alfa-helix. Til højre er angivet en beregnet struktur af, hvordan PrP kunne være foldet i prioner. De fire pile tilsammen angiver et beta-sheet.

kring 10% af de spontane tilfælde af denne type sygdom hos mennesket.

### Prioner omdanner det normale protein

I følge Prusiners teori er det foldningen af PrP, der er afgørende for, at prioner kan opstå. Der gøres derfor en stor indsats for at bestemme denne foldning under forskellige betingelser. For at kunne udføre denne forskning er det nødvendigt at have adgang til relativt store mængder af PrP. Dette kan i praksis bedst opnås ved at isolere det gen, der koder for PrP, indsætte genet i en mikroorganisme og lade denne organisme danne store mængder af PrP. De nyeste forskningsresultater har vist, at kun aminosyrerne fra nummer 120 folder af sig selv til en stabil struktur, mens aminosyrerne fra nummer 23 til 119 ikke har nogen veldefineret rumlig struktur. I figur 2 er skitseret foldningen af PrP fra aminosyre nummer 120. Her kan man se, at det dominerende element er spiraler af typen alfa-helix. De afgørende eksperimenter, der bestemmer foldningen af PrP i prioner, er desværre ikke udført. Dette skyldes store tekniske vanskeligheder ved at arbejde med den type af proteinkomplekser, prioner tilhører. Dog kan man

fra nogle mere grove analyser bestemme, at PrP i prioner har et stort indhold af beta-sheet. Dette kombineret med teoretiske beregninger har resulteret i den anden struktur i figur 2, som viser – med mange forbehold – hvordan PrP kunne være foldet i en prion. For at skelne de to former kaldes den normale form for PrP<sup>c</sup>, mens den form der optræder i prioner benævnes PrP<sup>sc</sup>. Man forestiller sig nu, at meget små mængder af PrP<sup>sc</sup> omdanner det normale PrP<sup>c</sup> til PrP<sup>sc</sup>-formen ved en direkte fysisk kontakt mellem de to former. Da PrP<sup>sc</sup> er en meget stabil form, der desuden har tendens til at stable sig i store komplekser, omdannes PrP<sup>c</sup> efterhånden til PrP<sup>sc</sup> og prionen dannes.

### En ny variant af Creutzfeldt-Jakobs sygdom

Da prioner har langt vanskeligere ved at smitte fra en dyreart til en anden end at smitte inden for samme art, medførte udbruddet af BSE i England ikke umiddelbart den helt store bekymring for englændernes helbred. Efter nøjere undersøgelser af 207 tilfælde af Creutzfeldt-Jakobs sygdom i perioden 1990-1996 ændredes dette. Her viste det sig, at i ti tilfælde var personerne langt yngre end normalt for denne

sygdom. Samtidig var de kliniske symptomer forskellige fra den klassiske form af CJ, og analyser af de afdødes hjerner afslørede en usædvanlig form for komplekser af PrP. Konklusionen på undersøgelsen var, at disse ti personer var blevet smittet med BSE, og man er i dag oppe på 52 tilfælde, som er sikkert diagnosticeret med den nye form af CJ, mens yderligere 10-15 er under mistanke.

I Frankrig, der har importeret en del kød fra England, er der fundet to tilfælde. Alle beregninger af, hvor mange tilfælde af den nye variant af CJ man kan forvente oven på den massive indtagelse af BSE-inficerede måltider, er behæftet med så store usikkerheder, at de ikke har megen mening. De største usikkerheder ligger i, at man ikke kender middelinkubationstiden, samt, hvor store mængder af prioner, der skal til for at smitte mennesker med BSE. Der er forskere, der mener, at man endnu kun har set begyndelsen.

### Kun halvdelen kan få den nye variant af sygdommen

Hos mennesket findes to almindelige former af PrP, hvor der kun er variation i en enkelt aminosyre svarende til nummer 129. Her kan man have enten aminosyren Met eller aminosyren Val. Da man arver et gen, der koder for PrP fra hver af forældrene, er der tre muligheder. Enten kan man have Met i position 129 fra begge forældre, eller Met fra den ene og Val fra den anden, eller Val fra begge. DNA-analyser af patienter med den nye variant af CJ har noget overraskende vist, at de alle kun havde Met i position 129. Da det er lidt under halvdelen af befolkningen, der har Met fra begge forældre, ser det således ud til, at kun knap hveranden kan blive smittet med den nye variant af CJ. Der er dog stadig den mulighed, at inkubationstiden for personer med Val er noget længere, og at sygdommen derfor først vil vise sig om nogle år i denne gruppe. ☺



### Om forfatteren

Torben Ellebæk Petersen er lic. scient og lektor ved Institut for Molekylær og Strukturel Biologi Aarhus Universitet Forskerparken Gustav Wieds Vej 10C 8000 Århus C  
Tlf.: 8942 5094  
E-mail: tep@mbio.aau.dk

### Yderligere oplysninger:

På adressen: [www.mad-cow.org](http://www.mad-cow.org) kan man finde masser af information om BSE og prioner. Hjemmesiden opdateres løbende.