

# Prioni i prionske bolesti

---

**Kozlica, Sara**

**Undergraduate thesis / Završni rad**

**2023**

*Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj:* **University of Split, Faculty of Science / Sveučilište u Splitu, Prirodoslovno-matematički fakultet**

*Permanent link / Trajna poveznica:* <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:166:095621>

*Rights / Prava:* [In copyright](#)/[Zaštićeno autorskim pravom.](#)

*Download date / Datum preuzimanja:* **2024-08-25**

*Repository / Repozitorij:*

[Repository of Faculty of Science](#)



UNIVERSITY OF SPLIT



DIGITALNI AKADEMSKI ARHIVI I REPOZITORIJI

Sveučilište u Splitu  
Prirodoslovno – matematički fakultet  
Odjel za biologiju

Sara Kozlica

# **PRIONI I PRIONSKE BOLESTI**

Završni rad

Split, 2023.

Sveučilište u Splitu  
Prirodoslovno – matematički fakultet  
Odjel za biologiju

Sara Kozlica

# **PRIONI I PRIONSKE BOLESTI**

Završni rad

Split, 2023.

Ovaj rad izrađen u Splitu pod vodstvom izv. prof. dr. sc. Elme Vuko, predan je na ocjenu Odjelu za biologiju Prirodoslovno-matematičkog fakulteta Sveučilišta u Splitu radi stjecanja zvanja prvostupnica biologije.

Sveučilište u Splitu  
Prirodoslovno-matematički fakultet  
Odjel za biologiju  
Ruđera Boškovića 33, 21000 Split, Hrvatska

## Prioni i prionske bolesti

Sara Kozlica

Prioni (engl. *proteinaceous infectious particle*) su sitne, zarazne proteinske čestice koje uzrokuju transmisivne spongiformne encefalopatije (TSE), neizlječive bolesti koje prvenstveno napadaju živčani sustav stvarajući amiloidne plakove. Naziv prioni je uveo Stanley Prusiner koji je 1982. postavio prvu hipotezu o prionima. Prionska teorija temelji se na pronalasku proteina niske molekularne težine povezanog s infekcijom u TSE tkivima. Nekoliko dokaza sugerira da je glikozilirani protein otporan na proteazu (PrP) sastavni dio zarazne čestice. PrP<sup>Sc</sup> (od *scrapie*), protein koji razara tkivo ima 30%  $\alpha$ -uzvojnica i 43%  $\beta$ -nabranu ploču, za razliku od staničnog PrP<sup>C</sup> (od *cellular* - stanični) koji ima 43%  $\alpha$ -uzvojnica. Smatra se da prioni transformiraju normalne proteine u infektivne agense, mijenjajući zdrave u bolesne molekule. Studije na modelu kvasca (*Saccharomyces cerevisiae*) opisuju prione kao evolucijske čimbenike i daju dokaze o utjecaju priona na vijabilnost jedinki u nepovoljnim uvjetima. U ovom radu opisana je građa i djelovanje priona te prionske bolesti životinja i ljudi.

**Ključne riječi:** prioni, amiloidni plakovi, subvirusne čestice, spongiformna encefalopatija

Rad je pohranjen u knjižnici Prirodoslovno-matematičkog fakulteta, Sveučilišta u Splitu

**Rad sadrži:** 24 stranice, 6 slika. Izvornik je na hrvatskom jeziku.

**Mentor:** izv. prof. dr. sc. Elma Vuko, PMF Split

**Ocjenjivači:** izv. prof. dr. sc. Elma Vuko, PMF, Split

izv. prof. dr. sc. Sanja Puljas, PMF, Split

izv. prof. dr. sc. Željana Fredotović, PMF, Split

**Rad prihvaćen:** rujan, 2023.

University of Split  
Faculty of Science  
Department of Biology  
Ruđera Boškovića 33, 21000 Split, Croatia

## Prions and Prion Diseases

Sara Kozlica

Prions (proteinaceous infectious particles) are small, infectious protein particles that cause transmissible spongiform encephalopathies (TSE), incurable diseases that primarily attack the nervous system by creating amyloid plaques. The name prions was introduced by Stanley Prusiner, a scientist who in 1982 proposed the first hypothesis about prions. The prion theory is based on the discovery of an infection-associated low molecular weight protein in TSE tissues. Several lines of evidence suggest that glycosylated protease-resistant protein (PrP) is a component of the infectious particle. PrP<sup>Sc</sup> (from *scrapie*), a tissue-destroying protein, has 30%  $\alpha$ -helix and 43%  $\beta$ -pleated sheet, in contrast to the cellular PrP<sup>C</sup> (from cellular), which has 43%  $\alpha$ -helix. Prions are thought to convert normal proteins into infectious agents and to convert healthy molecules into diseased ones. Studies on the model organism *Saccharomyces cerevisiae* describe prions as evolutionary factors in yeast cells and provide evidence for the influence of prions on the viability of individuals under unfavorable conditions. This paper describes the structure and action of prions and prion diseases in animals and humans.

**Key words:** prions, amyloid plaques, subviral particles, spongiform encephalopathy

Thesis deposited in library of Faculty of Science, University of Split

**Thesis consist of:** 24 pages, 6 pictures. Original language is Croatian.

**Supervisor:** Ph.D. Elma Vuko, *Associate Professor of Faculty of Science, University of Split*

**Reviewers:**

Ph.D. Elma Vuko, *Associate Professor of Faculty of Science, University of Split*

Ph.D. Sanja Puljas, *Associate Professor of Faculty of Science, University of Split*

Ph.D. Željana Fredotović, *Associate Professor of Faculty of Science, University of Split*

**Thesis accepted:** September, 2023

# **IZJAVA**

kojom izjavljujem s punom materijalnom i moralnom odgovornošću da sam završni rad s naslovom

## **PRIONI I PRIONSKE BOLESTI**

izvodila samostalno pod voditeljstvom izv. prof. dr. sc. Elme Vuko. U radu sam koristila literaturu koja je navedena na kraju završnog rada. Tuđe spoznaje, stavove, zaključke, teorije i zakonitosti koje sam izravno ili parafrazirajući navela u završnom radu na uobičajen, standardan način sam citirala.

Studentica: Sara Kozlica

# SADRŽAJ

1. UVOD .....	1
2. RAZRADA TEME .....	2
2.1. OTKRIĆE PRIONA.....	2
2.2. GRAĐA PRIONA.....	4
2.3. MEHANIZAM REPLIKACIJE PRIONA .....	6
2.4. ULOGA PRIONA U EVOLUCIJI KVASACA.....	8
2.5. BOLESTI UZROKOVANE PRIONIMA.....	12
2.5.1. Kronična razorna bolest sobova .....	12
2.5.2. Goveđa spongiformna encefalopatija .....	13
2.5.3. Kuru.....	14
2.5.4. Fatalna obiteljska nesanica (FFI).....	14
2.5.5. Gerstmann-Sträussler-Scheinker sindrom (GSS) .....	15
2.5.6. Genetska Creutzfeldt-Jakobova bolest (gCJD).....	15
2.5.7. Sporadična Creutzfeldt-Jakobova bolest (sCJD).....	16
2.5.8. Varijantna Creutzfeldt-Jakobova bolest (vCJD).....	17
2.5.9. Jatrogena Creutzfeldt-Jakobova bolest (iCJD).....	18
2.5.10. Liječenje i prevencija .....	19
3. ZAKLJUČAK .....	21
LITERATURA .....	22



# 1. UVOD

Prionske bolesti su prenosive, progresivne i neizbježno smrtonosne neurodegenerativne bolesti koje se povezuju s pogrešnim savijanjem i agregacijom staničnog prionskog proteina, PrP<sup>C</sup>. Javljaju se kod velikog broja različitih vrsta sisavaca, uključujući i ljude. Prioni (engl. *proteinaceous infectious particles*) su transmisivne subvirusne čestice koje ne sadrže niti jednu vrstu nukleinske kiseline nego su sastavljene isključivo od modificirane verzije normalnog oblika proteina - PrP<sup>Sc</sup>. Normalni, stanični PrP<sup>C</sup> se procesom posttranslacijske modifikacije pretvara u infektivni oblik PrP<sup>Sc</sup> za kojeg je karakterističan visok udio  $\beta$ -nabranih ploča umjesto  $\alpha$ -uzvojnica. Infektivna izoforma PrP<sup>Sc</sup>, ili jednostavno prion, sposobna je pretvoriti normalne PrP<sup>C</sup> proteine u infektivnu izoformu promjenom njihove konformacije ili oblika; ovo zauzvrat mijenja način na koji se proteini međusobno povezuju. Agregacije ovih abnormalnih izoforma tvore visoko strukturirana amiloidna vlakna koja se nakupljaju i tvore plakove. Prionske bolesti mogu se manifestirati kao genetski, zarazni ili sporadični poremećaji, a svi uključuju modifikaciju prionskog proteina (PrP). Goveda spongiformna encefalopatija (BSE), *scrapie* ovaca i Creutzfeldt-Jakobova bolest (CJD) su među najznačajnijim prionskim bolestima. Stečene prionske bolesti čine samo 5% slučajeva ljudskih prionskih bolesti i uključuju kuru, jatrogeni CJD i novu varijantu oblika CJD-a koji se prenio na ljude konzumiranjem mesa, a posebno mozga prethodno zaražene stoke. Među glavnim simptomima bolesti javljaju se različiti napadaji, značajan gubitak pamćenja i psihoze, a sve kao posljedica progresivnog gubitka funkcije, propadanja i odumiranja neurona i živčanog tkiva [1]. Novija istraživanja se također bave ispitivanjem moguće uloge priona u evoluciji različitih vrsta kvasaca, od kojih je najproučavaniji *Saccharomyces cerevisiae*. Cilj je na modelu pekarskog kvasca prikazati i objasniti način na koji bi prioni prisutni u stanicama bili zaslužni za evolucijske procese i poboljšanje vijabilnosti jedinki. Danas se sve više znanstvenika fokusira na korištenje divljih sojeva kvasca, a ne laboratorijsko uzgojenih, kako bi se potvrdila hipoteza da se prionski oblici kao takvi pojavljuju i u prirodi.

## 2. RAZRADA TEME

### 2.1. OTKRICE PRIONA

Dugo se godina smatralo da prionske bolesti uzrokuju tzv. 'sporodjelujući' virusi. Te su bolesti često nazivane sporim virusnim bolestima, transmisivnim spongiformnim encefalopatijama ili nekonvencionalnim virusnim bolestima. Značajan trud je uložen u traženje "*scrapie* virusa" no ništa slično tome nije pronađeno. Ova situacija je znanstvenicima predstavljala ogromnu zagonetku pa je vremenom došlo do nastanka mnogih hipoteza o sastavu i građi virusa uzročnika [2].

Još u 18. stoljeću proteini su opisani kao posebne biološke molekule te je primjećen njihov značaj u različitim staničnim procesima. U isto vrijeme španjolski stočari opažaju abnormalno ponašanje nekolicine merino ovaca koje su razvile simptome do tada nerazjašnjene bolesti, koja je izazivala intenzivan svrbež i tjerala ovce da se 'stružu' (engl. *to scrape*) o ogradu. Ova bolest, koja će kasnije biti nazvana *scrapie*, se smatra jednom od prvih u novoj klasi neurodegenerativnih poremećaja poznatih kao transmisivne spongiformne encefalopatije. Laboratorijskim pokusima uspješno su inficirane stanice majmuna bolestima kuru i CJD od strane ljudskog domaćina te se značajno ubrzala potraga za virulentnim agensom koji uzrokuje prethodno spomenute bolesti te *scrapie*. Ubrzo su pronađeni dokazi o esencijalnom proteinu koji bi mogao biti izvor zaraze, ali uprkos brojnim pokušajima da se dokaže nukleinska kiselina specifična za *scrapie*, niti jedna nije pronađena pa su takva istraživanja napuštena. Prvi koji opisuje i daje naziv ovim virulentnim agensima je bio američki biokemičar i neurolog, Stanley B. Pruisner kome je za zasluge vezano uz prione uručena i Nobelova nagrada. Ubrzo nakon uvođenja koncepta priona, pronađen je protein s molekularnom težinom od 27-30 kDa u pročišćenim frakcijama koje sadrže visoku razinu *scrapie* infektivnosti. Taj protein je označen kao prionski protein 27-30 (PrP 27-30). Štapičaste strukture pronađene na dnu gradijenta su predstavljale upravo taj prionski protein 27-30, a bojanjem Kongo crvenom bojom utvrđeno je da se radi o amiloidnim agregatima. Ovim otkrićem da se naslutiti da su određene bolesti poput Alzheimerove ili Parkinsonove bolesti kod kojih dolazi do nastanka amiloidnih plakova uzrokovane upravo prionima [2].

Počevši od sredine 80-ih godina, tehnikama pročišćavanja i imunološkog bojenja, u plakovima i unutarstaničnim tijelima mozga pacijenata umrlih od neurodegenerativnih bolesti identificirani su različiti proteini. Utvrđeno je da se svaki od ovih proteina pod određenim uvjetima agregira u fibrile i stvara amiloide. Amiloidi su agregati proteina karakterizirani fibrilarnom morfologijom tipično 7-13 nm u promjeru, sekundarnom strukturom  $\beta$ -ploča i sposobnošću da se boje određenim bojama, kao što je Kongo crvena. U ljudskom tijelu amiloidi se povezuju s razvojem raznih bolesti. Utvrđeno je da amiloidne fibrile kod Alzheimerove bolesti sadrže A $\beta$  peptid koji je izrezan iz većeg proteina prekursora amiloida (APP). Također je utvrđeno da neurofibrilarni čvorovi (NFT) u mnogim neurodegenerativnim bolestima sadrže tau protein. Tau protein zajedno sa mikrotubulama tvori netopljive filamente koji se zatim nakupljaju kao neurofibrilarni čvorovi. Funkcija *tau* proteina se najčešće povezuje sa regulacijom sastavljanja i održavanja strukturne stabilnosti mikrotubula. Ti isti proteini također su identificirani kada su genetske studije otkrile da specifični mutirani geni uzrokuju obiteljske oblike neurodegeneracije. Naknadno se pokazalo da ekspresija ovih mutiranih gena u transgeničnim miševima objedinjuje mnoge aspekte ljudskih bolesti [2].

## 2.2. GRAĐA PRIONA

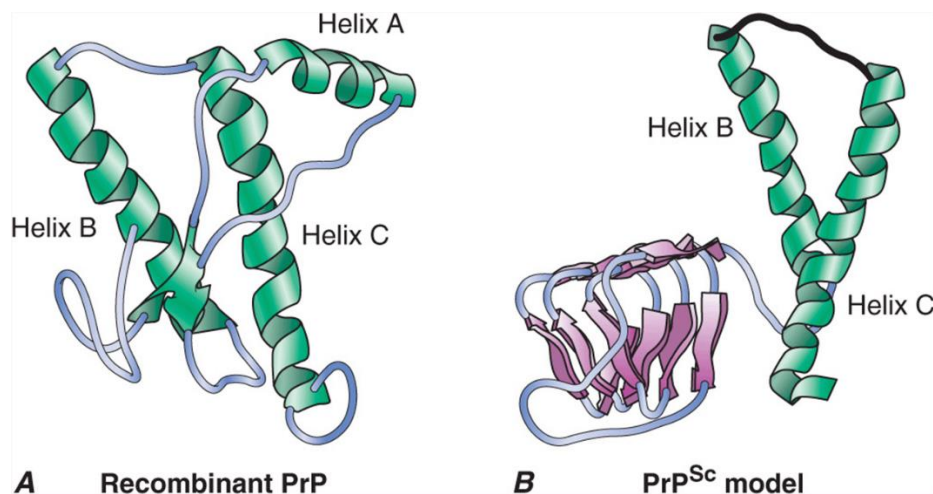
PrP<sup>C</sup> je normalni stanični protein koji je eksprimiran u neuronima, glija stanicama mozga i leđne moždine, kao i u nekolicini perifernih tkiva i leukocitima. PrP mRNA se može detektirati u mozgu miša i kokoši u ranim stadijima embriogeneze, a njena razina se povećava razvitkom jedinke. Sama funkcija normalnog PrP nije upotpunosti razjašnjena, no pretpostavlja se da igra ulogu u različitim staničnim procesima poput zaštite od oksidativnog stresa i apoptoze, prepoznavanja i vezivanja raznih liganada, transmembranskog signaliziranja i stvaranja i održavanja sinapsi. Definiranje fiziološke uloge PrP<sup>C</sup> može biti korisno za razumijevanje stanja određene bolesti budući da protein neće moći obavljati svoju normalnu funkciju jednom kada se pretvori u izoformu PrP<sup>Sc</sup>. Miševi koji imaju poremećen endogeni PrP gen ne pokazuju znatne anatomske ili razvojne nedostatke, međutim u mnogim istraživanjima je zabilježeno da se javljaju strukturne abnormalnosti u hipokampusu, značajan gubitak Purkinjeovih stanica malog mozga te promjene u cirkadijalnom ritmu i obrascu spavanja [3].

PrP gen kod sisavaca kodira protein od približno 253 aminokiseline koji sadrži nekoliko različitih domena, uključujući N-terminalni signalni peptid, niz od pet oktapeptidnih ponavljanja bogatih prolinom i glicinom, središnji hidrofobni segment koji je visoko očuvan i C-terminalnu hidrofobnu regiju koja je signal za dodavanje glikozil-fosfatidilinozitolnog (GPI) sidra. C-terminalna regija je uređena regija koja sadrži dva mjesta za glikozilaciju. Poput drugih membranskih proteina, PrP<sup>C</sup> se sintetizira u hrapavom endoplazmatskom retikulumu (ER) i prolazi kroz Golgijev aparat na svom putu do površine stanice. Tijekom svoje biosinteze, PrP<sup>C</sup> je podložan nekoliko vrsta posttranslacijskih modifikacija, uključujući cijepanje N-terminalnog signalnog peptida, dodavanje N-povezanih oligosaharidnih lanaca na dva mjesta, stvaranje jedne disulfidne veze i pričvršćivanje GPI sidra. Molekula prionskog proteina ima petlju kao rezultat disulfidne veze. Petlja sadrži dva asparaginska ostatka, od kojih jedan ili oba mogu biti N-glikozilirani tako da protein postoji u tri gliko-forme (neglikozilirani, monoglikozilirani i diglikozilirani); šećeri vezani za protein mogu biti različitih vrsta [3].

Konformacija većine normalnih proteina (PrP<sup>C</sup>) je  $\alpha$ -uzvojnica. Kada se protein pogrešno savije, dolazi do smanjenja prisutnosti strukture  $\alpha$ -uzvojnica, a povećanja  $\beta$ -nabranih ploča. Ova promjena u konformaciji je popraćena promjenama u svojstvima proteina, uključujući osjetljivost na razgradnju proteazom K. Normalni protein se u potpunosti razgrađuje, ali krivo presavijeni protein je u velikoj mjeri otporan na enzim koji je u stanju

razgraditi samo 90-100 aminokiselinskih ostataka s N-terminusa dok preostali dio proteina od 27-30 kDa ostaje netaknut. Pogrešno savijeni oblik proteina, PrP<sup>Sc</sup>, zahvaljujući vodikovim vezama između aminokiselina, raznim hidrofobnim interakcijama i Van der Waalsovima silama, ima dosta stabilniju strukturu nego normalni oblik. Pogrešno savijanje također čini protein netopljivim u neionskim deterdžentima. U tkivima zaraženim prionima, molekule krivo smotanog proteina agregiraju se kao fibrile, štapići ili drugi oblici, ovisno o domaćinu i soju priona [3].

U literaturi, normalni oblik proteina se najčešće označava kao PrP<sup>C</sup> (prionski protein; c=cell, odnosno stanica). Infektivni oblik je dobio naziv po *scrapie* bolesti i označava se kao PrP<sup>Sc</sup> (Sc=*scrapie*) (slika 1). Iako PrP<sup>C</sup> i PrP<sup>Sc</sup> oblici imaju identičan aminokiselinski slijed, razlike u njihovoj sekundarnoj strukturi odnosno konformaciji su glavni povod za dublja istraživanja i objašnjenje mehanizma replikacije priona na molekularnoj razini [3].



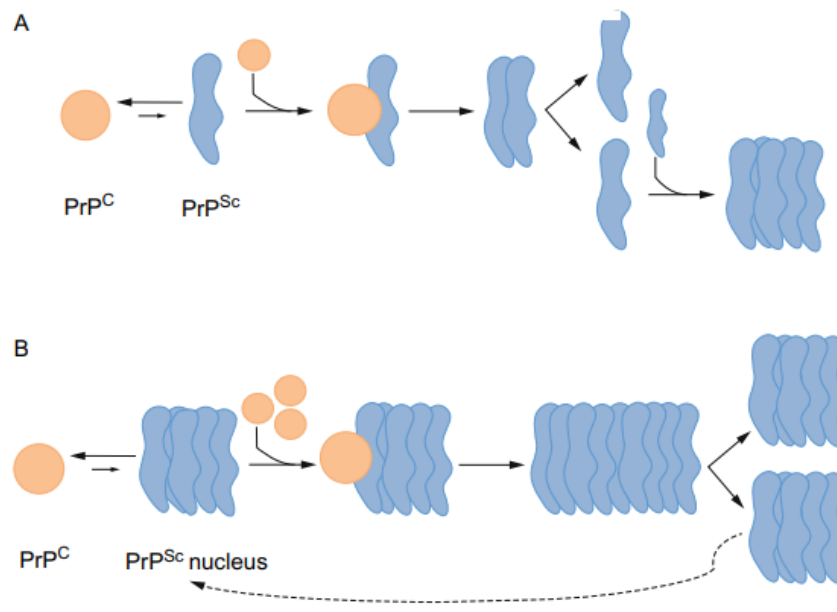
Slika 1. Usporedba građe normalnog (A) i infektivnog (B) oblika priona (web 1)

## 2.3. MEHANIZAM REPLIKACIJE PRIONA

Točan mehanizam replikacije priona do danas nije u potpunosti razjašnjen, ali je općeprihvaćeno mišljenje da do nastanka priona dolazi pogrešnim savijanjem normalnih proteina. Pogreške u savijanju proteina mogu se dogoditi povremeno i uzrokovane su starenjem, stresom ili mutacijama te nastaju amiloidni agregati čija sekundarna struktura obiluje  $\beta$ -nabranim pločama. Ovi agregati mogu proliferirati kroz procese nukleacije i fragmentacije, a najmanja komponenta agregata koja je sposobna za to poznata je kao propagon. Jedinstvena klasa šaperona nazvana CLIPS regulira odgovarajuće savijanje svježih stvorenih proteina tijekom procesa nukleacije i fragmentacije, ali također uzrokuje pogrešno savijanje proteina kao rezultat brojnih događaja. Proces savijanja mogu ponovno pokrenuti krivo savijeni proteini ili se mogu konsolidirati i stvoriti oligomere s višim postotkom  $\beta$ -savijenih struktura ili mogu biti uništeni. Takvi se oligomeri dalje agregiraju kako bi proizveli amiloidna vlakna i protofibrile koji su napravljeni od nepravilno i ispravno savijenih proteina i organizirane su strukture. Amiloidni agregati se često nalaze na površini proteina te dolaze u direktan kontakt sa citoplazmom. U tom slučaju  $\beta$ -nabrane ploče imaju mogućnost da druge proteine native konformacije preobrate u one prionske konformacije na način da većina  $\alpha$ -uzvojnica poprimi oblik  $\beta$ -ploča [4].

Prusiner je predložio prvi model za objašnjenje replikacije priona, poznat kao „model konverzije uz pomoć predloška“. Uz pretpostavku da je spontana pretvorba  $\text{PrP}^{\text{C}}$  u  $\text{PrP}^{\text{Sc}}$  termodinamički nepovoljna, prema ovom modelu molekula  $\text{PrP}^{\text{Sc}}$  tvori heterodimer s molekulom  $\text{PrP}^{\text{C}}$ , pomažući njeno ponovno savijanje. Snažna energetska barijera između dva stanja je prekinuta, a  $\text{PrP}^{\text{C}}$  se pretvara u molekulu  $\text{PrP}^{\text{Sc}}$ . Obje molekule sada mogu poslužiti kao predlošci za eksponencijalno stvaranje novih  $\text{PrP}^{\text{C}}$  molekula. Na temelju ovog modela pretpostavlja se da postoji određena molekula koja služi kao kofaktor u nastajanju  $\text{PrP}^{\text{Sc}}$  oblika. Ta molekula znanstvenicima poznatija kao stanični protein X funkcionira kao šaperon za  $\text{PrP}^{\text{C}}$  i pomaže u njegovoj transformaciji u  $\text{PrP}^{\text{Sc}}$ . Protein X, specifičan za svaku vrstu, bio bi zadužen za sprječavanje širenja prionske bolesti na nove domaćine. Trenutačno, identitet proteina X nije poznat, a stvaranje *de novo* infektivnih priona kroz PMCA tehniku (engl. *protein misfolding cyclic amplification technique*) rekombinantnog  $\text{PrP}^{\text{C}}$  u odsutnosti drugih proteina ne podržava postojanje proteina X [4].

Drugi model se naziva „model nukleirane polimerizacije“ i predložili su ga Jarret i Lansbury. Ovaj model pretpostavlja da su PrP<sup>Sc</sup> i PrP<sup>C</sup> u jednostavnoj ravnoteži pri čemu je PrP<sup>C</sup> dominantna izoforma i eventualno formirane molekule PrP<sup>Sc</sup> stvarale bi jezgru. Formiranje ove strukture nije termodinamički povoljno. Nakon što se jezgra formira, ona djeluje kao sjeme, regrutira i transformira sve više i više PrP<sup>C</sup> molekula na termodinamički optimalniji način, konačno stvarajući amiloidne agregate (slika 2) [4].



Slika 2. Dva modela replikacije priona; A) „Model pretvorbe uz pomoć predloška“ (engl. *template-assisted conversion model*) - PrP<sup>Sc</sup> i PrP<sup>C</sup> tvore heterodimer koji presavijanjem daje dvije molekule PrP<sup>Sc</sup>; B) „Model nukleirane polimerizacije“ (engl. *nucleated-polymerization model*) – PrP<sup>C</sup> je dominantna izoforma, PrP<sup>Sc</sup> formiraju jezgru koja djeluje kao sjeme koje regrutira ostale PrP<sup>C</sup> molekule stvarajući amiloidne agregate (web 2)

## 2.4. ULOGA PRIONA U EVOLUCIJI KVASACA

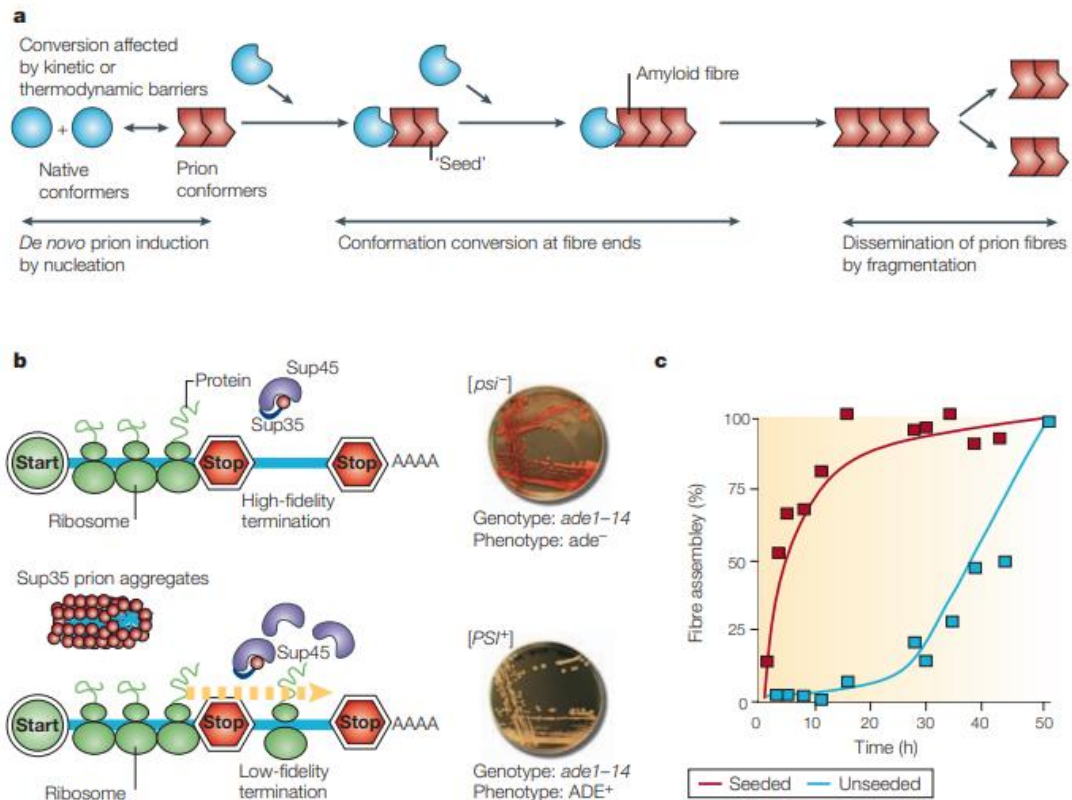
Kvasac je jednostanična gljiva i modelni organizam vrlo detaljno proučavan u fiziologiji, genetici i molekularnoj biologiji jer je služio kao model za razumijevanje drugih mikroorganizama. Prije stotinjak godina otkriven je kvasac i prepoznato je najmanje 1500 vrsta kvasaca. Klasificirani su u dvije skupine, a to su konvencionalni (*Saccharomyces cerevisiae* i blisko srodne vrste) i nekonvencionalni kvasci. *Saccharomyces cerevisiae* je mikroorganizam koji se najviše koristi u komercijalne svrhe i prvi eukariot sa širokom bazom podataka o sastavu svog genoma. Smatra se idealnim organizmom za uzgoj stanica zbog kratkog razdoblja replikacije, visoke učinkovitosti sporulacije, niske patogeneze i male veličine genoma. Zbog svoje tolerancije na različite tipova stresa, poput niskog pH, osmotskog stresa, visokih razina etanola i stresa hranjivih tvari te svog fermentativnog potencijala, *S. cerevisiae* može dominirati procesom fermentacije. Svi ovi čimbenici učinili su ga učinkovitim istraživačkim mikroorganizmom i pozicionirali ga kao model za razna znanstvena otkrića [5].

Godine 1965. Brian Cox otkrio je nekromosomski gen koji je nazvao [PSI+], a koji je povećao učinkovitost čitanja terminacijskih kodona translacije. Ubrzo nakon toga, Francois Lacroute pronašao je još jedan nekromosomski genetski element nazvan [URE3] koji je omogućio stanicama da preuzmu ureidosukcinat (intermedijer u biosintezi pirimidina) kako bi se omogućio rast mutanta *ura2* koji je bio blokiran u proizvodnji ovog intermedijera. Pažljive studije ovih sustava dovele su do pretpostavke da su [URE3] i [PSI+] prioni proteina *Ure2* i *Sup35* [6].

Protein *Sup35* otkriven je kod vrste *S. cerevisiae*. Manifestira se kao [PSI+]-fenotip kada je u obliku priona. *Sup35* je temperaturno ovisan protein na način da je prionski oblik stabilniji pri nižim nego pri višim temperaturama. Bitna činjenica je da manje stabilni prioni stvaraju jači [PSI+]-fenotip što se može objasniti činjenicom da se pri porastu temperature stvara više prionskih centara što može ubrzati proizvodnju prionskog fenotipa u potomstvu kvasca. *Sup35* je jedan od elemenata koji imaju ulogu u terminaciji translacije. Dok *Sup45* identificira STOP kodon, *Sup35* koristi hidrolizu GTP-a za oslobađanje polipeptidnog lanca. U uvjetima kada se u stanici nalazi smanjen broj *Sup53* proteina, a povećana količina njegove prionske konformacije [PSI+], također se povećava i stopa prolaska kroz stop-kodon pa svi polipeptidi sintetizirani na taj način imaju produžetke na karboksilnom kraju (slika 3). Različitim istraživanjima znanstvenici su došli do zaključka da dva fenotipa [PSI+] i [psi-] pokazuju

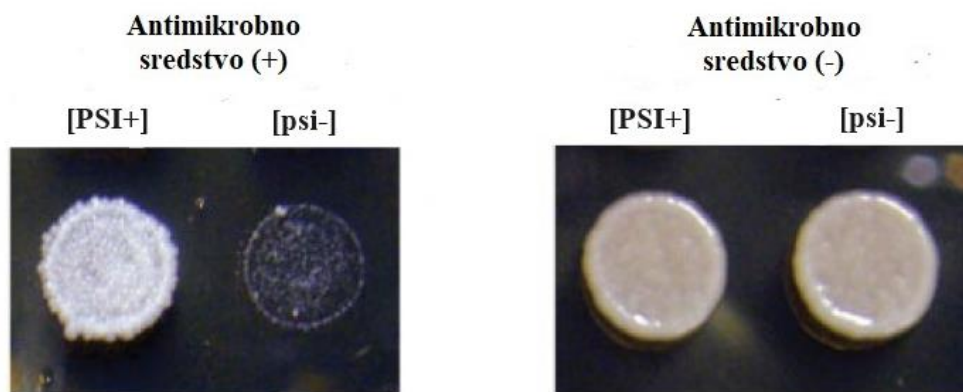


različitu stopu preživljavanja kada su izloženi istim stresnim uvjetima. Zanimljivo je to da je u nekim slučajevima prionski fenotip kvasca, [PSI<sup>+</sup>], pokazao bolju izdržljivost i samim tim imao veću stopu preživljavanja unatoč tome što se smatralo da prionski oblici smanjuju varijabilnost jedinki [6].



Slika 3. a) *De novo* proces formiranja priona koji ovisi o kinetičkim i termodinamičkim parametrima citosola stanice; b) Dva različita fenotipa vrste *S. cerevisiae*; kod [psi<sup>-</sup>] fenotipa, kompleks Sup35 i Sup45 prepoznaju stop kodone i vrše terminaciju translacije. Stanice koje nose preuranjeni stop kodon u svom ADE1 genu ne stvaraju funkcionalni Ade1 i nakupljaju crveni metabolit. U drugom slučaju, protein Sup35 se nalazi u obliku prionskih amiloidnih vlakana i ne sudjeluje u terminaciji translacije. Posljedično, neki ribosomi čitaju zaustavni kodon i proizvodi se funkcionalni Ade1. [PSI<sup>+</sup>] stanice stoga proizvode bijele kolonije i mogu rasti na mediju s nedostatkom adenina. c) Usporedba *de novo* formiranja amiloidnih agregata - karakteristična log faza (plavo) i stanica sa prehodno unesenim prionskim agregatima – izostanak log faze (crvena krivulja) (web 3).

Samostalne konformacije prionskih proteina kvasca djeluju kao epigenetski elementi nasljeđivanja. Prioni kvasca mogu djelovati kao mehanizam za stvaranje određenih nasljednih fenotipskih raznolikosti koje bi potaknule i poboljšale stopu preživljavanja u fluktuirajućim uvjetima te evoluciju novih osobina. Niz novonastalih hipoteza predlaže da [PSI+] pruža koristan mehanizam za izbjegavanje rizika te povećanje preživljavanja u fluktuirajućim okruženjima: do vremena kada kolonija kvasca dosegne značajnu veličinu, pojavit će se nekoliko [PSI+] stanica, izražavajući nasljedne nove osobine. Ako je osobina štetna, samo nekoliko jedinki u velikoj populaciji će biti izgubljeno. Međutim, ako je to povoljno, tih nekoliko stanica moglo bi osigurati preživljavanje u uvjetima u kojima bi populacija inače nestala (slika 4). [PSI+] se također sporadično gubi. To jamči da će [psi-] stanice nastati u [PSI+] kolonijama, pružajući komplementarnu prednost u preživljavanju [7].



Slika 4. Djelovanje prionskog oblika proteina na mogućnost preživljavanja kvasca uzgojenog na podlozi u prisustvu i bez prisustva antimikrobnog sredstva (web 4)

Uz Sup35, nekolicina drugih proteina mogu tvoriti prione koji se prenose kroz aktivnost cijepanja priona uz pomoć šaperona Hsp104 u laboratorijskim kvascima. Hsp104 je molekularni stroj koji razdvaja prionska vlakna, omogućujući da stanice kćeri vjerno naslijede replicirane predloške priona. Ovi prioni su obogaćeni transkripcijskim faktorima i proteinima koji obrađuju RNA koji su dobro pozicionirani da transduciraju genetsku varijaciju u fenotipski učinak. Stoga bi i oni mogli omogućiti nasljeđivanje različitih bioloških osobina, povećavajući opstanak u promjenjivim okruženjima. U normalnim okolnostima, prioni se pojavljuju samo u jednoj od milijun stanica kvasca. Kada okolina postane stresna, prioni se počinju pojavljivati u

višoj stopi. U jednom istraživanju, znanstvenici su pronašli dokaz prisutnosti [PSI+] u 10 divljih sojeva; još jedan dobro poznati prion, [MOT3+], pronađen je u šest divljih sojeva. Kako bi testirali nepoznate prionske elemente, izložili su sojeve kemikaliji koja prebacuje [PSI+] i [MOT3+] iz njihovih prionskih stanja i otkrili da je 255 sojeva pokazalo nove osobine nakon ovog tretmana. Približno 40% tih svojstava pokazalo se korisnim za rast u desetak različitih testiranih uvjeta okoline, uključujući kiselu okolinu ili u prisutnosti lijekova protiv gljivica ili visokih razina etanola. Međutim, koliko god ove ideje o prionima kao korisnim agensima koji potiču evoluciju bile atraktivne i napredne, još uvijek su kontroverzne, najčešće zbog nedovoljnog broja istraživanja provedenih na divljim sojevima [8].

## 2.5. BOLESTI UZROKOVANE PRIONIMA

Transmisivne spongiformne encefalopatije (TSE) ili prionske bolesti su skupina rijetkih progresivnih neurodegenerativnih poremećaja mozga koji pogađaju i ljude i životinje. Imaju duga razdoblja inkubacije, brzo napreduju nakon što se razviju simptomi i uvijek su smrtonosni.

Ljudske prionske bolesti javljaju se kao infektivni, genetski i sporadični poremećaji. Ovaj neviđeni spektar manifestacija bolesti zahtijevao je objašnjenje novog patogenog mehanizma. Humanu prionsku bolest treba razmotriti kod svakog bolesnika kod kojeg se razvije progresivno subakutno ili kronično smanjenje kognitivnih ili motoričkih funkcija. Tipično su to odrasli između 40 i 80 godina, pacijenti koji često pokazuju kliničke značajke korisne u postavljanju dijagnoze prionske bolesti, osobito sporadične CJD (engl. *Creutzfeld-Jakob Disease*). Mlada dob određenih pacijenata koji su umrli od varijantne Creutzfeld-Jakobove bolesti u Britaniji i Francuskoj otvorila je mogućnost da su ti pojedinci bili zaraženi goveđim prionima koji su kontaminirali goveđe proizvode [9].

Sporadični oblici prionske bolesti obuhvaćaju većinu slučajeva CJD-a i nekolicinu slučajeva Gerstmann-Sträussler-Scheinker sindroma (GSS). Nije poznato kako prioni nastaju kod pacijenata sa sporadičnim oblicima; hipoteze uključuju horizontalni prijenos s ljudi ili životinja, somatsku mutaciju ORF-a (engl. *open reading frame*) PrP gena i spontanu konverziju PrP<sup>C</sup> u PrP<sup>Sc</sup>. Brojni pokušaji da se uspostavi veza između sporadičnog CJD-a i već postojeće prionske bolesti kod životinja ili ljudi bili su bezuspješni [9].

### 2.5.1. Kronična razorna bolest sobova

Kronična razorna bolest sobova ili engl. *chronic wasting disease* (CWD) vrlo je rasprostranjena prionska bolest koja pogađa razne vrste iz obitelji *Cervidae* i opisana je u Sjevernoj Americi, Južnoj Koreji i Skandinaviji. CWD je jedina prionska bolest koja pogađa i divlje i uzgojene životinje, a ističe se po tome što je vrlo zarazna, raširena i postojana u okolišu, što olakšava prijenos bolesti i otežava njezinu kontrolu u populaciji jelena. Neuropatologija oboljelih jelena uključuje spongiformnu degeneraciju, gubitak neurona, gliozu i nakupljanje PrP<sup>CWD</sup>. Varijacije u prezentaciji bolesti među jelenima, uključujući razdoblje preživljavanja, distribuciju moždanih lezija i svojstva PrP<sup>CWD</sup>, javljaju se u skladu s različitim sojevima priona.

U kontroliranim uvjetima, razdoblje inkubacije (tj. vrijeme do pojave kliničkih znakova) eksperimentalno zaraženih, oralno doziranih bjelorepih jelena i sobova kretalo se između 1,5 i 6 godina nakon izlaganja. Tijekom asimptomatskog razdoblja, divlji jeleni i jeleni zaraženi u zatočeništvu doprinose širenju CWD-a jer akumuliraju značajne količine infektivnog priona po cijelom tijelu koji se izlučuje putem sekreta i izlučevina u okoliš. Početna klinička obilježja često su suptilna i prolazna. Najistaknutije kliničke značajke uključuju promjene u ponašanju i progresivno pogoršanje tjelesnog stanja (tj. gubitak težine) koje se pogoršavaju tijekom nekoliko tjedana do mjeseci. Također su prisutni izmijenjeni položaji tijela sa spuštеноm glavom i ušima, savijanje leđa i ataksija. Patološka obilježja CWD-a u jelena nalikuju onima uočenim kod ovaca sa *scrapieom* i drugim prionskim bolestima dobivenim gutanjem kontaminiranog materijala. U oralno zaraženih jelena, PrP<sup>CWD</sup> prolazi intestinalnu epitelnu barijeru i može se otkriti, unutar prvih 30-42 dana nakon izlaganja, u limfoidnom tkivu, krajnicima i retrofaringealnim limfnim čvorovima. Modificirani enterociti, zvani M stanice, sudjeluju u preuzimanju priona, ugrađujući ga u subepitelno limfoidno tkivo. Patološki prionski protein se zatim akumulira i replicira u folikularnim dendritskim stanicama. Do danas nije zabilježen niti jedan slučaj prijenosa zaraze sa jelena na ljude [10].

### 2.5.2. Goveđa spongiformna encefalopatija

Goveđa spongiformna encefalopatija (engl. *bovine spongiform encephalopathy*) smrtonosna je neurodegenerativna bolest goveda koja spada u transmisivne spongiformne encefalopatije (TSE). Epidemija bolesti u Ujedinjenom Kraljevstvu, koja je započela 1986. godine i zahvatila gotovo 200 000 goveda, jenjava, ali za sobom ostavlja izbijanje Creutzfeldt-Jakobove bolesti kod ljudi koja je najvjerojatnije posljedica konzumacija goveđih proizvoda kontaminiranih tkivom središnjeg živčanog sustava. Iako se prenosivi prioni načelno ne mogu razmnožavati u/na hrani koja se sastoji od mrtvih organizama, mogu proliferirati u živim životinjama domaćinima. Takve jedinstvene karakteristike, koje se razlikuju od onih kod mikrobnih patogena i otrovnih kemikalija koje kontaminiraju hranu, mogu zahtijevati posebne mjere za smanjenje rizika koje se razlikuju od onih koje se koriste za druge opasnosti za sigurnost hrane [11].

### 2.5.3. Kuru

Kuru je prva ljudska prionska bolest za koju se pokazalo da se prenosi na čimpanze intracerebralnim uvođenjem moždanog homogenata oboljenih pacijenata. Kuru se javljao isključivo u plemenu Fore smještenom na Istočnom gorju Papue Nove Gvineje i susjednih naroda s kojima su se međusobno vjenčavali. Među tim grupama postojala je praksa konzumiranja mrtvih tijela svojih rođaka u znak poštovanja i žalosti (ritualistički kanibalizam). Žene i mala djeca oba spola bili su više izloženi riziku oboljenja zbog konzumacije mozga i utrobe nego odrasli muškarci koji su češće konzumirali mišiće. U svom vrhuncu, kuru epidemija je bila smrtonosna za 1-2% stanovništva tih plemena [1].

Uz zabranu ritualnog kanibalizma sredinom 1950-ih godina koju su uvele australske vlasti, učestalost bolesti počela je postojano opadati. Kuru je uveden u zapadnu medicinu kasnih 1950-ih iako je prvi slučaj kurua primijećen već oko 1920. godine. Znanstvenici su vrlo brzo uspjeli dokazati ritualni kanibalizam kao etiologiju bolesti. Kasnijim eksperimentima na primatima otkriveno je da je bolest visoko zarazna te da se može svrstati u skupinu prionskih bolesti sličnih *scrapie* bolesti ovaca [12].

### 2.5.4. Fatalna obiteljska nesanica (FFI)

Fatalna obiteljska nesanica spada u jedan od rjeđih oblika genetskih prionskih bolesti, a povezuje se sa točkastom mutacijom PRNP gena, D178N sa cis kodonom 129M. Prvi simptomi bolesti se najčešće javljaju u kasnim četrdesetim godinama u vidu teške progresivne nesanice tokom nekoliko mjeseci praćene disautonomijom (npr. tahikardija, hiperhidroza i hiperpireksija). Motoričke i kognitivne poteškoće se uglavnom javljaju kasnije kako bolest uznapreduje. Jedan od najjačih učinaka polimorfizma kodona 129 na kliničko-patološku manifestaciju prionske bolesti vidljiv je upravo kod ove mutacije. Pacijenti kod kojih je primijećen cis-metionin na kodonu 129 će bolovati od fatalne obiteljske nesanice, dok će kod onih koji imaju valin na kodonu 129 biti prisutna Creutzfeldt-Jakobova bolest. Međutim, ni ovaj učinak polimorfizma kodona 129 na fenotip D178N nije u potpunosti potvrđen jer se obe bolesti mogu pojaviti u istoj obitelji. Znanstvenicima je poznat i sporadični oblik fatalne obiteljske nesanice (sFFI). Prvi slučaj prijavljen je 1999. godine. Pacijenti su pokazali kliničke

i neuropatološke znakove slične FFI, ali obiteljska anamneza i mutacije u PRNP-u nisu bile evidentne [13].

#### 2.5.5. Gerstmann-Sträussler-Scheinker sindrom (GSS)

Autosomalno dominantno nasljeđivanje PRNP mutacija također može dovesti do oblika ljudskog TSE-a nazvanog Gerstmann-Sträussler-Scheinkerov sindrom (GSS). Incidencija GSS-a je 1 na 100 milijuna stanovnika godišnje. GSS karakterizira rani početak, između 30. i 60. godine života i spora progresija bolesti koja traje 3,5-9,5 godina. Klinički simptomi koji mogu pokazati intragenetsku varijaciju uključuju cerebelarnu ataksiju, abnormalnosti hoda, demenciju, dizartriju (poremećaj artikulacije govora), okularnu dismetriju, znakove parkinsonizma i hiporefleksiju u donjim ekstremitetima. Međutim, hiperrefleksija nogu kod ranog tijeka bolesti nedavno je primijećena kod japanskog GSS pacijenta koji nosi mutaciju P102L. U GSS-u se također mogu primijetiti izmijenjeni ritmovi spavanja i temperature. Pokazalo se da PRNP polimorfizam M129V utječe na fenotip bolesti. Kada se poveže s alelom V129, P102L, koji je najčešći uzrok GSS-a, rezultirao je dominacijom psihijatrijskih znakova kao što su apatija i depresija [1].

#### 2.5.6. Genetska Creutzfeldt-Jakobova bolest (gCJD)

Najčešći oblici genetske prionske bolesti su obiteljske Creutzfeldt-Jakobova bolesti koje nastaju uslijed više od 20 različitih mutacija PRNP gena te spadaju u autosomalne dominantne bolesti (mutacija na tjelesnom kromosomu). Najčešće dolazi do pojave točkastih mutacija. Obiteljska Creutzfeldt-Jakobova bolest obično se manifestira kao brzo progresivna demencija s ataksijom i drugim motoričkim značajkama, s pojavom prvih simptoma obično između 30. i 55. godine života. Najčešća PRNP mutacija u svijetu, E200K, manifestira se kao obiteljska Jakob-Creutzfeldtova bolest. Postoje najmanje četiri nositelja ove mutacije, a dvije najveće skupine su sefardskog židovskog podrijetla (često libijsko-tunižanskog porijekla) i Slovaci [1].

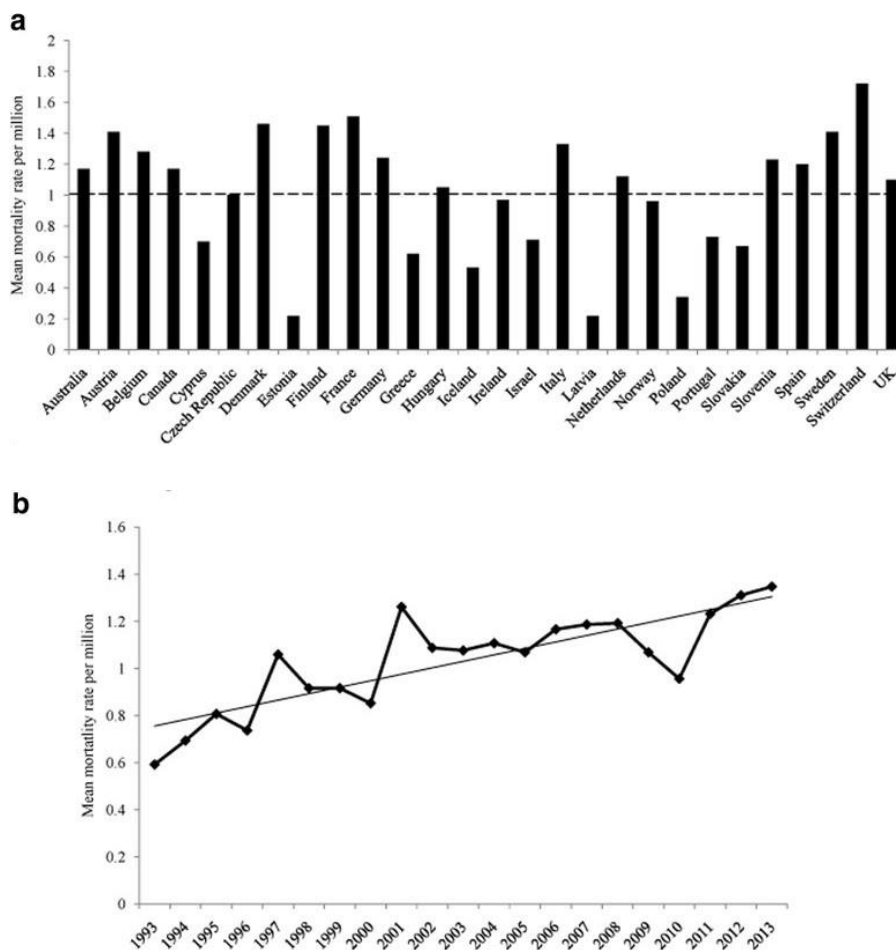
### 2.5.7. Sporadična Creutzfeldt-Jakobova bolest (sCJD)

Sporadična Creutzfeldt-Jakobova bolest čini 85% svih slučajeva CJD-a s godišnjom incidencijom u svijetu od 1-2 slučaja po milijunu stanovnika. Klinički simptomi uključuju brzo progresivnu demenciju, cerebralnu disfunkciju uključujući mišićnu nekoordinaciju i abnormalnosti vida, govora i hoda. Demencija je glavni simptom nakon kojeg slijedi spontana ili inducirana mioklonija (iznenadna kontrakcija mišića). Za vrijeme tijeka bolesti mogu se također uočiti simptomi disfunkcije refleksa, tremori te promjene u ponašanju s agitacijom, konfuzijom i depresijom. Na kraju tijeka bolesti većina bolesnika prelazi u stanje akinetičkog mutizma (ne reaguju na vanjske podražaje) [1].

Prisutnost spongiformnih promjena i oskudna distribucija PrP<sup>Sc</sup> u središnjem živčanom sustavu bolesnika s CJD obilježje su neuropatologije bolesti. U 5-10% slučajeva mogu se uočiti i naslage amiloidnih plakova. Na kliničko-patološke i molekularne fenotipove sCJD-a uvelike utječu varijacije PRNP gena. Polimorfizmi PRNP u regulacijskim i kodirajućim sekvencama povezani su sa predispozicijom za razvoj bolesti. Homozigotnost kod polimorfizma M129V jak je faktor rizika za razvoj sporadične CJD. U Japanu je homozigotnost na drugom PRNP polimorfizmu E219K također faktor rizika za razvoj sCJD-a. E219K je pronađen samo u azijskim i pacifičkim populacijama koje su više homozigotne za metionin na kodonu 129 u usporedbi sa zapadnim populacijama [1].

Međunarodno istraživanje o epidemiološkim karakteristikama sporadičnog oblika CJD-a koje je uključivalo 3720 slučajeva sCJD-a iz devet europskih zemalja, zajedno sa Australijom i Kanadom, otkrilo je da je ukupna godišnja stopa smrtnosti od sCJD-a 1,39 na milijun. U Japanu su stope smrtnosti porasle od 1979. do 2004., s godišnjom stopom smrtnosti od 1,48 na milijun u 2004. Kliničko prepoznavanje CJD-a i poduzimanje nacionalnog nadzora CJD-a utječe na stopu smrtnosti u zemlji. Prema posljednjim podacima Međunarodne mreže za nadzor CJD-a (bivši EuroCJD), zemlje s najvišom prosječnom stopom mortaliteta na milijun od sCJD-a su Francuska i Švicarska (1,51 odnosno 1,72) (slika 5) [14].



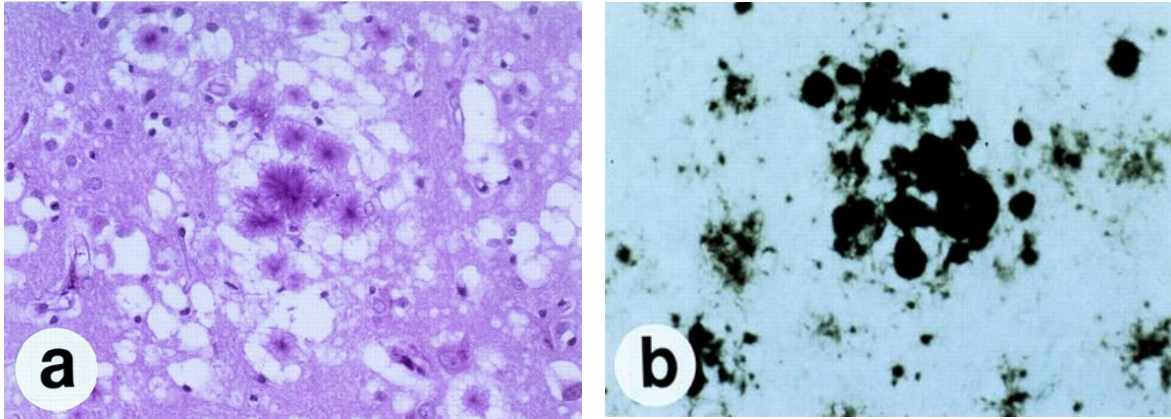


Slika 5. Srednje stope mortaliteta na milijun stanovnika od sCJD-a prema podacima Međunarodne mreže za nadzor CJD-a od 1993. do 2013 (web 5)

### 2.5.8. Varijantna Creutzfeldt-Jakobova bolest (vCJD)

Varijantna Creutzfeldt-Jakobova bolest (vCJD) je podvrsta CJD koja se prvi put javlja 1996. godine u Edinburghu. Uočeno je 10 bolesnika zaraženih Creutzfeldt-Jakobovom bolesti koja se znatno razlikovala od njenog izvornog oblika. vCJD se razlikuje od sCJD-a po nekoliko različitih kriterija, uključujući sljedeće: 1) bolesnici zaraženi vCJD oblikom su bili mlađe životne dobi, uglavnom između 19 i 41 godine, sa duljim tijekom bolesti; 2) vCJD dijeli zajedničke neuropatološke značajke transmisivne spongiformne encefalopatije, ali s obilnim amiloidnim plakovima u moždanom tkivu i sa mnogo širom tkivnom distribucijom PrP<sup>Sc</sup> oblika (slika 6); i 3) sCJD ima ujednačenu svjetsku distribuciju te se ne povezuje sa slučajevima zaraze

*scrapie* bolesti dok se vCJD javlja samo u zemljama koje su prijavile goveda zaražena spongiformnom encefalopatijom [15].



Slika 6. Histopatološki prikaz vCJD inficiranog tkiva; (a) Presjek frontalnog korteksa obojen PAS (periodičnom kiselinom po Schiffu) metodom koji prikazuje nakupine plakova okružene spongiformnom degeneracijom; (b) Višestruki plakovi i amorfne naslage - PrP imunopozitivni (web 6)

#### 2.5.9. Jatrogena Creutzfeldt-Jakobova bolest (iCJD)

Creutzfeldt-Jakobova jatrogena bolest (iCJD) je vrsta prionske bolesti koja se javlja kao posljedica jatrogene infekcije (prouzrokovana medicinskim zahvatom). Najčešće uključuje zahvate poput transplatacije rožnice i *dure mater* od pacijenata prethodno zaraženih sporadičnim oblikom CJD, liječenja hormonima rasta i gonadotropinima iz hipofize leševa ili korištenje nedovoljno steriliziranih medicinskih instrumenata pri operaciji mozga. U skorije vrijeme je zabilježeno i dosta slučajeva kod kojih je infekcija izazvana krvnim produktima pacijenata sa varijantnom CJD. Prvi slučaj je zabilježen još 1974. godine gdje je pacijentu presađena rožnica iz zaraženog leša. Među svim pacijentima, kliničke značajke bile su karakteristične po tome što, za razliku od sporadičnog CJD-a, znakovi i simptomi gotovo nikada nisu uključivali demenciju [16].

## 2.5.10. Liječenje i prevencija

Specifičan lijek za bilo koju od prethodno navedenih prionskih bolesti nije dostupan. 2000.-ih godina, kemijski spojevi poput cikličkih tetra-pirola uspješno su se koristili u suzbijanju prionskih bolesti, odnosno nisu dopuštali daljnje napredovanje bolesti. Međutim, kako bi bili u potpunosti efikasni, potrebno ih je unijeti u organizam prije ili neposredno nakon infekcije prionima. Već pojavom prvih simptoma lijek nije učinkovit. Spongiformne encefalopatije su tipovi bolesti koje godinama mogu biti asimptomatske pa su ovi lijekovi jako brzo izišli iz uporabe. Novija klinička istraživanja za liječenje varijantne CJD testiraju lijekove poput kvinakrina i klorpromazina. Kvinakrin je lijek protiv malarije koji je u laboratorijskim uvjetima uspješno zaustavljao akumulaciju infektivnog proteina u uzgajanim stanicama. Istraživanja provedena na ljudima zaraženim CJD-om su pokazala da lijek ipak nije djelotvoran. Pretpostavlja se da je ovaj neuspjeh posljedica slabog prodiranja lijeka u središnji živčani sustav. Kad je kvinakrin davan genetski izmijenjenim miševima kod kojih lijekovi mogu lako prodrijeti u mozak, razine PrP<sup>Sc</sup> bile su privremeno smanjene, ali bolest nije spriječena. Monoklonska protutijela specifična za PrP inhibiraju razmnožavanje *scrapie* priona kod miševa i odgađaju razvoj prionske bolesti. Iako isporuka protutijela u središnji živčani sustav nije učinkovita, planirana su klinička ispitivanja za procjenu učinkovitosti ovih molekula u liječenju prionske bolesti. Identificirane su male molekule koje se vežu na prionske proteine, povećavaju njihovo uklanjanje ili uzrokuju dominantno-negativnu inhibiciju širenja priona, ali nijedna još nije testirana na ljudima [17].

Još jedan oblik liječenja koji se istražuje u posljednje vrijeme je genska terapija. Cilj je izbaciti gen odgovoran za sintezu PrP-a u stanici. Stanley Pruisner je zajedno sa svojim suradnicima uspio genetski modificirati miša koji nema mogućnost sinteze PrP-a. Takvi miševi i ostale životinje koje ne posjeduju PrP nisu pokazale nikakve abnormalnosti. Međutim, još uvijek nije poznato kakve posljedice bi nedostatak PrP-a imalo za organizam [18].

Otkrićem priona u krvi te prijenosom goveđeg priona na ljude, sve više se stavlja naglasak na pravilnu i potpunu sterilizaciju medicinskih instrumenata i površina kao mjere prevencije širenja priona. Određeni prioni čak i nakon sterilizacije i izlaganju temperaturi od 360°C zadržavaju dozu infektivnosti pa se nastoje proizvoditi i koristiti instrumenti za jednokratnu uporabu. Također, kako bi se zaustavio prijenos priona između životinja, uvode se različite zabrane korištenja i uvoza mesno-koštanog brašna nepoznatog porijekla ili porijekla iz

zemalja visoke rizičnosti. Velika doza kontrole i strogi nadzor namirnica, farmaceutskih i bioloških preparata te brze i efikasne metode otkrivanja priona su za sad jedini načini suzbijanja prionskih bolesti [19].

### 3. ZAKLJUČAK

Prioni su prenosive subvirusne čestice koje izazivaju teške neurodegenerativne bolesti. Od ostalih infektivnih agensa razlikuju se po tome što ne sadrže nikakav genetskih materijal. Infektivni prioni nastaju procesom pogrešnog savijanja normalnog staničnog priona, PrP<sup>C</sup>, te u sekundarnoj strukturi sadrže veću količinu  $\beta$ -nabranih ploča u odnosu na  $\alpha$ -uzvojnice. Novija istraživanja koriste kvasce kao modelne organizme kako bi se pobliže objasnila veza između evolucijskog razvoja i priona. Prioni vrste *S. cerevisiae*, [PSI+] su pobili dosadašnju pretpostavku da su prioni isključivo štetni agensi. Primijećeno je da kvasci sa velikim udjelom [PSI+] razvijaju mehanizme koji im omogućavaju duže preživljavanje u nepovoljnim uvjetima. Prioni uzrokuju teške, progresivne, neurodegenerativne bolesti koje se očituju stopostotnom stopom smrtnosti, dugim periodom inkubacije i širokim spektrom simptoma. Unatoč mnogim pokušajima, još uvijek nije razvijen djelotvoran lijek za prionske bolesti. Unatoč tome, brzi napredak biomedicinskih znanosti i znanosti općenito, kao i daljnja istraživanja priona će dovesti do njihovog boljeg razumijevanja, što predstavlja važan put za otkriće potencijalnih lijekova za liječenje bolesti uzrokovanih prionima.

## LITERATURA

1. Imran, M., Mahmood, S. (2011). An overview of human prion diseases. *Virology Journal*, 8(1). doi:<https://doi.org/10.1186/1743-422x-8-559>.
2. Prusiner, S.B. (2013). Biology and Genetics of Prions Causing Neurodegeneration. *Annual Review of Genetics*, 47(1), pp.601–623. doi:<https://doi.org/10.1146/annurev-genet-110711-155524>.
3. Harris, D.A. (1999). Cellular Biology of Prion Diseases. *Clinical Microbiology Reviews*, 12(3), pp.429–444. doi:<https://doi.org/10.1128/cmr.12.3.429>.
4. Marín-Moreno, A., Fernández-Borges, N., Espinosa, J.C., Andréoletti, O., Torres, J.M. (2017). Transmission and Replication of Prions. *Progress in Molecular Biology and Translational Science*, 150(2017), pp.181–201. doi:<https://doi.org/10.1016/bs.pmbts.2017.06.014>.
5. Onyema, V.O., Amadi, O.C., Moneke, A.N., Agu, R.C. (2023). "A Brief Review: Saccharomyces cerevisiae Biodiversity Potential and Promising Cell Factories for Exploitation in Biotechnology and Industry Processes – West African Natural Yeasts Contribution." ("A Brief Review: - ScienceDirect") *Food Chemistry Advances*, 2, p.100162. doi:<https://doi.org/10.1016/j.focha.2022.100162>.
6. Wickner, R.B., Shewmaker, F.P., Bateman, D.A., Edskes, H.K., Gorkovskiy, A., Dayani, Y., Bezsonov, E.E. (2015). ("Structure and replication of yeast prions - EurekaMag") Yeast Prions: Structure, Biology, and Prion-Handling Systems. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 79(1), pp.1–17. doi:<https://doi.org/10.1128/mnbr.00041-14>.
7. Wickner, R.B., Edskes, H.K., Shewmaker, F., Nakayashiki, T., Engel, A., McCann, L., Kryndushkin, D. (2007). Yeast Prions. *Prion*, 1(2), pp.94–100. doi:<https://doi.org/10.4161/pri.1.2.4664>.
8. Halfmann, R., Jarosz, D.F., Jones, S.K., Chang, A., Lancaster, A.K., Lindquist, S. (2012). "Prions are a common mechanism for phenotypic inheritance in wild yeasts."

- (“Prions are a common mechanism for phenotypic inheritance in wild yeasts ...”)  
*Nature*, 482(7385), pp.363–368. doi:<https://doi.org/10.1038/nature10875>.
9. Prusiner, S., Scott, M. (1997). Genetics of Prions. *Annual Reviews Inc. All rights reserved*, 31, pp.139–75.
  10. Otero, A., Velásquez, C.D., Aiken, J. and McKenzie, D. (2021). Chronic wasting disease: a cervid prion infection looming to spillover. *Veterinary Research*, 52(1). doi:<https://doi.org/10.1186/s13567-021-00986-y>.
  11. Smith, P. and Bradley, R. (2003). Bovine spongiform encephalopathy (BSE) and its epidemiology. *British Medical Bulletin*, 66, pp.185–198. doi:<https://doi.org/10.1093/bmb/dg66.185>.
  12. Liberski, P., Gajos, A., Sikorska, B., Lindenbaum, S. (2019). Kuru, the First Human Prion Disease. *Viruses*, 11(3), p.232. doi:<https://doi.org/10.3390/v11030232>.
  13. Geschwind, M.D. (2015). Prion Diseases. *CONTINUUM: Lifelong Learning in Neurology*, 21(6), pp.1612–1638. doi:<https://doi.org/10.1212/con.0000000000000251>.
  14. Chen, C., Dong, X.-P. (2016). Epidemiological characteristics of human prion diseases. *Infectious Diseases of Poverty*, 5(1). doi:<https://doi.org/10.1186/s40249-016-0143-8>.
  15. Diack, A.B., Head, M.W., McCutcheon, S., Boyle, A., Knight, R., Ironside, J.W., Manson, J.C., Will, R.G. (2014). Variant CJD. *Prion*, 8(4), pp.286–295. doi:<https://doi.org/10.4161/pri.29237>.
  16. Brown, P., Brandel, J.-P., Sato, T., Nakamura, Y., MacKenzie, J., Will, R.G., Ladogana, A., Pocchiari, M., Leschek, E.W., Schonberger, L.B. (2012). Iatrogenic Creutzfeldt-Jakob Disease, Final Assessment. *Emerging Infectious Diseases*, 18(6), pp.901–907. doi:<https://doi.org/10.3201/eid1806.120116>.
  17. Panegyres, P.K., Armari, E. (2013). Therapies for Human Prion Diseases. *American Journal of Neurodegenerative Disease*, 2(3), pp.176–186.
  18. Marković, D., Marković, M. (2004). Prioni i prionske bolesti; Prions and Prion Diseases.

19. Mead, S., Khalili-Shirazi, A., Potter, C., Mok, T., Nihat, A., Hyare, H., Canning, S., Schmidt, C., Campbell, T., Darwent, L., Muirhead, N., Ebsworth, N., Hextall, P., Wakeling, M., Linehan, J., Libri, V., Williams, B., Jaunmuktane, Z., Brandner, S., Rudge, P. (2022). Prion protein monoclonal antibody (PRN100) therapy for Creutzfeldt–Jakob disease: evaluation of a first-in-human treatment programme. *The Lancet Neurology*, 21(4), pp.342–354. doi:[https://doi.org/10.1016/s1474-4422\(22\)00082-5](https://doi.org/10.1016/s1474-4422(22)00082-5).

### Mrežni izvori:

web 1: <https://doctorlib.info/neurology/harrison-neurology-clinical-medicine/43.html>

web 2: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1877117317300959>

web 3: <https://www.nature.com/articles/nrg1616>

web 4: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22337056/>

web 5: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4890484/figure/Fig1/>

web 6: <https://www.pnas.org/doi/full/10.1073/pnas.95.23.13363>