

GENETSKI ASPEKTI KOD TRANSMISIVNIH SPONGIOFORMNIH ENCEFALOPATIJA

Ervin Zecevic¹, Admir Dokso¹, Alma Rustempasic¹, Muhamed Brka¹

Pregledni članak - *Review paper*

Rezime

Transmisivne spongiformne encefalopatije (TSE) skupina je zaraznih neurodegenerativnih bolesti koje napadaju živčano tkivo stvarajući nakupine prionskih čestica u njemu. Krajnji ishod ove bolesti je smrtonosan, a njihov uzročnik je prion, stanični glikoprotein koji ima dva oblika, bez zarazne α - zavojnice, koja je označena kao PrP^C i zarazna, s β - nabranim listom i oznakom PrP^{Sc}. Ova je bolest karakteristična za mnoge sisavce, uključujući čovjeka. Studije su pokazale da postoji genetska predispozicija za bolest ili rezistencija na nju.

Ključne riječi: *ovca, prion, grebež, PrP*

UVOD

Transmisivne spongiformne encefalopatije (TSE), su skupina bolesti čiji su uzročnici prioni. Ovo su neurodegenerativne bolesti čovjeka i domaćih životinja koje se mogu prenositi kako sa jedinke na jedinku iste vrste, tako i na jedinke različitih vrsta. Krajnji ishod bolesti je smrtan. Sam naziv bolesti spongiformna encefalopatija nastala je prema tipičnim spužvastim vakuolama sive tvari mozga kod oboljelih jedinki.

Uzročnici bolesti su prioni, sitne proteinske čestice sastavljene su od 250 aminokiselina. Griffith i sur. (1967) prvi su pretpostavili da je uzročnik neurodegenerativnih bolesti proteinske prirode, a Prusiner i sur. (1982) nazvali su ga prion (engl. Prion = *proteinaceous infectious particle PrP*). Postoje dvije izoforme proteinskih čestica. Normalna izoforma označena kao PrP^C, nalazi se u stanicama svih kralježnjaka i ima ulogu u obrani stanice od infekcije. Abnormalna izoforma označava se kao PrP^{Sc}, i od normalne, se razlikuje po trodimenzionalnoj konformaciji.

Transmisivne spongiformne encefalopatije imaju karakteristične oblike za različite vrste životinja. Tako da u ovu skupinu bolesti pripadaju: grebež ovaca i koza (engl. scrapie), goveđa spongiformna encefalopatija (engl. bovina spongiform encephalopathy – BSE), kronična razorna bolest kod jelena (engl. chronic wasting disease – CWD), Creutzfeldt – Jacobova bolest (CJB), kuru, transmisivna encefalopatija američke vidrice, spongiformne encefalopatije mačke i egzotičnih životinja u zoološkim vrtovima te nova varijanta Creutzfeldt – Jacobove bolesti (nvCJB).

¹Faculty of Agriculture and Food Sciences University of Sarajevo, Bosnia and Herzegovina
Corresponding author: e.zecvic@ppf.unsa.ba

Medicinska znanost je ignorirala grebež ovaca do 1959, kada su američki veterinari povezali grebež ovaca sa novoopisanom bolesti ljudi, nazvanom kuru, zaraznim neurološkim poremećajem koji je pronađen samo u Istočnim planinskim dijelovima Papua Nove Gvineje.

U narednom periodu provedene su mnoge studije da bi se otkrile fizičke i kemijske osobine infektivnog agensa, njegova raspodjela i titar u tkivu inficiranih životinja.

U ranim osamdesetim godinama 20. stoljeća otkriveno je da se iz tkiva mozga može izolirati jedan protein (nazvan PrP, ili „prion protein“) i otkrivena je njegova povezanost sa infektivnošću (Prusiner, 1982). Gen za kodiranje ovog proteina normalni je gen organizma.

Ključne riječi: *TSE, PrP gen, Grebež, Ovca*

U današnje vrijeme, uloga gena koji kodira prionski protein (PrP), intenzivno se istražuje u patogenezi TSE. Dobivene informacije i genotipovi koriste se u uzgojnim programima i selekcijskom odabiru životinja genetički otpornih na TSE.

KRATKA ISTORIJA TSE

Transmisivne spongioformne encefalopatije (TSE) su infektivne bolesti životinja i ljudi, koje se još nazivaju i prionske bolesti radi povezanosti sa različitim izoformnim oblicima staničnog prionskog glikoproteina (PrP^C).

Tabela 1. Sistematizacija TSE bolesti s obzirom na domaćina, naziv bolesti te godinu otkrića

Table 1. *Systematization of TSE disease with respect to host, disease name and year of discovery*

Domaćin	Bolest	Godina	Izvor
Čovjek	Creutzfeldt – Jakobova bolest	1920.	Creutzfeldt , 1920.
	Gerstmann–Sträussler–Scheinkerov sindrom	1928.	Gerstmann, 1928.
	Kuru	1957.	Gajdušek i Zigas 1957.
	Fatalna obiteljska nesanica	1986.	Lugaresi i sur. 1986.
Ovca	Grebež	≈1750.	Parry, 1983.
Koza	Grebež	1942.	Chelle, 1942.
Muflon	Grebež	1992.	Wood i sur. 1992.
Kuna	Prijenosna spongioformna encefalopatija kune	1965.	Hartsough i Burger 1965.
Govedo	Goveda spongioformna encefalopatija	1987.	Wells i sur. 1987.
Mačka	Mačja spongioformna encefalopatija	1990.	Wayatt i sur. 1990.
Jelen	Kronična razorna bolest propadanja	1967	Williams, 2005.

U 18. stoljeću u Velikoj Britaniji je najznačajniji komercijalni proizvod bila vuna u čiju proizvodnju je bilo uključeno na ovaj ili onaj način blizu jedne četvrtine tadašnje populacije. Pri kraju stoljeća, industrijska revolucija, porast dominacije u trgovini i potražnja za finom vunom je porasla. U ovakvom ozračju, u britanskom parlamentu je 1755. godine održana rasprava o ekonomskim efektima zarazne i smrtne bolesti ovaca u cilju obvezivanja vlade da poduzme mjere u svezi s ovim. Ovaj događaj označava početak povijesti bolesti poznate kao grebež (engl. scrapie).

Znanstvenici opisuju nepredvidivu pojavu bolesti u različitim zemljama, kao i u različitim regijama iste zemlje, u sljedeća dva stoljeća u Engleskoj, Francuskoj, Njemačkoj i Centralnoj Europi. Nije precizno jasno gdje i kad se bolest točno prvi puta pojavila, no postoje naznake da je već bila prisutna u Sjevernoj Europi i Austro – Ugarskoj prije početka 18. stoljeća. Općenito, 18. stoljeće i početak 19. stoljeća pokazuje ubrzano širenje bolesti kao rezultat prakse korištenja uzgoja u rodstvu radi poboljšanja kvalitete vune. Kada je ova praksa napuštena, intenzitet pojave bolesti se smanjio tijekom kasnog 19. stoljeća, iako nije iščezla, jer je ova bolest u Škotskoj prvi put zabilježena krajem 20. stoljeća.

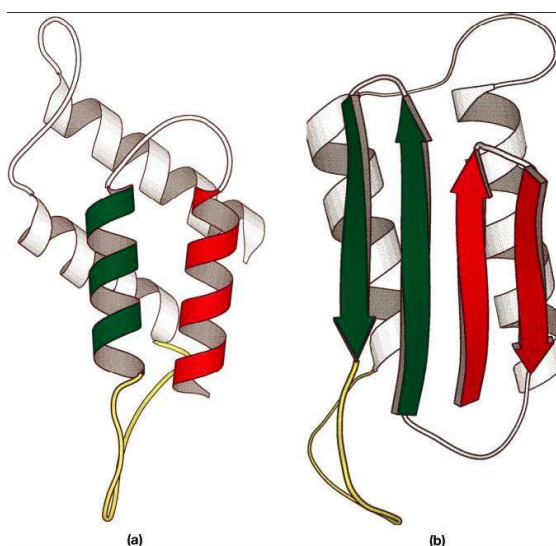
Sredinom 19. stoljeća, veterinari u Engleskoj, Francuskoj i Njemačkoj iniciraju znanstvene studije vezane za grebež, uključujući sistematična neuropatološka ispitivanja i napore da se identificira infektivni patogen. Napokon su francuski veterinari uspjeli 1936. godine u prenošenju bolesti na zdravu ovcu. Ova eksperimentalna studija je slučajno potvrđena u isto vrijeme u Engleskoj kao rezultat širenja bolesti na nekoliko stotina ovaca koje su bile imunizirane cjepivom pripremljenim od moždanog tkiva ovaca, od kojih su neke, što je kasnije ustanovljeno, imale grebež. Prenosivost grebeži ustanovljena je bez ikakve sumnje, a debate o odnosu između okolišnih i genetičkih čimbenika nastavile su se do današnjih dana. Tijekom četrdesetih i pedesetih godina 20. stoljeća ubrzani koraci veterinarskih istraživanja dali su mnoga nova otkrića o ponašanju agensa uzročnika, uključujući značajna opažanja da infektivnost podnosi dozu ionizirajućeg zračenja koja je neusklađiva sa biološkim integritetom nukleinske kiseline. Bilo je to opažanje koje je kasnije dovelo do zaključka da je moguće da se infektivni agens sastoji samo od proteina.

PRION

Prion (PrP^C), je konzervirani glikoprotein, vezan za staničnu stjenku glikozilfosfatidilinozitolnom vezom. Ovo je infektivni agens i ne sadrži nukleinske kiseline. Stalna nastojanja da se identificira čak i mala količina DNA ili RNA su bezuspješna. Jedina komponenta koja je do sada identificirana je proteinska. Prion je 28 kD hidrofobni glikoprotein, koji je kodiran staničnim genom (PrP). Protein postoji u dva oblika. Proizvod pronađen u normalnom moždanom tkivu zove se PrP^C i kompletan je podložan razgradnji proteazom. Protein koji je pronađen u inficiranom moždanom tkivu naziva se PrP^{Sc} i on je izrazito otporan na razgradnju proteazom. Normalni stanični PrP^C konvertira u PrP^{Sc} kroz proces u kojem se dio njegovih α – helikoidnih zavojnica razmota u β – ploču. Ova strukturalna transmisija praćena je temeljnim promjenama u

fizičko kemijskim značajkama proteina PrP (Slika 1). Nukleotidni slijed amino kiselina pronađen kod PrP^{Sc} odgovara onom koji je kodiran PrP genom sisavca domaćina kod kojeg se zadnji puta replicirao. Ovo je u suprotnosti sa patogenima koji sadrže nukleinske kiseline i kodiraju specifične značajke na genu. Transgenetičke studije uvjeravaju da PrP^{Sc} djeluje kao obrazac na temelju kojeg se PrP^C prestrukturira u početnu molekulu PrP^{Sc} u procesu koji je potpomognut drugim proteinom. Poznato je više od dvadeset mutacija PrP gena koje izazivaju nasljedne prionske bolesti i ustanovljena je značajna genetička povezanost za pet od ovih dvadeset mutacija.

Prion protein koji ima strukturu PrP^C u određenim se uvjetima prestrukturira u PrP^{Sc}. Suvremene studije pokazale su da stanični osmoliti, koji se još zovu i prateći proteini (engl. Chaperon), imaju određenu ulogu kod prestrukturiranja PrP^C u njegov infektivni oblik PrP^{Sc}. Prateći proteini potpomažu, ne vežući se kovalentnom vezom, omotavanje ili razmotavanje, združivanje ili cijepanje makromolekularnih struktura, ali se ne pojavljuju u ovim strukturama kada one provode svoje normalne biološke funkcije. Prateći proteini ne donose nužno stereokemijsku informaciju potrebnu za formiranje ovojnice proteina. Jedna od najvažnijih funkcija ovih proteina je sprječavanje nastanka nefunkcionalnih jedinica nakon agregacije polipeptidnog lanca i pridružene podjedinice.



Slika 1. Normalna PrP^C struktura priona (a) i patološka PrP^{Sc} struktura (b). Izvor: (Prussiner i sur.,1998).

TRANSMISIVNE SPONGIOFORMNE ENCEFALOPATIJE KOD OVACA – GREBEŽ

Grebež (engleski – scrapie, irski – rida, francuski – la tremblante, njemački – traberkrankheit), je zarazna bolest ovaca koja zahvata centralni nervni sistem i uvijek je smrtonosna. Nekroskopijom inficiranih životinja ustanovljena je pojava vakuola na tkivu mozga. Bolest se klasificira kao prenosiva spongiformna encefalopatija (TSE) (engl. transmissible spongiform encephalopathies, TSE). Klinički znakovi kod ovaca počinju sa blago narušenim socijalnim ponašanjem, praćenim lokomotornom inkoordinacijom ili ataksijom sa drhtanjem. Gubitak vune je posljedica češanja životinje, a česta je pojava i grizjenja zahvaćenih regija runa. Ovi klinički znaci mogu trajati od 2 tjedna do 6 mjeseci. Opis u literaturi varira u različitim slučajevima grebeži. Na primjer, u grupi ovaca zaraženih sa grebeži u Shetlandu između 1985. i 1991. godine, većina životinja je pokazivala znakove svrbeža i iscrpljenosti, ostale su imale svrbež, iscrpljenost i hipersenzitivnost, dok su neke pokazivale sve ove znakove i još plus dezorijentiranost. Također su opisani slučajevi kod ovaca sa grebeži, koje su nakon kratkog vremena pronađene mrtve. U opisu kliničkih znakova kod ovaca zaraženih sa grebeži u Japanu, pojedine životinje (suffolks i coriedales) pokazivale su znakove svrbeža, ali ostale (coriedales) su uginule bez nekog očitog razloga. Poslije, grebež je dijagnosticirana histopatološkim pretragama.

Osnovno obilježje transmisivnih spongiformnih encefalopatija je akumulacija PrP^{Sc}, oblika staničnog gliko proteina PrP^C, koji ima drugačiju zavojnicu. Postoje opsežni eksperimentalni dokazi da promjena PrP^C u oblik PrP^{Sc} igra presudnu ulogu, kako u procesu replikacije priona, tako i u pojavi neurodegenerativnih poremećaja.

Infektivni oblici TSE mogu biti eksperimentalno preneseni preko oralne apsorpcije ili perifernom inokulacijom i to tako da se očekuje, u oba slučaja prirodni razvoj bolesti. Kako uzročnici prelaze od mjesta ulaska do cilja u centralnom nervnom sistemu (CNS), pitanje je koje nije do kraja rasvijetljeno. Postoje jaki dokazi da limforetikularni sistem (LRS) i periferni nervni sistem (PNS) igraju značajnu ulogu u ovom procesu.

Limfoidno tkivo slezene i crijeva su mjesta rane akumulacije ili replikacije priona, kod periferno inficiranih glodavaca i prirodno inficiranih ovaca.

Infekcija u mozgu ovaca počinje u diencephalonu i medulli oblongati, a kasnije se širi repliciranjem u ostale regije mozga. Karakteristična je pojava ne upalne vakuolarne degeneracije sive tvari i prisutnost PrP^{Sc} u fibrilima. Infekcija je rezultat posttranslacijske modifikacije prionskog proteina, tako da on postaje otporan na proteinazu. Uslijed ne mogućnosti odstranjivanja, dolazi do njegove akumulacije u stanici. Period inkubacije varira od nekoliko mjeseci do nekoliko godina. Grebež nije febrilna bolest sa podmuklim početkom, no ako bolest napreduje, klinički znaci postaju sve očitiji i teži. Klinički tijek je dugačak i varira od dva do dvanaest mjeseci, premda u većini slučajeva traje oko šest mjeseci. Oboljele životinje obično pokazuju promjene u ponašanju, tremor, pruritus i lokomotorni poremećaj. Najraniji znakovi bolesti su prolazni. Pojave nervnih poremećaja dešavaju se u intervalima od nekoliko tjedana, ili pod uvjetima stresa. Ove epizode uključuju iznenadne kolapse i iznenadne promjene

ponašanja. Poslije toga počinje trljanje i griženje runa, ali to obično ostaje neprimijećeno zbog neučestalosti. Češanje je izraženo prvenstveno na kukovima, bedrima i osnovi repa. Tjeme i gornji dio vrata također mogu biti zahvaćeni i što je manje karakteristično, mogu biti zahvaćeni prednja strana vrata iza ramena i rebra iza lakata. Zahvaćene regije imaju približno bilateralnu simetriju. U ovom ranom stadiju razvoja bolesti često je moguće uočiti ukočen hod životinje, gubitak kondicije, dok gubitak apetita još uvijek nije prisutan. Kad su u pitanju uznapredovali stadiji bolesti, češanje se intenzivira, pojavljuje se mišićni tremor i značajne poteškoće u hodanju, praćene teškom iscrpljenošću. Stalno češanje uzrokuje gubitak vune na već spomenutim regijama. Pojavljuje se također grebanje zadnjim nogama i griženje ekstremiteta. Hematomi na ušima i otekline na licu mogu biti posljedice stalnog češanja. Lagani ili jači pritisak, aplikacija toplote ili hladnoće mogu imati za posljedicu karakterističnu reakciju životinje tijekom koje životinja podiže glavu i pravi pokrete usnama i jezikom. Usporedo sa napredovanjem češanja javljaju se ozbiljni poremećaji lokomocije, od kojih su prvi abnormalno držanje i šepanje na stražnjim ekstremitetima, javlja se nepotpuna fleksija skočnog zgloba, skraćenje koraka, slabost i nedostatak ravnoteže. Ovca gubi smisao za prostor i nije sposobna uspostaviti normalno držanje tijela. Oboljela životinja nastoji izbjeći hvatanje, uočljiva je velika diskordinacija pokreta tijela i glave i oboljela životinja često pada. U ovom periodu mogu se pojaviti konvulzije koje su obično prolazne kao povremeno i fatalne. Evidentna je prisutnost opće hipersenzibilnosti. Kod životinja u stanju mirovanja se može primijetiti trzanje glave i tremor superficijalnih mišića, a u nekim slučajevima nastaje i nekontrolirano treperenje očiju (nistagmus), kao posljedica zakretanja glave. Ostali klinički znaci uključuju nemogućnost gutanja, povraćanje, izostajanje blejanja i sljepilo. Podrhtavanje glasa je također uočljivo. Kod većine slučajeva anoreksija nije prisutna prije četvrtog ili petog tjedna. Kad se pojavi, za posljedicu ima brz gubitak težine. Na posljeticu ovca dolazi u stadij potpune iznurenosti i nesposobnosti kretanja bez zamaranja. Slijedi ležanje na grudima i bokovima uz ekstremno istežanje udova što je znak finalne faze bolesti. Hipertermija nije prisutna niti u jednom stadijumu.

Kad je u pitanju klinička patologija, nema promjena u hematološkim ili biokemijskim parametrima. Do nedavno nije bilo antemortem testova za grebež. U svakom slučaju PrP^{Sc} može biti ustanovljen u limfoidnom tkivu ovaca oboljelih od grebeži u pred kliničkoj fazi bolesti. Tonzilarnom biopsijom ustanovljeno je prisustvo PrP^{Sc} kod janjadi starosti 9 do 10 mjeseci, koja su rođena i držana u okruženju gdje je bio prisutan grebež ovaca.

Kad su u pitanju nalazi nekroskopije, oni su ograničeni na traumatske lezije izazvane trljanjem, iscrpljenošću i gubitkom vune. Kod nekih slučajeva uočeno je značajno rastežanje abomazuma. Osnovne histopatološke lezije kad je grebež (scrapie) u pitanju, su vakuolacija sive tvari neuropila u leđnoj moždini, medulli, pons-u i srednjem mozgu. Kao posljedica nastaje Wallerin degeneracija u dorzalnim, ventralnim i ventrolateralnim stubovima leđne moždine, u nervnim vlaknima i u optičkom živcu.

Kod koza klinički slijed prirodno nastale bolesti traje od dva do 24 tjedna. Klinički znakovi su slični kao kod ovaca. Hipersenzibilnost, ataksija i češanje su zajednički znaci

i kod ovaca i kod koza, dok je kod koza manje prisutan gubitak težine. Kod koza u laktaciji, prvi znak može biti odbijanje mužnje. Kod jedne trećine slučajeva grebeži koza evidentirana je regurgitacija sadržaja buraga.

Prenosiva spongioformna encefalopatija kod jelena zastupljena je kroz bolest čiji je naziv Kronična razorna bolest propadanja (eng. chronic wasting disease, CWD). Ova bolest kod jelena poznata je više od 30 godina, prvi objavljeni izvještaji o kroničnoj razornoj bolesti propadanja potječu iz osamdesetih godina 20. stoljeća (Williams i Young, 1980; 1982). Prije ovog, biolozi koji su radili na simptomima kroz koje se ova bolest očitavala, prepoznali su kroničnu razornu bolest propadanja kao sindrom koji je smanjivao životni vijek jelena. Prošle su godine dok nije ustanovljeno da se radi o zaraznoj bolesti. Kronična razorna bolest propadanja pojavljuje se u dvije različite skupine cervida: jelena i losova, kako u uzgoju tako i životinja koje se nalaze u divljini. Opisi kliničke slike kronične bolesti propadanja su prvenstveno bazirani na promatranjima životinja u uzgoju. Napredak bolesti kod životinja u divljini je manje poznat zbog prisutnih objektivnih poteškoća u promatranju i izučavanju bolesti u divljini. Značajke kronične razorne bolesti propadanja u završnom kliničkom stadiju su očiti i oni su slični završnom stadiju bolesti kod ovaca oboljelih od grebeži iako smetnje i promjene u lokomociji mogu biti skrivenije i manje uočljive kad je u pitanju kronična razorna bolest propadanja. Istaknute kliničke značajke uznapredovale bolesti kod odraslih jedinki su gubitak težine i promjene u ponašanju što se proteže kroz tjedne ili čak mjesece. Kao dodatak ovim uopćenim simptomima mogu se pojaviti i ne specifični znaci koji mogu biti prisutni samo u pojedinim slučajevima i uključuju odontoprisis (pucanje zuba), povećano lučenje pljuvačke zbog poteškoća u gutanju, ataksiju i tremor glave, ezofagealnu dilataciju i regurgitaciju kao i aspiracijsku pneumoniju.

Završne fiziološke promjene i promjene u ponašanju mogu uključivati polydipsiju (izražena žeđ) i polyuriu (povećana sinteza i izlučivanje urina), syncope (nesvjestica), periodični gubitak svijesti, fiksiran pogled, promjene u odnosima sa ostalim članovima stada, promijenjen stav tijela često sa spuštenom glavom. Općenito, znaci završnog stadija bolesti su očitiji kod losova nego kod jelena. Losovi češće imaju probleme u lokomociji, a rjeđe ispoljavaju znake polydipsije nego jeleni.

Svrab i gubitak pokrovne dlake koji je prisutan kod završnog stadija bolesti grebeži kod ovaca, nije značajka završnog stadija bolesti propadanja kod jelena. Pokrovna dlaka oboljelih životinja može biti gruba i suha uz primjetne zaostatke zimske pokrovne dlake u ljetnom periodu, što se prije smatra odrazom loše tjelesne kondicije životinje nego kao primarna posljedica bolesti.

Kad je u pitanju početna ili srednja faza bolesti nisu zabilježeni specifični klinički simptomi. Promjene ponašanja ne moraju biti posljedica bolesti, one su normalna pojava u jesen i vrijeme parenja. Isto tako pojavljuje se normalno kolebanje u tjelesnoj masi u skladu sa periodom godine.

Polydipsia i polyuria u završnom stadiju bolesti su vjerojatno povezane sa oštećenjem supraoptičkog i paraventrikularnog jezgra kao i pojave diabetes insipidus. Sa izuzetkom male specifične gustoće urina, koja je otkrivena u krajnjem stadiju bolesti, kod jelena

sa slobodnim pristupom vodi, klinička kemija i hematološke analize nisu korisne u otkrivanju kronične razorne bolesti propadanja.

Jeleni u subkliničkom ili ranom kliničkom stadiju bolesti su skloniji iznenadnom ugibanju u slučaju hvatanja ili izlaganja stresu.

Aspiracijska pneumonija može se pojaviti prije ili kasnije tijekom bolesti i može biti uzrok brze smrti životinje usprkos nedostatku ostalih kliničkih znakova kronične bolesti propadanja, to je razlog zbog kojeg bi se trebalo uzeti u obzir moguć razvoj ove bolesti kod životinja kod koji se otkrije da boluju od aspiracijske pneumonije.

Usljed pojave aspiracijske pneumonije dolazi do gubitka motorike gutanja povezanog sa regurgitacijom i sposobnošću preživljavanja uslijed nastalih oštećenja.

Subkliničke ili kliničke očite promjene ponašanja životinje mogu biti uzrokom lakšeg izlova tijekom lovne sezone, stradanja od automobila uslijed iscrpljenosti ili lakšeg plijena predatora.

Vrijeme trajanja bolesti je jako promjenljivo samim tim što je jako teško uočiti sam početak bolesti.

Sposobnost otkrivanja bolesti uključuje bliskost sa životinjom što u mnogim slučajevima, kad su divlje životinje u pitanju, nije moguće.

Pojava iznenadne smrti je rijetka. Češće je u pitanju spori napredak kliničkog tijeka bolesti što traje tjednima ili mjesecima. Smrt obično nastupa u okviru četiri mjeseca iako je nekoliko životinja preživjelo do godinu dana. Smrt oboljelih životinja može nastupiti uslijed okolišnog stresa, kao što su periodi iznimne hladnoće, nesposobnosti pronalaska hrane i vode, i sposobnosti da izbjegnu predatore. Ovo su razlozi zbog kojih se čini da je klinički tijek bolesti kraći kod jelena u divljini nego onih koji su u uzgoju.

Usljed produženog perioda inkubacije koji kod prirodne bolesti traje minimalno 16 mjeseci, lanad ne razvijaju znake kliničke slike kronične razorne bolesti propadanja, iako se dokazi infekcije mogu detektirati različitim metodama tijekom većeg dijela inkubacijskog perioda.

U eksperimentalnim uvjetima, prionski protein karakterističan za pojavu bolesti (PrP^{Sc}) pronađen je u limfoidnom tkivu probavnog trakta kod jelena 42 dana nakon oralnog izlaganja.

Rijetki su slučajevi razvoja bolesti kod jednogodišnjih životinja.

Teško je odrediti maksimalni inkubacijski period kod prirodno zaraženih životinja jer je teško ustanoviti točno vrijeme kada je došlo do zaraze. U svakom slučaju prosječni period inkubacije se kreće u rasponu od 2 do 4 godine. Kronična razorna bolest propadanja je dijagnosticirana kod losova starijih od 15 godina i kod jelena starijih od 12 godina koji su nastanjivali područje sa visokom rasprostranjenosti ove bolesti. U ovim slučajevima može se smatrati da su životinje bile izložene infektivnim agensima u odraslom stadiju ili može biti indiciran produženi period inkubacije. Utjecaj količine infektivnog agensa na trajanje inkubacije nije sasvim razjašnjen kod kronične razorne bolesti propadanja, ali preliminarna istraživanja eksperimentalno i prirodno izloženih životinja sugeriraju da u određenom stupnju više doze agensa rezultiraju skraćenjem inkubacijskog perioda.

Sezonalnost nije karakteristična osobina kronične razorne bolesti propadanja kod jelena na individualnoj razini, jer kod životinja se može razviti bolest u bilo koje vrijeme godine. Međutim, na populacijskoj razini oboljele životinje su češće primijećene u jesenskom periodu ili za vrijeme zime što moguće reflektira rast utjecaja okolišnog stresa.

Kod životinja koje su u uzgoju, čije stanište nije u divljini, rijetko će više od jedne životinje biti oboljelo u isto vrijeme, ali često postoji povijest pojave bolesti kod odraslih životinja. Jelena i losovi koji pripadaju stadima iz uzgoja koja imaju povijest učestale pojave bolesti, ili koji pripadaju stadima koja se nalaze u epidemiološki endemskim regijama u većoj su opasnosti od obolijevanja nego životinje iz zatvorenih stada ili onih koja se nalaze udaljena od endemskih područja za kroničnu razornu bolest propadanja.

U endemskim područjima kronične razorne bolesti propadanja, većina oboljelih životinja zabilježenih tijekom nadzora razvilo je subkliničku sliku bolesti (>97%). Jedinke sa kliničkom slikom su relativno rijetke.

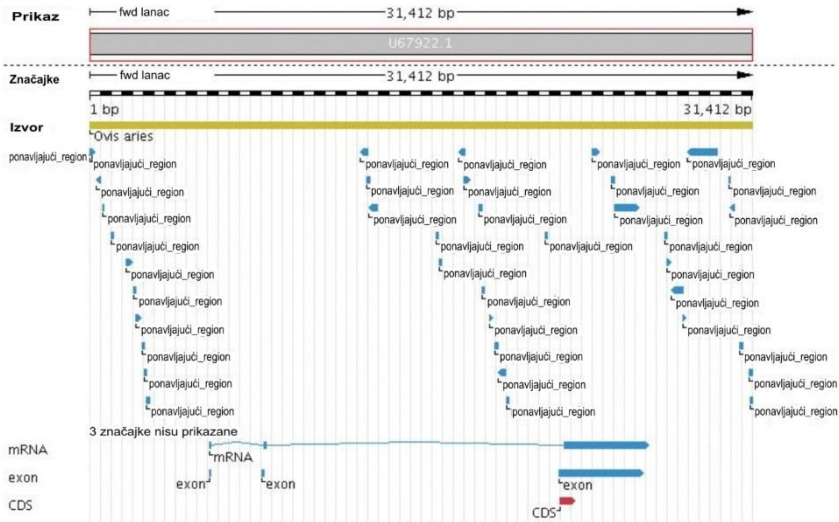
Kao i kod drugih transmisivnih spongioformnih encefalopatija (TSE), tjelesna oštećenja na pojedinačnim životinjama koje izaziva kronična bolest propadanja nisu specifična, ali u kombinaciji, mogu biti od pomoći prilikom dijagnosticiranja. Prisutna oštećenja, u kombinaciji, odražavaju kliničke znakove: grub i suh dlačni pokrivač može značiti da životinja nije imala povoljan zaklon, ali u koliko se zamjećuje i prisutnost megaesophagusa može se sumnjati na pojavu kronične razorne bolesti propadanja. Bitno je ustanoviti da tjelesno stanje životinja u subkliničkom ili ranom kliničkom stadiju kronične razorne bolesti propadanja može biti normalno; dobra tjelesna kondicija ne isključuje mogućnost oboljenja od kronične razorne bolesti propadanja. U završnom stadiju bolesti, tipično, životinje su mršave, mogu, ali ne moraju imati aspiracijsku pneumoniju, često imaju vodenast sadržaj predželudaca koji može biti i pjenušav ili sadržavati povećane količine pijeska ili šljunka, životinje također mogu imati razrijeđen urin u koliko su dostupne dovoljne količine vode. Tjelesne polovice mogu biti dehidrirane vjerojatno zbog nedostatka dovoljnih količina pitke vode. Ostali mogući uzroci mršavosti i pneumonije trebali bi biti ustanovljeni tijekom postmortem analize životinja kod kojih se sumnja na oboljenje od kronične razorne bolesti propadanja.

SVOJSTVA I GRAĐA PRP GENA

Pojedini dijelovi gena ostali su nepromijenjeni tijekom evolucije. Ta očuvanost PrP gena ukazuje da bi on trebao biti od velike važnosti za organizam. Utvrđeno je da životinje (miševi) kojima je eksperimentalno uklonjen taj gen preživljavaju, ali su stresno osjetljivi i oslabljenog imuniteta. Isto tako, proizvod prionskog gena, protein iako je prisutan u svim moždanim stanicama izaziva bolest samo u određenim situacijama, kao i to da se u različitim dijelovima mozga različito ispoljava u zavisno od toga koju mutaciju sadrži.

PrP gen se sastoji od:

- promotora u kojem su dijelovi koji kontroliraju, reguliraju transkripciju,
- *okvira za čitanje* (ORF) koji se sastoji od 759 baznih parova (bp) i u kome se nalazi šifrirana informacija od 253 kodona za sintezu prionskog proteina koji je izgrađen od 253 aminokiseline
- Kodira PrP^C protein. U koliko dođe do infekcije može kodirati i patološku izoformu prionskog proteina PrP^{Sc}.



GENETSKI ASPEKTI BOLESTI GREBEŽI OVCE

Prionski gen u ovaca i koza nalazi se na kromosomu 13 (Ryan i Womack, 1993). PrP gen je jako evolucijski očuvan (Lee i sar., 1998). Prva su dva egzona (međusobno odvojeni intronom) kratki i odvojeni s otprilike 10 000 bp dugim drugim intronom od trećeg velikog egzona. PrP – ORF nalazi se na egzonu tri (Horiuchi i sar., 1997, 1998). Gen je jako očuvan u različitim vrsta upravo u području kodirajuće i promotorske regije. Nukleotidni slijed PrP gena ovce određen je 1998. godine (Lee i sar; Accession NO U67922) i dug je 31 412 bp, za razliku od goveđeg koji je dug 78 056 bp.

Grebež ovaca ustanovljena je kod većine pasmina, ali postoje pasminske, linijske i individualne razlike u sklonosti prema ovoj bolesti. Postoji osnovna genetička kontrola učestalosti pojave bolesti i kad je u pitanju prirodni ili eksperimentalni tijek bolesti, genetska osnova je glavni faktor za ustanovljavanje podložnosti ovoj bolesti. Eksperimentalno izazivanje bolesti i uzgojni eksperimenti pokazali su da ovce mogu pokazati kraći ili duži period inkubacije nakon izazivanja bolesti i ta je razlika u inkubacijskom periodu i osjetljivosti na bolest određena jednim genom koji je nazvan Sip (Scrapie incubation period). Kako je Sip gen ili vrlo blisko povezan sa PrP genom

(ili mu je identičan) i kako postoji mnogo polimorfni varijanti PrP gena, a samo dvije Sip gena, u genetici grebeži koristi se terminologija PrP gen. Opisano je sedam polimorfni kodona za kodiranje amino kiselina, a oni koji su najvažniji i imaju najveći utjecaj kad je u pitanju osjetljivost na grebež pojavljuju se na kodonima 136 (valin – alanin), 154 (histidin – arginin) i 171 (glutamin – arginin). Genetske analize osjetljivosti na grebež se još uvijek razvijaju i slika je prilično kompleksna. Postoje međupasminske razlike u genotipovima. Trenutni dokazi pokazuju da kod mnogih pasmina ovaca koje su homozigoti za glutamin na kodonu 171 i/ili valin na kodonu 136, postoji visoki rizik za razvoj bolesti grebeži. Osjetljivost kod pasmine suffolk je izgleda manje kompleksna nego kod ostalih pasmina i snažno je povezana sa glutamin/glutamin varijantom na 171. kodonu, koji predstavlja osnovu trenutnih genetskih testiranja kad je u pitanju bolest grebeži kod ove pasmine.

Kako je već napomenuto PrP gen kod ovaca je visoko polimorfan i u posljednjih nekoliko godina opisane su nove varijante ovog gena, tako da je sada poznato više od 45 amino kiselinskih sljedova koje kodira ovaj gen. Najčešći su polimorfizmi na kodonima 136, 154 i 171 koji generiraju alele: ARR, ARH, AHQ, ARQ, i VRQ. Ovi aleli povezani su sa različitim razinama osjetljivosti na bolest. Ovih pet alela je najčešće testirano eksperimentalno i alel ARR je uvijek bio povezan sa parcijalnom ili apsolutnom zaštitom od razvoja bolesti. Na osnovu ovih saznanja, programi selekcije, kad je u pitanju grebež imaju za cilj povećanje frekvencije ovog alela.

Tabela 2. Klasifikacija PrP genotipova za otpornost na grebež prema britanskom nacionalnom planu (Dawson i sar., 1998).

Table 2. Classification of PrP genotypes for scrapie resistance according to the British national plan (Dawson et al., 1998).

Klasifikacija	Genotip	Otpornost
NSP1	ARR/ARR	Visoko otporan
NSP2	ARR/ARQ	Otporan
	ARR/ARQ	
	ARR/AHQ	
NSP3	ARQ/ARQ	Nisko otporan
	ARQ/AHQ	
	AHQ/AHQ	
	ARH/ARH	
NSP4	ARR/VRQ	Podložan
	ARQ/VRQ	
NSP5	VRQ/VRQ	Visoko podložan
	VRQ/ARH	
	VRQ/AHQ	
	VRQ/ARR	

Različiti genotipovi kod ovaca su grupirani u skupine sukladno osjetljivosti na bolest grebeži. Najoporniji genotip je ARR/ARR i on pripada skupini NSP1, dok su najpodložniji genotipovi iz skupine NSP5: ARQ/VRQ; VRQ/VRQ; VRQ/ARR; VRQ/AHQ i VRQ/ARR. Najrizičniji haplotip je VRQ, dok u prisutnosti haplotipa ARR bolest najčešće izostaje (Dawson i sur., 1998).

Tabela 3. Raznolikost PrP – ORF egzona 3 kod ovaca

Table 3. PrP - ORF exon 3 diversity in sheep

Kodon	Kod	Aminokis.	Intern. oznaka aminokiseline IUPAC	Izvor
101	CAG	Glutamin	Q	Čubrić – Čurik i sar., 2009.
	CGG	Arginin	R	
112	ATG	Metionin	M	Laplanche i sar., 1993; Ikeda i sar., 1995; Ishiguro i sar., 1998.
	ACG	Treonin	T	
127	GGC	Glicin	G	Gombojav i sar., 2003.
	GTC	Valin	V	
	AGC	Serin	S	
136	GCC	Alanin	A	Belt i sar., 1995.
	GTC	Valin	V	
137	ATG	Metionin	M	Bossers i sar., 1996.
	ACG	Treonin	T	
138	AGC	Serin	S	Tranulis i sar., 1999.
	AAC	Asparagin	N	
141	CTT	Leucin	L	Bossers i sar., 1996.
	TTT	Fenilalanin	F	
143	CAT	Histidin	H	O'Rourke i sar., 2000.
	CGT	Arginin	R	
145	GGC	Glicin	G	Čubrić – Čurik i sar., 2009.
	GTC	Valin	V	
151	CGT	Arginin	R	Tranulis i sar., 1999.
	TGT	Cistein	C	
154	CGT	Arginin	R	Belt i sar., 1995.
	CAT	Histidin	H	
160	TAC	Tirozin	Y	Čubrić – Čurik i sar., 2009.
	GAC	Asparaginska kiselina	D	
171	CAG	Glutamin	Q	Goldmann i sar., 1990.
	CGG	Arginin	R	

	CAT	Histidin	H	Clouscard i sar., 1995.
	AAG	Lizin	K	Gombojav i sar., 2003.
175	CAG	Glutamin	Q	
	GAG	Glutamin. kiselina	E	Acin i sar., 2004.
176	AAC	Lizin	K	
	AAA	Asparagin	N	Vaccari i sar., 2001.
180	CAT	Histidin	H	Čubrić – Čurik i sar., 2009.
	TAT	Tirozin	Y	
185	ATC	Izoleucin	I	Čubrić – Čurik i sar., 2009; Zečević i sar. 2015.
	ACC	Treonin	T	
189	CAG	Glutamin	Q	
	CTA	Leucin	L	Gombojav i sar., 2003.
	CGA	Arginin	R	
211	CGG	Arginin	R	
	CAG	Glutamin	Q	Bossers i sar., 1996.
231	CGG	Arginin	R	Belt i sar., 1995;
	AGG	Arginin	R	Gombojav i sar., 2003.
237	CTC	Leucin	L	Belt i sar., 1995;
	CTG	Leucin	L	Gombojav i sar., 2003.

GENETSKI ASPEKTI BOLESTI GREBEŽI KOZE

Kao i kod ovaca, kod koza su sa genetskog aspekta pojava i razvoj bolesti povezani sa polimorfizmima na nekoliko kodona PrP gena. To su prije svega polimorfizmi na kodonima 146 (Papasavva-Stylianou i sur. 2007) i 154 (Billinis i sur. 2002). Na 146. kodonu može se javiti polimorfizam koji uključuje 3 amino kiseline, i to: asparagin, asparaginsku kiselinu i serin. Na 154 kodonu polimorfizam uključuje dvije amino kiseline arginin i histidin. Pored ovih polimorfizama, u literaturi je opisano još 46, od kojih neki predstavljaju sinonimne mutacije (tabela 4).

Tabela 4. Polimorfizmi na kodonima 18 - 231 PrP gena kod koza

Table 4. Polymorphisms at codons 18 – 231 of PrP gene in goats

Kodon	Kod	Aminokis.	Intern. oznaka aminokiseline IUPAC	Izvor
18	TGG	Triptofan	W	
	CGG	Arginin	R	Vaccari i sar., 2009.
21	GTG	Valin	V	
	GAG	Alanin	A	Billinis i sar., 2002.

23	CTC CCC	Leucin Prolin	L P	Billinis i sar., 2002.
37	GGG GCG	Glicin Valin	G V	Agrimi i sar., 2003.
39	AGC AGG	Serin Arginin	S R	Babar i sar., 2008.
42	CCA CCC	Prolin Prolin	P P	Goldmann i sar., 1996.
49	GGC AGC	Glicin Serin	G S	Billinis i sar., 2002.
101	CAG CAA	Glutamin Glutamin	Q Q	Vaccari i sar., 2009.
101	CAA CGA	Glutamin Arginin	Q R	Vaccari i sar., 2009.
102	TGG GGG	Triptofan Glicin	W G	Goldmann i sar., 1998.
107	AAG AAA	Lizin Lizin	K K	Billinis i sar., 2002.
110	ACC CCC	Treonin Prolin	T P	Agrimi i sar., 2003.
125	GTA GTC	Valin Valin	V V	Zhou i sar., 2008.
127	GGC AGC	Glicin Serin	G S	Zhang i sar., 2004; Kurosaki i sar., 2004.
133	CTG CAG	Leucin Glutamin	L Q	Accutis i sar., 2008.
137	ATG ATC	Metionin Izoleucin	M I	Accutis i sar., 2008.
138	AGC AGT	Serin Serin	S S	Goldmann i sar., 1996.
142	ATA ATG	Izoleucin Metionin	I M	Goldmann i sar., 1996.
142	ATA ACA	Izoleucin Treonin	I T	Accutis i sar., 2008.
142	ATA ATT	Izoleucin Izoleucin	I I	Vaccari i sar., 2009.
143	CAT CGT	Histidin Arginin	H R	Goldmann i sar., 1996.
146	AAT GAT	Asparagin Aspart.kis.	N D	Papasavva-Stylianou i sar., 2007.
146	AAT AGT	Asparagin Serin	N S	Zhang i sar., 2004; Kurosaki i sar., 2004.
151	CGT	Arginin	R	

	CAT	Histidin	H	Papasavva-Stylianou i sar., 2007
154	CGT	Arginin	R	Billinis i sar., 2002.
154	CAT	Histidin	H	Billinis i sar., 2002.
168	CCA	Prolin	P	Billinis i sar., 2002.
	CGA	Glutamin	Q	
179	GTG	Valin	V	Papasavva-Stylianou i sar., 2007.
	GTC	Valin	V	
181	GAC	Aspart.kis.	D	Papasavva-Stylianou i sar., 2007.
	GAT	Aspart.kis.	D	
185	ATC	Izoleucin	I	Babar i sar., 2008.
	TTC	Fenilalanin	F	
194	ACC	Treonin	T	Acutis i sar., 2008.
	CCC	Prolin	P	
201	TTC	Fenilalanin	F	Vaccari i sar., 2009.
	TTT	Fenilalanin	F	
202	ACC	Treonin	T	Acutis i sar., 2006.
	ACT	Treonin	T	
207	AAG	Lizin	K	Billinis i sar., 2002.
	AAA	Lizin	K	
211	CGA	Arginin	R	Wopfner i sar., 1999.
	CAA	Glutamin	Q	
211	CGA	Arginin	R	Zhou i sar., 2008.
	GGA	Glicin	G	
218	ATC	Izoleucin	I	Zhang i sar., 2004.
	CTC	Leucin	L	
219	ACC	Treonin	T	Zhou i sar., 2008.
	ATC	Izoleucin	I	
219	ACC	Treonin	T	Vaccari i sar., 2006.
	ACT	Treonin	T	
220	CAG	Glutamin	Q	Billinis i sar., 2002.
	CAC	Histidin	H	
222	CAG	Glutamin	Q	Agrimi i sar., 2003.
	AAG	Lizin	K	
222	CAG	Glutamin	Q	Vaccari i sar., 2009.
	CAA	Glutamin	Q	
231	AGG	Arginin	R	Zhang i sar., 2004.
	AGA	Arginin	R	
232	GGG	Glicin	G	Vaccari i sar., 2009.
	TGG	Triptofan	W	
232	GGG	Glicin	G	Vaccari i sar., 2009.
	GGA	Glicin	G	
237	CTC	Leucin	L	Babar i sar., 2008.

	CTG	Leucin	L	
240	TCC	Serin	S	Goldmann i sar., 1996.
	CCC	Prolin	P	

GENETSKI ASPEKTI KRONIČNE RAZORNE BOLESTI PROPADANJA JELENA

Utjecaj genetike na obolijevanje od grebeži, otpornost na bolest i inkubacijski period prepoznata je, ispitivana i razmatrana desetljećima. Ustanovljeno je najmanje 10 aminokiselinskih polimorfizama u protein kodirajućoj regiji kod ovaca, a aleli na 136, 154 i 171 kodonu imaju snažan utjecaj na pojavu bolesti. Genotipiziranje i selekcija na otporne genotipove oblikuje važan aspekt programa koji imaju za cilj kontrolu bolesti u Sjevernoj Americi i nekim zemljama Europe.

Istraživanja mogućih genetskih utjecaja na pojavu kronične razorne bolesti propadanja provode se u manjem intenzitetu nego što je to slučaj kod ovaca, koza i goveda. U prvoj studiji objavljen je slijed nukleotida PrP gena cervida, određeni su sljedovi aminokiselina i uspoređene sa sljedovima kod domaćih životinja. Ustanovljeno je da se bolest javlja kod cervida koji su homozigotni na 132. kodonu gdje se sintetizira metionin (M132M), (O'Rourke i sur., 1999), u usporedbi sa životinjama heterozigotnim na ovom kodonu u kombinaciji amino kiselina metionin i leucin (M132L), ili homozigotnim na leucin (L132L) na ovom lokusu. Iako je ustanovljena prirodna pojava bolesti kod jelena sa sva tri genotipa, dokazi ukazuju da bi period inkubacije mogao biti produžen kod losova sa genotipovima M132L ili L132L. U koliko su ova promatranja točna, moguće je postići određeni stupanj genetske manipulacije losova koji su u uzgoju što bi moglo biti od koristi u kontroli kronične razorne bolesti propadanja. Eksperimentalne studije sa životinjama izloženim patogenim agensima koji izazivaju TSE, inokuliranim intracerebralno, rezultirale su nešto dužim inkubacijskim periodom kod losova sa genotipom M132L u usporedbi sa životinjama homozigotnim na metionin (M132M). U svakom slučaju, utjecaj genotipa na distribuciju patogena PrP^{Sc} u mozgu i limfoidnom tkivu nije ustanovljen kod losova. Kod bjelorepih jelena se pojavljuju tri polimorfizma i to na kodonima 95 (Q95H), 96 (G96S) i 116 (A116G) i jedan kod crnorepih jelena, na kodonu 225 (S225F). Postojanje pseudogena velike sličnosti sa funkcionalnim PrP genom kod svih crnorepih jelena, kao i kod 25% populacije bjelorepih jelena, komplicira inicijalna proučavanja sljedova prionskog proteina kod jelena. Neki sljedovi amino kiselina koje su ustanovljeni prije otkrivanja ovih pseudogena bilježe polimorfizam na 138 kodonu (S138A), međutim kasnije je ustanovljeno da se na ovom lokusu kodira samo serin od strane funkcionalnog PrP gena jelena. U populaciji jelena, u kojoj je velika učestalost pojave kronične razorne bolesti propadanja prisustvo pseudogena nema utjecaja na pojavu ili nestanak bolesti.

Dosadašnji rezultati ukazuju da jeleni svih genotipova mogu oboljeti od kronične razorne bolesti propadanja. Kronična razorna bolest propadanja je dijagnosticirana u svim većinskim genotipovima bjelorepih jelena u istraživanjima koja su provedena u Wisconsinu i Nebrasci (USA) i samo je za nekoliko jelena, koji su bili homozigoti na

serin na kodonu 96, više nego što je statistički očekivano, ustanovljena kronična razorna bolest propadanja (Johnson i sur., 2003; O'Rourke i sur., 2004).

Istraživanja koja su provedena na crnorepim jelenima držanim u zatočeništvu pokazala su da životinje homozigoti na serin/fenilalanin na kodonu 225 (S225F) mogu biti inficirane oralnim unosom patogenog agensa, ali imaju produženo vrijeme inkubacije bolesti u usporedbi sa životinjama koje su homozigoti na ovom kodonu (S225S), (Jewell i sur., 2005). U endemskim područjima ove bolesti u Wyomingu i Coloradu (USA) utvrđeno je da je genotip S225F manje frekventan kod oboljelih životinja u cijeloj populaciji gdje je bilo 296 pozitivnih životinja uključujući jednu koja je bila nosilac genotipa S225F i 295 životinja koje su bile nosioci genotipa S225S, dok je statistički očekivano 22 životinje sa genotipom S225F.

Pored polimorfizama na 132 i 225 kodonu za koje je ustanovljeno da imaju određeni utjecaj na razvoj bolesti, odnosno u svakom slučaju na produženje perioda inkubacije, kod jelena su u istraživanjima evidentirane i mutacije na G59S, T98A, P168S, Q226E i tihe mutacije na kodonima 15, 21, 78, 79 i 136 (Williams, 2005).

Kod jelena, utjecaj genotipa na period inkubacije kronične razorne bolesti propadanja i njenu patogenezu zahtjeva daljnja istraživanja. Iako niti jedan genotip ne može osigurati apsolutnu otpornost na bolest, ako je period inkubacije i patogenezu pod utjecajem genotipa kao što je to slučaj kod ovaca kad je u pitanju grebež, to može imati utjecaja na razvoj strategija za kontrolu ove bolesti.

Tabela 5. Polimorfizmi na kodonima 59 - 226 PrP gena kod jelena
Table. 5. Polymorphisms on codons 59 – 226 of PrP gene in deers

Kodon	Kod	Aminokis.	Intern. oznaka aminokiseline IUPAC	Izvor
59	GGC	Glicin	G	Williams, 2005.
	AGC	Serin	S	
95	CAA	Glutamin	Q	Johnson i sar., 2003.
	CAT	Histidin	H	
96	GGT	Glicin	G	O'Rourke i sar., 2004.
	AGT	Serin	S	
98	ACC	Treonin	T	Williams, 2005.
	GCC	Alanin	A	
116	GCA	Alanin	A	Johnson i sar., 2003.
	GGA	Glicin	G	
168	CCC	Prolin	P	Williams, 2005.
	TCC	Serin	S	
132	ATG	Metionin	M	O'Rourke i sar., 1999.
	CTG	Leucin	L	
138	TCC	Serin	S	Johnson i sar., 2005.
	GCC	Alanin	A	
225	TCT	Serin	S	

	TTT	Fenilalanin Valin	F	Williams, 2005; Zečević i sar. 2019.
226	CGA GGA	Glutamin Glutamin.kis.	Q E	Williams, 2005.

ZAKLJUČAK

Da su Transmisivne spongioformne encefalopatije ozbiljan problem u lancu sigurnosti hrane pokazuje niz zakonskih akata koji su izdati tijekom niza godina radi ustanovljavanja pravila za kontrolu pojave i suzbijanja transmisivnih spongioformnih encefalopatija jer one pripadaju skupini bolesti koje su potencijalno prenosive na ljude. Posebna opasnost izražena je u mogućoj zarazi ovaca sa TSE, jer takva zaraza može biti prikrivena obzirom da su simptomi grebeži ovaca i TSE dosta slični.

Kronična razorna bolest propadanja također spada u skupinu transmisivnih spongioformnih encefalopatija i prisutna je općenito u populacijama cervida (*cervidae*). Bolest se javlja kod životinja u divljini kao i kod životinja u farmskom uzgoju. Radi duge inkubacije bolest se teško ustanovljava kod životinja u divljini, jer uslijed oboljenja živčanog sustava, i opće slabosti životinje postaju lak plijen predatorima.

LITERATURA

- Griffith, J. S. (1967): Self replication and scrapie. *Nature*, 215: 1043 – 1044
- Prusiner, S. B. (1998): Prions. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*, 95: 13363 – 13383
- Prusiner, S. B. (1982): Novel proteinaceous infectious particles cause scrapie. *Science*, 216: 136 – 144
- Williams, E. S. (2005): Chronic Wasting Disease. *Veterinarian Pathology*, 42: 530 – 549
- Williams, E. S., Young, S. (1980): Chronic wasting disease of captive mule deer: a spongiform encephalopathy. *J. Wildl.Dis.* 16(1):89 – 98
- Williams, E. S., Young, S. (1982): Spongiform encephalopathy of Rocky Mountain elk. *J. Wildl.Dis.* 18(4):465 – 471
- Ryan A. M., Womack J. E. (1993). Somatic cell mapping of the bovine prion protein gene and restriction fragment length polymorphism studies in cattle and sheep. *Anim. Genet.* 24: 23-26
- Horiuchi M., Mochizuki M., Ishiguro N., Nagasawa H., Shinagawa M. (1997). Epitope mapping of a monoclonal antibody specific to feline panleukopenia virus and mink enteritis virus. *J Vet Med Sci* 59:133–136.
- Lee, I. Y., Westaway, D., Smit, A. F., Wang, K., Seto, J., Chen, L., Acharya, C., Ankener, M., Baskin, D. (1998): Complete genomic sequence and analysis of the prion protein gene region from three mammalian species. *Genome Res* 8, 1022–1037.

- Dawson, M., Hoinville, L. J., Hunter, N. (1998): Guidance on the use of PrP genotyping as an aid to the control of clinical scrapie. Scrapie Information Group. *Vet Rec*;142(23):623-5.
- Čubrić Čurik, V. (2009). Raznolikost prionskog gena ovaca hrvatskog priobalja i otoka. Doktorski rad, Sveučilište u Zagrebu, Agronomski fakultet. Zagreb.
- Laplanche, J. L., Chatelain, J., Beaudry, P., Dussaucy, M., Bounneau, C. Launay, J. M. (1993). French autochthonous scrapied sheep without the 136Val PrP polymorphism. *Mammalian Genome* 4, 463-464.
- Ikeda, T., Horiuchi, M., Ishiguro, N., Muramatsu, Y., Kai-Uwe, G. D. & Shinagawa, M. (1995). Amino acid polymorphisms of PrP with reference to onset of scrapie in Suffolk and Corriedale sheep in Japan. *Journal of General Virology* 76, 2577–2581.
- Ishiguro, N., Shinagawa, M., Onoe, S., Yamanouchi, K., Saito T. (1998): Rapid Analysis of Allelic Variants of the Sheep PrP Gene by Oligonucleotide Probes. *Microbiol. Immunol.*, 42(8), 579-582.
- Gombojav, A., Ishiguro, N., Horiuchi, M., [Serjmyadag](#), D. (2003): Amino Acid Polymorphisms of PrP Gene in Mongolian Sheep. [Journal of Veterinary Medical Science](#) 65(1):75-81
- Belt, P. B. G. M., [Van der Meulen-Muileman](#), I., [Schreuder](#), B. E. C., [Bos-de Ruijter](#), J. (1995): Identification of five allelic variants of the sheep PrP gene and their association with natural scrapie. [Journal of General Virology](#) 76: 509-17
- Bossers, A, Belt, P. B. G. M., Raymond, G. J., Caughey, B., De Vries, R., Smits, M. A. (1996): Scrapie susceptibility-linked polymorphisms modulate the in vitro conversion of sheep prion protein to protease-resistant forms. *Proc Natl Acad Sci USA*; 94:4931–4936.
- Tranulis, M. A., Osland, A., Bratberg, B., Ulvund, M. J. (1999): Prion protein gene polymorphisms in sheep with natural scrapie and healthy controls in Norway. [Journal of General Virology](#) 80:1073-7
- O'Rourke, K. I., Besser, T. E., Miller, M. W., Cline, T. F., Spraker, T. R., Jenny, A. L., Wild, M. A., Zebarth, G. L., Williams, E. S. (2000): PrP genotypes of captive and free – ranging Rocky Mountain elk (*Cervus elaphus nelsoni*) with chronic wasting disease. *Journal General Virology*, 80: 2765 – 2769
- Goldmann W., Hunter N., Foster JD., Salbaum JM., Beyreuther K., Hope J. (1990): Two alleles of a neural protein gene linked to scrapie in sheep. *Proceedings of the National Academy of Science, U.S.A*; 87: 2476 - 2480.
- Cloucard C., Beaudry P., Elsen JM., Milan D., Dussaucy M., Bounneau C., Schelcher F., Chatelain J., Launay JM., Laplanche JL. (1995): Different allelic effects of the codons 136 and 171 of the prion protein gene in sheep with natural scrapie. *Journal of General Virology*; 76: 2097 - 2101.
- Acin, C., Martin-Burriel, I., Goldmann, W., Lyhyai, J. (2004): Prion protein gene polymorphisms in healthy and scrapie-affected Spanish sheep. *Journal of General Virology* 85: 2103-10

- Vaccari, G., Petraroli, R., Agrimi, U., Eleni, C. (2001): PrP genotype in Sarda breed sheep and its relevance to scrapie. Brief report. Archives of Virology 146(10): 2029-37
- Vaccari G, Panagiotidis C. H., Acin C., Peletto S., Barillet F., Acutis P., Bossers A., Langeveld J., Van Keulen L.. (2009): State-of-the-art review of goat TSE in the European Union, with special emphasis on PRNP genetics and epidemiology. Vet Res. 40:48
- Billinis, C., Panagiotidis, C. H., Psychas, V., Aryroudou, S., Nicolaou, A., Leontides, S., Papadopoulos, O., Sklaviadis, T. (2002): Prion protein gene polymorphisms in natural goat scrapie. Journal of General Virology, 83: 713 – 721
- Agrimi, U., Conte, M., Morelli, L., Di Bari, M. A. (2003): Animal Transmissible Spongiform Encephalopathies and Genetics. Veterinary Research Communications 27 (1):31-8
- Babar, M. E., Nawaz, M., Nasim, A., Abdullah, M., Imran, M., Jabeen, R., Chatha, S. A., Haq, A. U., Nawaz, A., Mustafa, H., Nadeem, A. (2008): Prion protein genotypes in Pakistani goats. Asian – Australasian Journal of Animal Sciences
- Goldmann, W., Martin, T., Foster, J., Hughes, S. (1996): Novel polymorphisms in the caprine PrP gene: A codon 142 mutation associated with scrapie incubation period. Journal of General Virology 77: 2885-91
- Williams, E. S. (2005): Chronic Wasting Disease. Veterinarian Pathology, 42: 530 – 549
- Johnson, C., Johnson, J., Clayton, M., McKenzie, D., Aiken, J. (2003): Prion protein gene heterogeneity in free – ranging white – tailed deer within the chronic wasting disease affected region of Wisconsin. Journal Wildlife Disease, 39: 576 – 581
- Johnson, C., Johnson, J., Vanderloo, J. P., Keane, D., Aiken, J. M., McKenzie, D. (2006): Prion protein polymorphisms in white – tailed deer influence susceptibility to chronic wasting disease. Journal of General Virology, 87: 2109 – 2114
- O'Rourke, K. I., Besser, T. E., Miller, M. W., Cline, T. F., Spraker, T. R., Jenny, A. L., Wild, M. A., Zebbarth, G. L., Williams, E. S. (1999): PrP genotypes of captive and free – ranging Rocky Mountain elk (*Cervus elaphus nelsoni*) with chronic wasting disease. Journal General Virology, 80: 2765 – 2769
- O'Rourke, K. I., Sparker, T. R., Hamburg, L. K., Besser, T. E., Brayton, K. A., Knowles, D. P. (2004): Polymorphisms in the prion precursor functional gene but not the pseudogene are associated with susceptibility to chronic wasting disease in white – tailed deer. Journal General Virology, 85: 1339 – 1346
- Zečević, E., Dokso, A., Kazic, A., Brka, M. (2015): Polymorphisms of ovine prion protein (PrP) gene in Pramenka sheep breed population in Bosnia and Herzegovina. Turk J Vet Anim Sci. 39: 537-542

GENETIC ASPECTS IN TRANSMISSIBLE SPONGIFORM ENCEPHALOPATHIES

Summary

Transmissible spongiform encephalopathy's (TSE) are a group of infectious neurodegenerative diseases that attack the nerve tissue by creating clusters of prion particles in it. The ultimate outcome of this disease is deadly, and their agent is a prion, a cellular glycoprotein that has two forms, with no infectious α - helix, which is denoted PrP^C and infectious, with β - pleated sheet and label PrP^{Sc} through. This disease is characteristic of many mammals including man. Studies have shown that there is a genetic predisposition for the disease or resistance to it.

Key words: *TSE, PrP gene, Scrapie*