

## PRİONLAR VE YAPTIKLARI HASTALIKLAR

Vildan ÖZDEMİR (\*)

### PRİONLAR VE YAPTIKLARI HASTALIKLAR

"Prionlar, nükleik asitleri modifiye eden işlemlerle inaktive edilemeyen, temel ve gerekli komponent olan hücrenel bir proteinin anormal bir izoformundan oluşan küçük, proteinden zengin, infeksiyöz partiküller" olarak tanımlanabilirler (42).

Genetik bilginin nükleik asitlerden proteinlere dönüşümü, moleküler biyolojinin temel doktrini olarak kabul edilmektedir. İnsanlarda ve hayvanlarda olduğu gibi bakterilerde de proteinlerin ve enzimlerin yapısını belirleyen, böylece şekil ve gelişmeyi tayin eden DNA'dır. Hücre dışında bağımsız olarak üreyemeyen viruslar bile, kimliklerini bir DNA veya RNA molekülünden alırlar. Bazı bitki hastalıklarını nakleden viroid'ler de RNA'dan meydana gelmişlerdir (39). Viroid'in nükleik asidi, proteini kodlamaz ancak progeny moleküller için bir kalıp olarak hizmet eder (12). Prion olarak tanımlanan infeksiyöz etkenin ortaya çıkması ise her organizmanın kendi kimliğini belirleyen nükleik asitleri taşıdığı kuralını geçersiz kılmıştır (39).

### TARİHÇE VE EPİDEMİYOLOJİ

Scrapie, mink ensefalopati, geyik, elk ve katırların kronik zayıflama hastalığı (CWD) ve spongiform ensefalopatileri, bovine spongiform ensefalopati (BSE), Kuru ve nakledilebilir etkene bağlı bunama olan Creutzfeldt-Jakob hastalığı (CJD) ve Gerstmann-Straussler-Scheinker (GSS) sendromu, sebep oldukları ve dikkat çeken benzerlikteki histopatolojik lezyonlarından dolayı "Subakut Spongiform Virus Ensefalopati"leri olarak tarif edilen "yavaş infeksiyonlar" grubuna dahil edilmişlerdir (28).

---

(\*) Uzm. Vet. Hek.

Scrapie, 18 yy'dan beri Avrupa'nın bazı yerlerinde ve Britanya'da görülmüştür. Hastalık, genellikle Britanya'dan koyunların ihraç edilmesinden sonra Asya, Afrika, Kuzey ve Güney Amerika'nın bazı ülkelerinde bildirilmiştir. Koyunlarla birlikte bulunan keçilerde de infeksiyon görülmüştür. Hastalık hem erkek hem de dişileri etkiler. Inkubasyon periyodu aylar veya yıllar sürebilir (26).

Doğal infeksiyon, daha ziyade, anadan yavruya doğum öncesi ve sütten kesme periyodunda geçer (21). Doğal bulaşma şekli henüz bilinmemektedir. Koyunlarda scrapie semptomları ortalama 3.5 yaşında görülmektedir. Hayvanların çoğu 2.5 - 4.5 yaş arasında etkilenirler. Bir buçuk yaşından önce görülmesi çok enderdir (16,24).

Yıllarca yapılan çalışmalarda scrapie'nin insanlara bulaştığına rastlanmamıştır. Nadiren, pazara getirilen scrapie ile infekte dokuların usulsüz dağılımı ve scrapie etkeninin küçük miktarlarının bulunduğu beyin ve lenf düğümlerinin, oral yolla alınmasında infeksiyonun etkisiz olduğu, alınmış olsa dahi bireysel hassasiyet gösteren konakçıda, scrapie ile insan infeksiyonunun tanınmasının zorluğu anlaşılmıştır (8). Scrapie ile infekte koyunların beyin ve dalaklarının kullanıldığı Louping III aşısının uygulanması ile, scrapie'nin, istenmeden nakledildiği bildirilmiştir (20).

Scrapie'li koyunların infekte doku ve ürünlerinin mink, kedi ve egzotik tırnaklı hayvanların diyetlerine katılması ile bu hayvanlarda, transmissible spongiform ensefalopatilerin meydana geldiği açıklanmıştır (25,27,37,38). Scrapie prionları, intranasal yolla minklere verildiğinde transmissible mink ensefalopati'den ayırt edilmesi olanaksız bir hastalık oluşturur. Enterasan olan şey, ne minklerdeki scrapie ve ne de TME, mink prionları için önemli tür bariyeri olarak ileri sürülen farelere aktarılamamıştır (42).

Bovine spongiform ensefalopati, ilk defa İngiltere'de klinik belirtileri ile 1985 yılı Mayıs ayında görülmüş ve 1986 yılı Kasım ayında ülkenin farklı coğrafik bölgelerdeki süt ineklerinde yapılan histopatolojik muayeneler sonunda bildirilmiştir (5,50). Ayrıca 1992 yılı sonunda ise Kuzey İrlanda, İrlanda Cumhuriyeti, İsviçre, Fransa, Umman Sultanlığı, Falkland Adaları ve Danimarka'da hastalık İngiltere kökenli olarak bildirilmektedir (50).

Epidemiyolojik çalışmaların sonuçları, sığır populasyonunun, et ve kemik unu şeklinde ruminant orijinli protein kapsayan yemler vasıtası ile scrapie benzeri bir etkene maruz kaldığı yönündedir (55). Yem kontaminasyonu da scrapie etkenini tahrip etmeyen rendering proses'inden (sakatat işleme) kaynaklanmıştır (49,60). Bu görüşü savunan araştırmacılar (55, 60), gerçekte sığırların scrapie etkenine karşı daima duyarlı olduğunu, ancak, etkenlerle karşılaşmanın geçmişte belirgin bir hastalık tablosuna sebep olamayacak kadar yetersiz olduğunu ileri sürmektedirler.

Olguların çoğu Friesian-Holstein ırkı süt ineklerinde gözlenmiştir. Stc sürülerdeki hastalık insidansı da eti sürülere göre daha büyüktür. Bunun nedeni olarak eti ırkların daha az konsantre yemle beslenmesi gösterilmektedir (55).

İlk epidemiyolojik alışmalar BSE'nin geniş bir coğrafik bölge üzerinde aynı anda fakat genellikle tek tek olgular şeklinde ortaya çıkan bir epidemi olduğunu göstermiştir (55). Sığırdan sığıra bulaşma bildirilmemiştir (37).

Hastalık 2-11 yaş arasındaki ergin sığırlarda görülmüştür. En yüksek yaş insidansı 4-5 yaş grubundadır. Dişiler, erkeklere göre hastalığa daha sık tutulurlar. Epidemiyolojik bulgular, BSE'nin inkubasyon periyodunun 2.5 yıldan 8 yıla kadar uzayabildiğini ortaya koymuştur (55).

Geyik, elk ve katırların kronik zayıflama hastalığı (CWD), ilk olarak 1967 yılında Colorado'da görülmüştür. İnfekte hayvanlar üzerinde çalışan biyologlar, hastalığı, nakledilebilir spongiform ensefalopati olarak tanımlamaktadırlar. Hastalık 1.5 - 12 yaşlar arasındaki hayvanlarda görülmektedir. İnkubasyon periyodu çok uzundur. Hem dişi hem de erkekler etkilenirler. Hastalığın orijini bilinmemektedir. Kronik zayıflama hastalığı, BSE'deki olgular gibi beslenmeye bağlı değildir.

Kronik zayıflama hastalığı, infekte geyiklerin beyin materyalinin intraserebral inokulasyon yolu ile deneysel olarak geyik, keçi, mink ve maymunlara nakledilebilmektedir. Ancak, fare ve hamsterlerde başarı sağlanamamıştır (58).

Kuru, Papua Yeni Gine'nin orta kesimindeki dağlar arasında, bir kaç bitiğik vadide yaşayan toplulukta sınırlıdır ve toplam nüfusun 35.000'nin üzerinde olduğu 169 köyde görülmektedir. Kuru, Fore halkı dilinde titreme ve sarsıntı demektir. 1956 yılındaki ilk çalışmada yetişkinlerin yanısıra çocukları ve bebekleri de etkilediği tespit edilmiştir. Kız ve erkek çocuklarda yetişkin kadınlarda yaygındır, yetişkin erkeklerde daha az görülmektedir. Hastalığın insidansı son 25 senede, dini merasimlere ara verilmesi sonucu azalmıştır. 1985 senesinden sonra ise 35 yaşın altındaki kişilerde görülmemiştir. İlk zamanlarda yılda 200 kadar hasta ölürken son senelerde ölüm 5-10 hastaya düşmüştür (8).

Hastalığın yayılmasındaki mekanizma, ölen akrabaya saygı için yapılan dinsel yamyamlık töreni ile ortaya çıkmıştır. Kadınlara ıplak el ile ölenlerin otopsilerini yaparlar ve ellerini yıkamazlar. Ellerini vücutlarına ve saçlarına sürerler. Çocukların gözlerini ve burunlarını bu bulaşık ellerle silerler. Ayrıca insektlerin ısırđıęı yerleri kaşırlar ve elleri ile yemek yerler. Erkekler nadiren dokunurlar ve ölenlerin genellikle etlerini yerler. Beyin ve vücudun geri kalan kısmı ise kadın ve çocuklar tarafından tüketilir (7,8).

Hastalık etkeninin doğada rezervuarı yoktur ve insanlar dışında onu koruyacak, biyolojik ara konakçı bulunmamaktadır. Yıllarca Kuru ile yapılan çalışmalar, hastalığın şempanzelere aktarılabilirdiğini göstermiştir. Inkubasyon periyodu ilk inokulasyondan sonra 14-39 ay iken ilerleyen pasajlarda daha da kısalır. Diğer maymun türlerindeki inkubasyon periyodu şempanzelerden daha uzundur. Ayrıca, deneysel olarak infekte edilen maymunların beyni ile Kuru'lu insan beyin inokulumları kullanılarak, etken keçilere aktarılabilmiştir. Hastalık keçilerde Scrapie'ye benzemektedir. Ancak, Kuru koyunlara aktarılmamıştır (8).

Son zamanlarda koreograf George Balanchine'nin ölümünün sebebi olarak tanımlanmış olan CJD'nin (39), ilk olarak 1920 yılında 22 yaşındaki bir kadında görüldüğü belirtilmektedir (2).

Hastalık, araştırılan her ülkede tanımlanmıştır. Şehirlerde, tüm popülasyona oranla iki misli fazla görülmektedir. On yıllık sürede artma veya azalma görülmemiştir. Hastalığın yaş spesifik insidansı 60-65 yaş grubunda fazladır. Bazı ender olgularda 20'li ve 90'lı yaşlarda olmaktadır. Her iki cinsten de görülmektedir. Dünyadaki olaylar arasında % 5-10'u ailelerde en az bir diğer şahısta, hastalığın bulunduğunu veya kuvvetle şüphelenildiğini oraya koymuştur. CJD'nin ailesel şeklinin olduğu yapılan pedigrî çalışmalarında bulunmuş ve kalıtımın, bir otosomal dominant modelinin var olduğu kabul edilmiştir.

Kısa zamanda çok sayıda vak'a bildirilmesine karşın İsrail ve Çekoslovakya dışındaki hiçbir ülkede istatistiksel bir çalışma yapılmamıştır. İsrail'de CJD'nin yüksek insidansı Libya orijinli Yahudilerde bildirilmiştir. Slovakya'da ise mihrakların daha çok kırsal alanda olduğu rapor edilmiştir. Bu yerlerde yıllık insidans her milyonda 500 kadardır (Normal değerler her milyonda 1 veya 0.5 vak'a). Bu odaklardaki ailesel olguların oranı % 40 gibi oldukça yüksektir. Başka ülkelerde (Tunus, Fransa, Polonya, Yunanistan, Şili, Amerika) doğup yaşayan Doğu Avrupa ve Yahudi soyundan diğer ailelerde de hastalığın olduğu görülmüştür. Hollanda ve Macaristan kökenli Finlandiya, Fransız ve Amerikan ailelerinde de etken tanımlanmıştır.

CJD'nin ailevi sebebine ilave olarak ender olan bir başka kaynağı iatrojenik hastalıktır. İnsanlarda, CJD naklinin, insan kadavrasından alınan hipofiz bezinden elde edilen büyüme hormonu ve gonadotropin'in parenteral uygulamalarından ileri geldiği bildirilmiştir. Aynı zamanda beyin cerrahisinde, kontamine aletlerin ve greftlerin kullanılması, meninges ve kornea transplantasyonlarına da bağlanmıştır (8,10,20). İatrojenik hormon tedavi olgularının enterasan durumu, değişmeyen ilk semptom olan ataksi, ilerleyen serebellar ve basal ganglia disfonksiyonu ve geç bunama ile klinik tablonun Kuru'ya benzemesidir (8).

GSS sendromu ilk olarak 1936 yılında bir Avusturyalı ailede tespit edilmiş ve daha sonra sporadik olarak görülmüştür (7). Ailesel CJD'na benzer katılım olaylarına rağmen, hastalığın başlama yaşının daha erken olması (35-55 yaş) ve hastalığın ilerlemesinin daha uzun sürmesi (3-5 yıl) gibi belli karakteristik özellikleri ile CJD'dan ayrılır (8).

Prionlar, diğer birçok hastalığın muhtemel sebepleri arasında sıralanmıştır fakat bulgular tam açıklık getirmemiştir. Amerika'daki ölümlerin sebeplerinde dördüncü sırada olan, senil bunamanın en yaygın şekli Alzheimer hastalığı (AD), bu kategori içine girebilir (39).

### PRİONLARIN GENEL ÖZELLİKLERİ

Günümüzde prionlar, insan ve hayvanlarda görülen ve "transmissible spongiform ensefalopati"ler adı altında toplanan hastalıkların sorumlu etkeni olarak kabul edilmektedirler.

Prionlar filtrelerden geçebilirler ve en küçük viruslardan 100 defa daha küçüktür (44,46). Molekül ağırlıkları çeşitlilik gösterdiğinden direk metotlarla prionun büyüklüğünü tespit etmek güçtür. Eğer prionun molekül ağırlığı 50.000 kabul edilecek olursa, çapı tahminen 5 nm (1 metrenin trilyonda 5'i) kadardır (39). Boyutlarıyla ilgili en büyük değerler, etkenleri, küçük virus partikülleri sınıflaması içine sokar. Ancak, bazı araştırmacılara göre bu geniş değerler, etken partiküllerinin birikimine bağlı olarak şekillenmektedir (46).

Prionlar ultraviyole ışınlarına, iyonize radyasyona, çinko iyonlarına, ısıya ve özellikle kuru ısıya oldukça direçlidirler (46). Oysa iyonize radyasyonun, nükleik asitleri etkilemek suretiyle virusları ve hücreleri denatüre ettiği bilinmektedir. Prionları inaktive etmek için oldukça yüksek radyasyon dozlarının gerekmesi (18), bunların nükleik asitlerden yoksun ve viruslardan önemli ölçüde küçük olduğu sonucuna götürmüştür (39).

Amino asit zincirini kesen enzimlerin (protease'ların), proteinleri kaplayarak onları denatüre eden bazı deterjan ve reagent'ların (sodium dodecyl sulphate -SDS, phenol), pürifiye prionların infektivitesini önemli ölçüde düşürdüğü saptanmıştır (12,18,39,44).

Viruslar genellikle nuklease'lara direçlidirler. Çünkü kapsid, DNA ve RNA'yı korur. Prion'lar, çoğu virusların protein yapısındaki kapsidini geçebilen psoralens denen moleküller ile muamele edilerek ultraviyole radyasyonuna maruz bırakıldığında, psoralens'in viruslardaki nükleik aside bağlandığı ve onu inaktive ettiği görülmüştür. Ancak, prion infektivitesinde bir kayıp gözlenmemiştir. Çinko iyonlarının da ultraviyole radyasyonuna benzer tarzda etki yaptığı saptanmıştır (39).

Diethyl pyrocarbonate (DEP), hem proteinleri hem de nükleik asitleri modifiye edebilen bir reagent'tir. Fakat, DEP'in proteinler üzerine olan etkisi, hydroxylamine ile muamele sonucu tersine döndürülebilir olmasına karşın, nükleik asitler üzerine olan etkisi döndürülemez. Prion'lar, DEP ile muamelede inaktive olurlar ve infektiviteleri, hydroxylamine ile düzeltilebilir. Oysa, nükleik asit zincirini kesen nükleaz'ların, prion infektivitesi üzerine etkili olmadığı görülmüştür (3,10,39).

Tüm bu fiziksel ve kimyasal bulgular, küçük bir DNA ya da RNA olasılığı henüz dışlanmamakla birlikte, prion'un, nükleik asitten yoksun bir proteinden oluştuğunu açıklamaktadır (39).

Prion'ların bu olağandışı özellikleri "unconvantional virus" (olağandışı virus) teriminin kullanılmasına ve ajanın yapısı konusunda birçok teorilere yol açmıştır. Bu teoriler başlıca üç temel klasik hipotez altında toplanmaktadır (39,42).

1) **Virus** (Protein + nükleik asit ); Virusa özel nükleik asit tarafından kodlanan protein,

2) **Virino** (Protein + nükleik asit); Regülatör nükleik asit ile birlikte konakçı tarafından kodlanan protein,

3) **Prion** (Sadece protein); Nükleer materyal içermeyen protein,

Bunlara ek olarak son zamanlarda ileri sürülen diğer bir teori daha vardır ki bu da,

4) **Birleştirilmiş Teori**; Prion teorisi ile virino teorisinin esaslarının birleştirilmesi.

### **Olağandışı Virus Hipotezi**

Bu hipoteze göre protein, virusa özel nükleik asit tarafından kodlanır. Hücrenel komponentler ile ilişkili olarak biriken virus partikülleri, bireysel virus partiküllerinden farklı bir sağlamlık göstermektedir. Etken, yapılan radyobiyojik çalışmalar sonunda kesinlikle bir konvensiyonel virus değildir. Etkenin ısıya, ultraviyole ışınlarına veya iyonize radyasyona dirençli olması ile virus ailesinin bir üyesi olamayacağı belirtilmektedir (10,12).

### **Virino Hipotezi**

Virino terimi, düşük molekül ağırlıklı küçük bir nükleik asitle konakçı tarafından kodlanan proteinden oluşan bir infeksiyöz etkeni tanımlar (12). Virino'nun en son tanımı, "kendi kopyasından başka bir ürünü kodlamayan, konakçı proteinlerini kuşatan etken genomu"dur. Hipotezin esası, scrapie

izolatlarının rodentlerde pasajı yapıldığında, davranışlardaki değişiklikleri açıklamaktı. Bu varyasyon, etkenin değişik izolatları aynı soydan farelere verildiğinde, histopatolojik lezyonlarda ve inkübasyon periyodunda değişiklikler gösterir. Bu fenotipik özellikler, Scrapie etkeni ve aynı zamanda Kuru ve Creutzfeldt-Jakob hastalığı (CJD) gibi diğer spongiform ensefalopati etkenleri için de gösterilmiştir (10,46).

### **Prion Hipotezi**

Prion terimi "nükleik asitleri modifiye eden uygulamalarda, inaktivasyona dirençli olan küçük proteinöz, enfeksiyöz partiküller" olarak tanımlanır (18,46). Bazı araştırmacılar, infektivite için bir proteinin gerekli olduğu olasılığını ileri sürmüşlerdir. Oysa nükleik asitleri modifiye ya da hidrolize eden uygulamalar, scrapie etkenini inaktive etmede başarısız olmuşlardır (10,46).

### **Birleştirilmiş Teori**

Prion protein scrapie (PrPsc) normal hücreye girdiğinde, kimyasal ya da şekilsel modifikasyon gösterebilen, şimdiye kadar bilinmeyen bir işlem ile hücrel prion protein (PrPc)'nin PrPsc'ye dönüşmesine sebep olur. Model, etkenin propagasyon ve replikasyonunda bir nükleik asidin gerekliliğini engeller fakat suşlarının çeşitliliği konusuna bir açıklama getirmez. Virino hipotezini savunanlar, bu suş varyasyonu için şimdiye kadar bulunan bir nükleik asit olmadığından, önerdikleri açıklamayı yapamamışlardır (46,51).

Weismann (51), hem prion hem de virino hipotezlerinin esas özelliklerini alarak, prion propagasyonunun bir "birleştirilmiş teori"sini ileri sürmüştür. Araştırmacı, hastalıklı hayvanların kaba doku ekstratlarında bulunan enfeksiyöz etkenin, iki parçadan oluşan birleşik formu, "Holoпрion"u önermiştir. Birinci parça PrPcs (Apoprion), ikincisi ise birçok varyantta varolabilen bir nükleik asit (Coprion)'tir. Bu coprion, PrPsc'nin biyokimyasal özelliklerini değiştirerek, suş spesifik karakterleri tayin eder. Coprion'un normal olarak PrPsc ile ilişkili olduğu fakat aynı zamanda infekte olmamış konakçı hücrelerinde de bulunduğu ileri sürülmektedir.

Apoprion (PrPsc), coprion'un olmadığı hücreye girdiğinde, coprion vazifesi gören bir hücrel nükleik asitin yerini alabilir. Coprion, normal hücre enzimleri tarafından replike edilmektedir. Coprion'un değişmesi ile yeni-konakçı hücrenin değişme kabiliyeti bulunabilir. Apoprion, coprion vazifesi gören bir nükleik asitin olmadığı durumda bile transmissible hastalığa sebep olabilir (46).

Konakçıyı kodlayan PrPc, hem bu model hem de prion teorisinde önemli olan PrPsc'nin erimeyen formuna dönüştürülür. Bu olay muhteme-

len daha çok, PrPsc, konakçı hücreyi kodlayan PrPc'nin yapısına ulaştığında meydana gelir. Konakçı hücre PrP genindeki mutasyonlar, Gertzmann-Straussler Scheinker Sendromu (GSS) olaylarında görüldüğü gibi değişmeye meyilli son ürün olan PrPc'yi yapar (46).

## PRION PROTEİNİN YAPISI

### Scrapie Protein (Prion Protein)

Scrapie ile infekte hamster beyin materyali pürifiye edildikten sonra bu fraksiyonlarda tahmini molekül ağırlığı 27000-30000 olan, çok miktarda makro molekül bulunmuştur. Bu molekül, prion protein ve protease resistant protein'den sonra PrP 27-30 olarak isimlendirilmiştir. Son çalışmalar bir sialoglikoprotein olan PrP27-30'un (4), 33000-35000 molekül ağırlığına sahip daha büyük bir protein olan scrapie proteininin kısmi sindiriminin ürünü olduğunu göstermiştir (46).

### PrP İzoformları

Son zamanlarda, normal hayvanlarda da bulunan ve aynı molekül ağırlığına (33-35kD) sahip olan, bir prekürsör PrPc'den orijin alan scrapie proteinin var olduğu bulunmuştur. Bu protein, fare neuroblastoma hücre kültürü kullanılarak, pulse-chase işaretleme yöntemi ile gösterilmiştir. Bu normal hücre PrP'nin, scrapie ile ilgili form haline dönüşmesi işlemi halâ bilinmemektedir. Molekül ağırlığı 33-35kD olan bu prekürsör normal form, PrPc olarak adlandırılmıştır. Halbuki, scrapie protein yalnızca infekte hayvanlarda vardır ve molekül ağırlığı 33-35kD ile PrPsc olarak isimlendirilmiştir. Başlangıçta izole edilen PrP 27-30 ise PrPsc'nin proteaza dirençli olan kısmıdır (46).

Normal ve infekte hayvanlardan elde edilen PrP'ler aynı değildir. Asıl fark, proteazlar ile muameledeki dirence bağlıdır. Yalnızca infekte beyinlerde bulunan PrPsc, kısmen proteinaz-K'ya dirençlidir. Oysa, infekte beyinler kadar, normallerde de bulunabilen PrPc, tamamen hidrolize olur. PrP'nin iki tipi arasındaki diğer fark, purifikasyon işlemlerinde kullanılan bir özellik olan, belli deterjanlarda eriyebilirlikteki farklılıktır.

Her iki izoform da aynı temel yapıya sahip görülmektedir. Böylece herhangi bir fark, kendi amino asit sekanslarındaki farklılığa bağlı değildir. Bugüne kadar hazırlanmış olan monoklonal veya poliklonal antikorlar, iki form arasında ayırım yapamamaktadır (46). PrP'nin bu iki formu arasındaki farklılık, bir post-translasyonel modifikasyon gibi gözükmemektedir (15), böylece, protein sentezinden sonra bir olay olmaktadır (42). Orijinal translasyon ürününün, çeşitli post-translasyonel modifikasyonları araştırılmış an-



cak iki proteinin kimyasal yapıları arasında herhangi bir fark bulunamamıştır. Hiçbir kimyasal fark bulunamayacak olsa bile, iki proteinin tersiyer yapıları arasındaki farklılık, halâ bazı davranışlarda gözlenen farkların sebebini açıklayabilir.

### HücreseI PrP (PrPc)

Normal izoformunun fonksiyonu bilinmemektedir, fakat aslında PrPc, hücreler arasındaki irtibatı veya tanınmayı sağlayan özel bir tutucu tarafından hücre yüzeyine sarılmaktadır (40,42,44). Memeli PrP'ni için, 65-21 denen bir civciv proteini homolog olarak teklif edilmektedir. Bu protein, acetylcholine receptor inducing activity (ARIA) çalışmalarında izole edilmiştir.

### PrP Gen

"Revers genetik" teknikleri uygulanarak PrP 27-30 saf olarak elde edilebilir (46). cDNA klonlarının izolasyonu ve amino asit sekansları kullanılarak, prion proteinin, tek bir konakçı geni (PrP gen) tarafından kodlanmış olduğu bulunmuştur (15). Bu, scrapie ile infekte beyinde, normal beyinde ve diğer bazı dokulardan izole edilmiştir (46).

PrP gen sekansı, insan, hamster, fare, rat, koyun ve sığır dahil çeşitli türler için saptanabilmiştir (10,46). Bütün olgularda gen tahminen, 250 amino asitten oluşan prion proteinlerini kodlar (39,10). Rat, fare, hamster ve insandaki PrPc arasındaki homoloji % 90'a yakındır, halbuki koyun ve sığır sekansları diğerlerinden biraz daha farklıdır (10,46).

Scrapie, CJD, Kuru, GSS sendromu ve ilgili transmissible neurode jeneratif hastalıkların genel özelliği, önemli miktarlarda transmissible ajanı barındıran dokularda, proteaza dirençli bir prion protein (PrP-res) formunun birikimidir (6,13,19,43). Prion protein, merkezi sinir sistemi ve diğer birçok memeli dokularının endojen bir proteindir (15,45). Infekte olmayan hayvanlardaki tek izoforma karşın, scrapie ile infekte hayvanlar iki PrP izoformuna sahiptirler. Biyokimyasal, patolojik ve immunolojik bilgilerin çoğu, PrPsc'nin infeksiyöz prion'un temel ve fonksiyonel bir komponenti olduğunu göstermiştir (11,40).

Scrapie ve ilgili hastalıklarda, hem proteaza duyarlı (PrPc), hem de proteaza dirençli (PrPsc) prion proteini kodlayan endojen PrP genindeki varyasyonların, scrapie'nin inkübasyon süresini ve scrapie'ye duyarlılığı etkilediği, moleküler genetik alanındaki çalışmalarla kanıtlanmıştır (14). Normal proteaza duyarlı prion proteinin aksine, proteaza dirençli prion protein, amiloid benzeri fibriller (19) ve plaklar (1) halinde kümelenmeye meyleder.

Bu yüzden proteza dirençli PrP'nin, scrapie benzeri neurodejeneratif hastalıkların aktarılabildiği ajanı olduğu ileri sürülmüştür (19). Ancak proteaza dirençli PrP'nin, aktarılabildiği ajanın kendisi mi, ajanın bir bileşeni mi ya da enfeksiyöz olayın ya da hastalığın bir ürünü mü olduğu henüz belli değildir (14).

Pürifiye prionlar beyin ekstratlarında çomak (rod) şeklindeki yapılar halinde kümelenir (31). İmmunoelektron mikroskopik çalışmalar PrP 27-30'un, çomakçıkların bir bileşeni olduğunu göstermiştir. Bunları boyamak için uranil format kullanılarak yapılan morfolojik analizler, çomakların çapının 10-20 nm arasında (ortalama 15 nm) değiştiğini ortaya koymuştur (32). Oluştuğu pürifiye preparasyonlarda çomakçıklar, genellikle büyük demetler halinde bulunur ve bazıları kısa sonikasyonla ayrılabilir. Uzun süreli sonikasyon, çomakçıkların birçok küçük, uzamış partiküller ve kümeler halinde progresif fragmentasyonuna sebep olur. Ancak ultrastrüktürel morfolojide gözlenen bu değişiklikler, prion infektivitesinde bir değişikliğe sebep olmaz.

Çomakçıkların kümelenmeye ve demet oluşturmaya eğilimiyle birlikte heterojen görünüşü, birçok pürifiye amiloidlerin de özelliğidir. Bu karakter, prion hastalıklarında görülen amiloid plakların, PrP filamentlerinden oluşup oluşmadığı sorusuna yol açmıştır. Nitekim histokimyasal çalışmalarda, prion çomakçıklarının kongo red boyası ile boyanması ve polarize ışık altında yeşil-altın rengi parlaklığı vermesi sebebiyle amiloid olduğu gösterilmiştir (32,39,40,41). Amiloid plaklar hem doğal hem de deneysel scrapie'de bulunmaktadır fakat hastalık için zorunlu bir özellik değildir (1).

1981 yılında scrapie ile enfekte beynin pürifiye edilmemiş ekstratlarının elektron mikroskopik muayenesinde, scrapie'ye ilgili fibriller (SAF) denilen uzun anormal fibriller tanımlanmıştır (12). SAF, karakteristik ve iyi belirlenmiş morfolojisiyle diğer tüm filamentöz yapılardan ayırt edilir. SAF'ın yayınlanmış elektron mikrografileri, uzunluk olarak 300-800 nm ölçülen sarmal şeklindeki yapılar göstermiştir. Bu fibrillerin kimyasal kompozisyonu bilinmemesine rağmen, ultrastrüktürel morfolojisi iyi belirlenmiştir (41). Başlıca iki tip SAF gözlenir:

1) Çap olarak 12-16 nm ölçülen ve 40-60 nm ya da 80-110 nm'lik aralıklara sahip olan iki adet, sarmal şekilde sarılmış subfilamentlerden oluşanlar,

2) Çap olarak 27-34 nm ölçülen ve 100-120 nm'lik bir aralığa sahip olan dört adet, sarmal şekilde sarılmış subfilamentlerden oluşanlar (33).

Her iki SAF tipinin en büyük çap noktalarında subfilamentler arasında 2-4 nm'lik boşluklar olduğu saptanmıştır. Karakteristik ultrastrüktürüne da-

yanarak SAF'ın, intermediate filamentlerden ve amiloidden farklı olduğu vurgulanmıştır. 1983 yılında fibrillerin, scrapie ile infekte rodentlerin hem dalak hem de beyinlerinde bulunmasından dolayı infektivite ile ilişkisi olduğu ileri sürülmüş, ancak beyindeki scrapie ajanı titreleri ile SAF'ın konsantrasyonu arasında bir ilişki bulunamamıştır. Ayrıca dalaktaki titreler ile SAF'ın bulunması arasında da bir ilişki kurulamamıştır (32).

Substrüktür, aralıklar (periodisite) ve SAF'ı karakterize eden bitişik filamentler arasında boşlukların görülmemesi, prion çomakçıklarını, scrapie'ye ilgili fibrillerden ayıran strüktürel özelliklerdir. Prion rodlarının düzenli ya da birim bir strüktüre sahip olmadığı ve bunların birçok pürifiye amiloidlerden ayırt edilemediği gözlenmiştir. Aksine SAF'ın iyi belirlenmiş, düzenli, tanımlanabilir bir strüktüre sahip ve ayrıca amiloidlerden farklı olduğu bildirilmiştir. SAF'ı kongo-red boyası ile boyama girişimleri başarısız olmuştur. Bununla birlikte bir pozitif sonuç alınacak olsa bile ekstratlardaki kirlilik nedeniyle yorumlamak imkansızdır (32,41).

Sonuçta, scrapie ve benzeri hastalıkların gelişmesinde prion proteinin rolünü destekleyen kanıtların çokluğu etkili ve inandırıcıdır. Bazı türlerde PrP gen tamamen bir duyarlılık faktörünü meydana getirir. Bununla beraber kabul edilen, PrPsc'nin kendisinin scrapie etkeni olduğudur. Ancak, prion teorisinin önerilerinde, suş varyasyonu, PrPsc ve infektivitenin düzeyi arasında bulunan uygunsuzluk gibi halâ açıklanamamış birçok nokta bulunmaktadır (46).

## HAYVANLARDA SPONGIFORM ENSEFALOPATİLER

### SCRAPİE

Scrapie, infeksiyöz bir ajan tarafından oluşturulan, koyunların merkezi sinir sisteminin kronik, progresif ve öldürücü bir dejenerasyonudur (26).

Scrapie adı, hasta koyunların kaşıntıdan şiddetli sürtünme eğilimleri sonucu yünlerinin kopması, kazınması, sıyrılmışından orijin alır (39).

Prion'lara dahil edilen, uzun inkubasyon periyodu ile karakterize olan scrapie ve diğer hastalıklar, "yavaş infeksiyonlar" olarak da klasifiye edilmişlerdir (39). Ajanın yapısında şimdiye kadar bir nükleik asit bulunamamıştır ancak, immungold elektron mikroskop kullanılarak yapılan çalışmalarda 3kb kadar olan, tek iplikçikli bir DNA bulunduğu ileri sürülmektedir (35). Scrapie ajanı, proteinleri hidrolize, modifiye ya da denatüre eden işlemlere duyarlı olmasına rağmen, nükleik asitleri bozan ya da modifiye eden işlemlere oldukça dirençlidir (11).

Klinik belirtiler ortaya çıkmadan önce, hayvanlar canlı iken, infekte koyunları saptayabilecek bir yöntem halen mevcut değildir (16,22). Hastalık klinik olarak pruritis (kaşıntı) ve inkoordinasyonla belirlenir. Sürtünme sonucu yün kaybı ve deri lezyonları vardır. Sırt kaşındığı veya ovulduğu zaman, hayvan burnunu oynatır. Yürümede anormallik ve bacaklarda ataksi gözlenir (26,56).

Klinik teşhis, spongiform ensefalopatinin patolojik teşhisi ile desteklenir. Histopatolojik lezyonlar merkezi sinir sistemine lokalize olmuştur. Herhangi bir yangı ve demiyelinasyon yoktur. Hastalık, beynin gri maddesinde ve sıklıkla spinal kordda, nöyrofillerin, bilateral ve genellikle simetrik spongiform değişikliklerin ve nöyronal vakuolasyonun histopatolojik olarak gösterilmesi ile karakterizedir. Bu hastalıkta lezyonlar, beynin beyaz maddesinde görülmez (26,48,59). Lezyonların olmaması bu merkezi sinir sisteminin infekte olmadığı anlamına gelmez (22).

Yirmi yıldan fazla zamandan beri infekte hücrelerin endoplazmik retikulum ve yüzey membranları ile scrapie'nin aktarılabilir etkenlerinin ilişkisi bilinmektedir. Scrapie ile etkilenmiş beyin hücrelerinin membranları, sağlıklı beyin dokusunda bulunan hücre membranlarına oranla daha az su kaybetmiştir ve elektron mikroskopik bakışında, yapısındaki karakteristik değişiklikler gözlenir. Tek membran komponent olan PrP'nin, gen yapısı ve ekspresyonu üzerine çalışmalar devam etmektedir (23). Hem proteaza duyarlı hem de proteaza dirençli PrP'ni kodlayan endojen PrP genindeki varyasyonların, scrapie'nin inkubasyon süresini ve duyarlılığı etkilediği, molaküler genetik verilerle kanıtlanmıştır (14,54).

Şimdiye kadar farelerde 20 kadar değişik scrapie suşu izole edilmiştir (21). Serolojik ve biyokimyasal özellikleri olmadığından, bu suşların ayrımında yeni metotlar geliştirilmektedir. Suşlar arasında inkubasyon süresi, beyinde meydana gelen patolojik değişikliklerdeki dağılım, klinik özellikler, türler arasındaki geçiş, termal inaktivasyona dayanıklılık yönünden farklılıklar vardır (9,40).

Hastalık, infekte materyalin inokulasyonu yolu ile laboratuvar hayvanlarına bulaştırılabilir. En etkili olan intraserebral inokulasyon yoludur (10).

Scrapie infeksiyonu, herhangi bir immun yanıt oluşturmaz (11,22), bu nedenle spesifik antikolar saptamak sureti ile yapılan serolojik bir teşhis metodu yoktur (44). Ancak PrP 27-30, tavşan antiserumu ile reaksiyon verilebilir ve düşük molekül ağırlıklı proteinler, Western blot ile görülebilirler (1, 18).

Hastalığın tedavisi yoktur ve ölümle sonuçlanır (20,39).

## BOVİNE SPONGİFORM ENCEPHALOPATHY

Bovine spongiform encephalopathy (BSE), ergin sığırların yavaş, progresif seyirli nuerolojik bir hastalığıdır (5,50).

Histopatolojik olarak BSE tanısı konan olgulardan hazırlanan taze beyin ekstratlarının elektron mikroskopik muayenesinde, scrapie'li koyunlardaki SAF'lara benzer fibriller saptanmıştır (47,52). SAF, prion protein (PrP) denen neuronal bir membran proteininin patolojik kümeleridir (3,4).

Hastalık etkeni formaldehid'e, Beta-propiolakton'a, proteaz'lara, nükleaz'lara, ultraviyole ışınlarına, iyonize ışınlara dirençlidir.

BSE'nin klinik seyri yavaştır. Klinik bulguların oran ve şiddeti, çoğu olgularda 1-4 aylık periyod boyunca gittikçe artar (52). Klinik belirtiler, başlıca, davranış, duruş ve yürüyüş anomalileridir. En sık görülen bulgu, sinirlilik ya da değişen davranış ve mizaçtır. Hayvanlar genellikle ürkek ve tedirgin görünürler. Bu görünüşün, hastalığın genel bir özelliği olduğu bildirilir (17,52,55). Hayvan kendisine yaklaşıldığında veya bir yere sıkıştırıldığında hemen reaksiyon gösterir. Ekseri olgularda da dış gıcırdatmalarına rastlanır. Sese ve dokunmaya karşı artan bir reaksiyon vardır (17,57). Doğal fonksiyonlar ve vücut ısısı normaldir (55). Arka bacaklardaki ataksi, hayvan hızlı yürütüldüğünde belirginleşir ve yürüyüş sallantılıdır. Hayvanın sırt derisi kaşındığında, kuyruk ucunu kaldırması ve dudak şapırdatması da sık görülen bir bulgudur (56).

Hastalıkta makroskopik lezyonlar görülmez. Histopatolojik olarak beyin steminin gri maddesinde bilateral, simetrik, dejeneratif değişiklikler gözlenir. Bu değişiklikler gri madde neuropilinde ve neuron'larda vakolasyonla karakterizedir. Bu vakuoller tek ya da çok sayıdadır (3,52).

BSE yalnız sığır beyinde demonstre edilmiştir. Sütte, memede, semende veya kaslarda bulunamamıştır (50).

BSE deneysel olarak aktarılabilen bir hastalıktır.

## CHRONIC WASTING DISEASE

Kronik zayıflama hastalığı, anormal davranışlar ve vücut kondisyonunun kaybı ile karakterizedir. Hastalıktan etkilenen hayvanlarda, tükrük salgısı ve idrarda artma görülür. İlerleyen dönemlerde dış gıcırdatma artmaktadır. Olgular, ölümle son bulur. Etkilenen hayvanlar, açlık ve yetersiz beslenme sonu vücut ağırlıklarının % 25-35'ini kaybederler.

Diğer spongiform ensefalopatilerde olduğu gibi ölümden önce teşhis olanağı yoktur. Merkezi sinir sisteminin histopatolojik muayeneleri ile teşhis

yapılmalıdır. Spongiform ensefalopatilerdeki tipik mikroskopik lezyonlar bu hastalık için de geçerlidir.

Eradikasyon çalışmaları başarılı olamamıştır (58).

## İNSANLARDA SPONGİFORM ENSEFALOPATİLER

İnsan prion hastalıkları, merkezi sinir sisteminin dejenerasyonu ile karakterize olup, yavaş enfeksiyon, sporadik hastalık ve genetik hastalıklar şeklinde üç bölümde incelenir (42). Hastalıklar, inokulasyon yolu ile laboratuvar hayvanlarına aktarılabilirler (2,39).

Kuru, CJD, GSS sendrom ve Scrapie'nin klinik ve patolojik bulguları, hepsinin yakından ilişkili olduğunu gösterir. Scrapie, Kuru ve GSS sendromunun başlıca semptomları koordinasyon kaybı ve yürümede zorluktur. Kuru'da bunama hastalık seyri sonunda görülür. Birkaç olay Kuru'dakine benzer erken belirtiler göstermesine rağmen CJD, genellikle bir bunama olarak başlar. Hastalıkların hiçbirinde yangısal bir olay ya da ateş belirtisi yoktur ve serebrospinal sıvıdaki hücre sayısı normal kalır. Bu, hastalık ajanına immun sistemin cevap vermediği açıklanmıştır (8,11,39). Bütün bu hastalıkların temel neurositolojik lezyonları, neuronların ve daha az olarak da astrosit ve oligodentrositlerin hücre gövdelerinde dentrit ve akson çıkıntılarındaki progresif vakuolasyon, aşırı astroglial hipertrofi ve proliferasyon, spongiform değişme veya neuronal kayıp ile gri maddenin spongiosis halidir (8).

### KURU :

Kuru, başlangıcından itibaren, bir yıldan az bir zamanda ölümle sonuçlanan, konuşmanın tamamen kaybedilmesi, motor sinirlerin yetersizliği sonucu disartria'da tremora benzer titreme ve serebellar ataksi ile karakterizedir (8).

Kuru'nun klinik seyri, genellikle 3-9 ay içinde ilerler ve ölüme götürür. Hastalığın üç safhası vardır. Sık sık ses kısıklığı ve kaybı, yürümede ataksi, sendeleme ve titremeler ilk belirtilerdir. Kontrol edilemeyen bir titreme vardır ve hasta sanki kızmış gibi ayağını yere vurur. Ayakta dengeyi sağlamak zordur. İkinci safhada hasta çaba sarfetmeden uzun süre yürüyemez. Tremor ve ataksiler ciddileşir ve sıklaşır, eklemlerde sertleşmeler olur. Hasta, parlak ışık, ani sese karşı veya duruştaki bozukluk yüzünden çok aşırı ürkmeye veya sıçrama hali gösterir. Patolojik gülümseme meydana gelir ve sonra azalır. Bu özellik, hastalık için "gülümseyen ölüm" ile sinonim olarak bahsedilir. Hafızada yavaşlama belirir. Son safhada, ciddi

boyutlara ulaşan disartria, tremor ve ataksilerden dolayı hastanın dik oturması imkansızdır. Sonuçta idrar ve dışkıyı tutamama artar ve iyi gıda verilse bile yutamamaktan ötürü susuzluk ve açlıktan ölüm meydana gelir.

Olayların dörtte üçünde amiloid ihtiva eden plaklar bulunur ve periodik-asit-schiff (PAS) pozitifler (8). Doku kesitlerindeki amiloid plaklar hemen bu reagent'e bağlanır. Amiloid plaklar, scrapie ve CJD'e benzeyen, katır, elk ve geyiklerin kronik zayıflama hastalığı (CWD) ve insanların GSS sendromunda da bulunmaktadır. Bu bulgu, Alzheimer hastalığı gibi aktarılamayan hastalıkların patogeneziinde, prion benzeri moleküllerin etkili bir rol oynayabileceği ihtimalini artırır. Amiloidler, Alzheimer hastalığında etkilidir fakat yıllardır hastalığın muhtemel sebebinden daha çok sonucu olarak düşünülmüştür (30,41).

Etken, Kuru'lu hastaların beyin dokusundan izole edilmiştir. Etken, deney hayvanlarında veya hastaların beyin dokusunda  $10^8$  ID<sub>50</sub>/g'den daha fazla titreye ulaşmaktadır. Deney hayvanlarının ve insanların periferik dokularında (karaciğer, dalak, böbrek) yalnızca ölüm anında ender olarak ve düşük titrede bulunmuştur. Kuru'lu insan ve deney hayvanlarının kan, idrar, tükürük, lökosit, serebrospinal sıvı, süt, plasenta ve embriyonal membranlarında etken henüz bulunamamıştır (8).

#### CREUTZFELDT-JAKOB HASTALIĞI (CJD) :

Creutzfeldt-Jakob hastalığında, halsizlik belirtileri, kilo kaybı veya düzensiz uyku hali, nörolojik belirtilerin başlamasından önceki aylarda bulunabilir. Zaman zaman ilerleyen mental gerileme, en yaygın bulgular arasındadır. Hastalarda, genellikle hafıza kaybı, kararlarda hata, ruhi değişiklikler veya karakter dışı davranışlar bulunur. Bazen zihinsel gerileme, söz ve işlev yitirimine yol açar. Hastaların klinik bulgularında, serebellar ve görme bozuklukları gibi belirtiler hakimdir. Bu tip bulguların tekrarlanması ile baş dönmesi, çift görme, hareketlerde düzensizlik, fazla duyarlılık ve hatta felç, hastaların ilk teşhislerinin yanlış konulmasına yol açar.

Hastalığın ilerlemesi genellikle prognozun iyi olmadığını gösterir. Zihinsel gerileme ve ruh halindeki bozukluk, bunama, şaşkınlık ve konuşamama halini meydana getirir. Görme zayıflığı devam ederek halusinasyonlarla, kısmi körlüğe kadar ilerler. Hastaların çoğu 6 ay içinde, bazen de daha kısa sürede ölürlür. İyileşme hiç gerçekleşmemiştir (8).

Ailelerdeki hastalık oluşumunun, amiloid prekürsör genin 200. kodonda aynı amino asit değişiminin nokta mutasyonu (glutamik asit-lisin) olduğu gösterilmiştir. Değişik kökenli aileler aspartik asitin asparajine dönüştüğü kodon 178'de aynı nokta mutasyona sahiptirler. İngiliz orijinli iki akrabada

51 ve 91 arasındaki bölgede, oktapeptid kodlayan sekansın, aynı tekrarlara sahip olduğu gösterilmiştir (8,42).

### GERSTMANN-STRAUSSLER-SCHEINKER SENDROMU (GSS)

İlk olarak 1936 yılında Avusturya'da tespit edilmiştir. Ancak, hastalığın önemi, GSS sendromunun genetik bir hastalık olduğunun ve gelişmesinin, prion proteinin anlamsız bir varyantına bağlı bulunduğu gösterilmesine kadar tam olarak anlaşılamamıştır. Moleküler klonlama çalışmaları, muhtemelen, guanin 5 pozisyonunda sitozin metilasyonunun amino grubunun çıkarılması sonucu, kodon 102'nin ikinci pozisyonunda timin yerine bir sitozin konulduğunu gösterir. Bu mutasyon, GSS'nin gelişmesini ve PrP kodon 102'de yer değiştiren amino asitler arasında genetik bağın gösterilmiş olduğu bir D del restiriksiyon yerini tayin eder. Çoğu GSS olayları kalıtsal iken, CJD vakalarının % 10-15'i aileseldir. GSS'nin PrP mutasyonu, kendi genetik aktarımı ile tutarlı olan bir germline mutasyondur (42) ve spinoserebellar belirtiler, spongiform değişimi gibi göze çarpan multisentrik amiloid plaklar ve geniş bir dejenerasyon alanı hastalığı CJD'dan ayıran neuropatolojik özelliklerdir (8).

Spongiform ensefalopatilerin kesin teşhisi, hastanın ölümünden sonra, beyin dokusunun pürifiye preparatlarının Western Blot tekniği ile muayenesinin sonucuna göre konmaktadır. Acak Alzheimer hastalığı ve diğer nörolojik hastalıklardan ölenlerde immunblot negatif bulunmuştur (6).

Bu ensefalopatiler ile Alzheimer hastalığı arasındaki benzerlikler kayda değerdir. Hastalığa özgü bir hayvan modeli olmadığından etiyolojinin tanımlanması olamamaktadır (30). Hastalığın daimi kesin bulgusu olan amiloid plakların sayısı arttıkça, mental disfonksiyonun derecesi de artar. Alzheimer hastalığının prion enfeksiyon tarafından meydana getirilebileceği olasılığı şaşırtıcıdır fakat hastalığın aktarılabilir ya da bulaşıcı olduğunun güvenilir bulgusu yoktur. Kişiden kişiye kontakla yayılmaz. İnokulasyonla deney hayvanlarına bulaştırma denemeleri olumsuzdur. Ancak, AD gerçekten prionlar tarafından meydana getirilmişse, bulaştırma deneylerinin başarısızlığını açıklamak için ilk hipotez teklif edilebilir. İlki; infeksiyöz ajan deneyler için seçilen türlerde replike olmayabilir. İkincisi, inkubasyon periyodu hastalık için deneylerde tayin edilenden çok uzun olabilir. Bu hipotez Kuru ve CJD için 20-30 yıllık bir inkubasyon periyodunun raporları ile uyumludur. AD'nin yaşlı insanlarda çok yaygın olması ve insidansın yaş ortalaması da kayda değerdir. AD'nin prionlar ya da herhangi diğer bir infeksiyöz ajan tarafından meydana getirilmediği olasılığı da vardır.

Prion gerçekten tek bir protein ve konakçı organizmine dahil bir genin ürünü ise infeksiyon kavramıyla ne demek istendiğini yeniden araştırmak için zaman gerekebilir (39).



## KAYNAKLAR

- 1- BENDHEIM, P.E., BARRY, R.A., DE ARMOND, S.J., STITES, D.P. and PRUSINER, S.B. : Antibodies to a scrapie prion protein. *Nature*. 310: 418-421, 1984.
- 2- BOCKMAN, J.M., KINGSBURY, D.T., MCKINLEY, M.P., BENDHEIM, P.E. and PRUSINER, S.B. : Creutzfeldt-Jakob disease prion proteins in human brains. *N. Engl. J. Med.* 312: 7, 1985.
- 3- BOLTON, D.C., MCKINLEY, M.P. and PRUSINER, S.B. : Molecular characteristics of the major scrapie prion protein. *Biochem.* 23: 5898-5906, 1984.
- 4- BOLTON, D.C., MEYER, R.K. and PRUSINER, S.B. : Scrapie PrP 27-30 is a sialoglycoprotein. *J. Virol.* 53: 596-606, 1985.
- 5- BOSTOCK, C.J. : Molecular genetics and strain characteristics of BSE. 43rd Annual Meeting of the European Association for animal production, 1992.
- 6- BROWN, P., COKER-VANN, M., POMEROY, K., FRANKO, M., ASHER, D.M., GIBBS, C.J. and GAJDUSEK, D.C. : Diagnosis of Creutzfeldt-Jakob Disease by western blot identification of marker protein in human brain tissue. *N. Engl. J. Med.* 314: 547-551, 1986.
- 7- BROWN, P. : Transmissible spongiform encephalopathies in humans. Kuru, Creutzfeldt-Jakob Disease and Gerstmann-Straussler-Scheinker Disease. *Can. J. Vet. Res.* 54: 38-41, 1990.
- 8- BROWN, P. and GAJDUSEK, D.C. : The human spongiform encephalopathies: Kuru, Creutzfeldt-Jakob Disease and the Gerstmann-Straussler-Scheinker Syndrome. *Current Topics in Microbiology and Immunology.* 172: 1-17, 1991.
- 9- BRUCE, M.E. and FRASER, H. : Scrapie strain variation and its implications. *Current Topics in Microbiology and Immunology.* 172: 125-137, 1991.
- 10- BRUNORI, M., SILVESTRINI, M.C. and POCCHIARI, M. : The scrapie agent and the prion hypothesis. *TIBS.* 13: 309-313, 1988.
- 11- CARLSON, G.A. : Genetics of prion diversity and host susceptibility. *Current Topics in Microbiology and Immunology.* 172: 153-162, 1991.
- 12- CARP, R., MERZ, P.A., KASCSAK, R.J., MERZ, G.S. and WISNIEWSKI, H.M. : Review article. Nature of the scrapie agent: Current status of facts and hypothesis. *J. Gen. Virol.* 66: 1357-1368, 1985.
- 13- CAUGHEY, B., RACE, R.E., ERNST, D., BUCHMEIER, M.J. and CHESEBRO, B. : Prion protein biosynthesis in scrapie-infected and uninfected neuroblastoma cells. *J. Virol.* 63: 175-181, 1989.
- 14- CAUGHEY, B. : In vitro expression and biosynthesis of prion protein. *Current Topics in Microbiology and Immunology.* 172: 93-104, 1991.
- 15- CHESEBRO, B., RACE, R., WEHRLY, K., NISHIO, J., BLOOM, M., LECHNER, D., BERGSTROM, S., ROBBINS, K., MAYER, L., KEITH, J.M., GARON, C. and HAASE, A. : Identification of scrapie prion protein specific mRNA in scrapie-infected and uninfected brain. *Nature.* 315: 331-333, 1985.

- 16- CLARK, A.M. and MOAR, J.A.E. : Scrapie: a clinical assessment. *Vet. Rec.* 130: 377-378, 1992.
- 17- CRANWELL, M.P., HANCOCK, R.D., HINDSON, J.R., HALL, S.A., DANIEL, N.J., HOPKINS, A.R., WONNACOTT, B., VIVIAN, M. and HUNT, P. : Bovine spongiform encephalopathy. *Vet. Rec.* 122: 190, 1988.
- 18- CURTIN, M.E. : The prion's progress. *Microbiol. Sci.* 2: 297-298, 1985.
- 19- DIRINGER, H., GELDERBLOM, H., HILMERT, H., ÖZEL, M. and EDELBLUTH, C. : Scrapie infectivity, fibrils and low molecular weight protein. *Nature.* 306: 476-478, 1983.
- 20- EEC REGULATORY DOCUMENT. : Guidelines for minimizing the risk of transmitting agents causing spongiform encephalopathy via medicinal products. *Biologicals.* 20: 155-158, 1990.
- 21- FOSTER, J.D., MCKELVEY, W.A.C., MYLNE, M.J.A., WILLIAMS, A., HUNTER, N., HOPE, J. and FRASER, H. : Studies on maternal transmission of scrapie in sheep by embryo transfer. *Vet. Rec.* 130: 341-343, 1992.
- 22- GIBSON, P.H., SOMERVILLE, R.A., FRASER, H., FOSTER, J.D., KIMBERLIN, R.H. : Scrapie associated fibrils in the diagnosis of scrapie in sheep. *Vet. Rec.* 120: 125-127, 1987.
- 23- HOPE, J. and MANSON, J. : The scrapie fibril protein and its cellular isoform. *Current Topics in Microbiology and Immunology.* 172: 57-71, 1991.
- 24- HUNTER, N. : Natural transmission and genetic control of susceptibility of sheep to scrapie. *Current Topics in Microbiology and Immunology.* 172: 165-177, 1991.
- 25- JEFFREY, M. and WELLS, G.A.H. : Spongiform encephalopathy in Nyala (*Tragelaphus angasi*). *Vet. Pathol.* 25: 398-399, 1988.
- 26- KIMBERLIN, R.H. : Scrapie. *Disease of sheep.* 29: 163-169, 1991.
- 27- KIRKWOOD, J.K., WELLS, G.A.H., WILESMITH, J.W., CUNNINGHAM, A.A. and JACKSON, S.I. : Spongiform encephalopathy in arabian oryx (*Oryx leucoryx*) and a greater kudu (*Tragelaphus strepsiceros*). *Vet. Rec.* 127: 418-420, 1990.
- 28- LIBERSKI, P.P., PLUCIENNICZAK, A., HRABEC, E. and BOGUCKI, A. : Isolation and purification of scrapie associated fibrils and prion from scrapie-infected hamster brain. *J. Comp. Pathol.* 100: 177-185, 1989.
- 29- MANUELIDIS, L., VALLEY, S. and MANUELIDIS, E.E. : Specific proteins associated with Creutzfeldt-Jakob Disease and scrapie share antigenic and carbohydrate determinants. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 82: 4263-4267, 1985.
- 30- MANUELIDIS, E.E. and MANUELIDIS, L. : Search for transmissible agent in Alzheimer's disease: Studies of human buffy coat. *Current Topics in Microbiology and Immunology,* 172: 275-280, 1991.
- 31- MCKINLEY, M.P., BRAUNFELD, M.B., BELLINGER, C.C. and PRUSINER, S.B. : Molecular characteristics of prion rods purified from scrapie-infected hamster brain. *J. Infect. Dis.* 154: 110-120, 1986.
- 32- MCKINLEY, M.P. and PRUSINER, S.B. : Ultrastructural studies of prions. *Current topics in Microbiology and Immunology.* 172: 75-89, 1991.

- 33- MERZ, P.A., SOMERVILLE, R.A., WISNIEWSKI, H.M., MANUELIDIS, L. and MANUELIDIS, E.E. : Scrapie-associated fibrils in Creutzfeldt-Jakob Disease. *Nature*. 306: 474-476, 1983.
- 34- MORGAN, K.L. : BSE: time to take scrapie seriously. *Vet. Rec.* 122: 445-446, 1988.
- 35- NARANG, H.K. : Direct visual evidence that scrapie agent contains a single-strand deoxyribonucleic acid(DNA). *Neuropathol. Appl. Neurobiol.* 14: 518, 1988.
- 36- OESCH, B., WESTAWAY, D. and PRUSINER, S.B. : Prion protein genes: Evolutionary and functional aspects. *Current Topics in Microbiology and Immunology*. 172: 109-121, 1991.
- 37- PEARSON, G.R., GRUFFYDD-JONES, T.J., WYATT, J.M., HOPE, J., CHONG, A., SCOTT, A.C., DAWSON, M. and WELLS, G.A.H. : Feline spongiform encephalopathy. *Vet. Rec.* 128: 532, 1991.
- 38- PEET, R.L. and CURRAN, J.M. : Spongiform encephalopathy in an imported cheetah (*Acinonyx jubatus*). *Austra. Vet. J.* 69: 171, 1992.
- 39- PRUSINER, S.B. : Prions. *Sci. Amer.* 251: 48-57, 1984.
- 40- PRUSINER, S.B., GROTH, D.F., BOLTON, D.C., KENT, S.B. and HOOD, L.E. : Purification and structural studies of major scrapie prion protein. *Cell*. 38: 127-134, 1984.
- 41- PRUSINER, S.B., BARRY, R.A., MCKINLEY, M.P., BELLINGER, C.G., MEYER, R.K., DEARMOND, S.J. and KINGSBURY, D.T. : Scrapie and Creutzfeldt-Jakob disease prions. *Microbiol. Sci.* 2: 35-39, 1985.
- 42- PRUSINER, S.B. : Novel properties and biology of scrapie prions. *Current Topics in Microbiology and Immunology*. 172: 233-250.
- 43- RACE, R.E., CAUGHEY, B., GRAHAM, K., ERNST, D. and CHESEBRO, B. : Analyses of frequency of infection, specific infectivity, and prion protein biosynthesis in scrapie-infected neuroblastoma cell clones. *J. Virol.* 62: 2845-2849, 1988.
- 44- ROHWER, R.G. : The scrapie agent: "A virus by any other name". *Current Topics in Microbiology and Immunology*. 172: 195-223, 1991.
- 45- RUBENSTEIN, R., KASCSAK, R.J., MERZ, P.A., PAPINI, M.C., CARP, R.I., ROBAKIS, N.K. and WISNIEWSKI, H.M. : Detection of scrapie associated fibril (SAF) proteins using anti-SAF antibody in nonpurified tissue preparations. *J. Gen. Virol.* 67: 671-681, 1986.
- 46- SCHREUDER, B.E.C. : BSE agent hypotheses. 43rd Annual Meeting of the European Association for animal production. 1992.
- 47- SCOTT, A.C., WELLS, G.A.H., STACK, M.J., WHITE, H. and DAWSON, M. : Bovine Spongiform Encephalopathy: detection and quantitation of fibrils, fibril protein (PrP) and vacuolation in brain. *Vet. Microbiol.* 23: 295-304, 1990.
- 48- STACK, M.J., SCOTT, A.C., DONE, S.H. and DAWSON, M. : Natural scrapie: detection of fibrils in extracts from the Central Nervous System of sheep. *Vet. Rec.* 128: 539-540, 1991.
- 49- TAYLOR, D.M. : Scrapie agent decontamination: Implications for Bovine Spongiform Encephalopathy. *Vet. Rec.* 24: 291-292, 1989.

- 50- TAYLOR, K.C. : Bovine Spongiform Encephalopathy control in Great Britain. 43rd Annual Meeting of the European Association for animal production. 1992.
- 51- WEISMANN, C.: A "unified theory" of prion propagation. *Nature*. 352: 679-683, 1991.
- 52- WELLS, G.A.H., SCOTT, A.C., JOHNSON, C.T., GUNNING, R.F., HANCOCK, R.D., JEFFREY, M., DAWSON, M. and BRADLEY, R. : A novel progressive spongiform encephalopathy in cattle. *Vet. Rec.* 121: 419-420, 1987.
- 53- WELLS, G.A.H. and MCGILL, I.S. : Recently described scrapie-like encephalopathies of animals: case definitions. *Res. Vet. sci.* 53: 1-10, 1992.
- 54- WESTAWAY, D., GOODMAN, P.A., MIRENDA, C.A., MCKINLEY, M.P., CARLSON, G.A. and PRUSINER, S.B. : Distinct prion proteins in short and long scrapie incubation period mice. *Cell*. 51: 651-662, 1987.
- 55- WILESMITH, J.W., WELLS, G.A.H., CRANWELL, M.P. and RYAN, J.B.M. : Bovine Spongiform Encephalopathy: epidemiological studies. *Vet. Rec.* 123: 638-644, 1988.
- 56- WILESMITH, J.W. and WELLS, G.A.H. : Bovine Spongiform Encephalopathy. *Current Topics in Microbiology and Immunology*. 172: 21-36, 1991.
- 57- WILESMITH, J.W., HOINVILLE L.J., RYAN, J.B.M. and SAYERS, A.R. : Bovine Spongiform Encephalopathy: aspects of the clinical picture and analyses of possible changes 1986-1990. *Vet. Rec.* 130: 197-201, 1992.
- 58- WILLIAMS, E.S., MILLER, M.W., YOUNG, S. and THORNE, E.T. : Chronic wasting disease: A spongiform encephalopathy of mule deer (*Odocoileus hemionus*) and Rocky Mountain elk (*Cervus elaphus nelsoni*) in Colorado and Wyoming. USA. W.A.V.M.I. 12th International Symposium. 249-252, 1992.
- 59- WOOD, J.L.N., LUND, L.J. and DONE, S.H. : The natural occurrence of scrapie in mouflon. *Vet. Rec.* 130: 25-27, 1992.
- 60- WOODGATE, S.L. : Rendering systems and BSE agent deactivation. 43rd. Annual Meeting of the European Association for animal production. 1992.