



ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΙΩΑΝΝΙΝΩΝ  
ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ  
ΤΜΗΜΑ ΙΑΤΡΙΚΗΣ



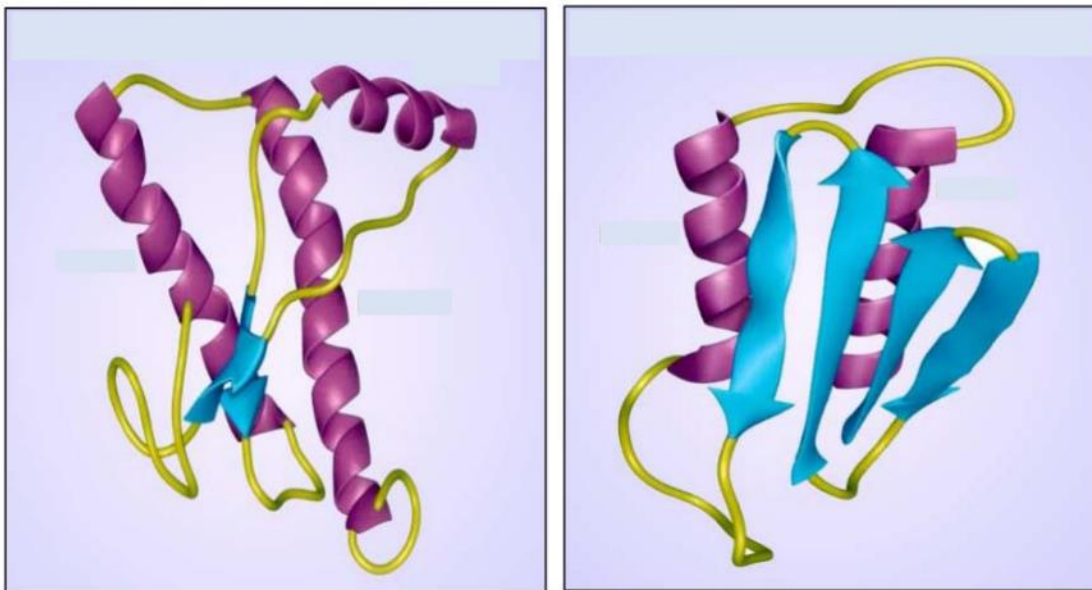
Μεταπτυχιακό πρόγραμμα «βασικές βιοϊατρικές επιστήμες (BBE)»  
Μεταπτυχιακό Δίπλωμα Ειδίκευσης (ΜΔΕ)

Τίτλος:

*Α*σθένειες των “Prions”

Θεραπευτικές προσεγγίσεις

(2021)



Όνοματεπώνυμο: Γουδετσίδης Ιωάννης

Επιβλέπων καθηγητής: Αγγελίδης Χαράλαμπος, Ομότιμος Καθηγητής Βιολογίας  
Ιατρικού Τμήματος Πανεπιστημίου Ιωαννίνων

Ιωάννινα 2024





**ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΙΩΑΝΝΙΝΩΝ  
ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ  
ΤΜΗΜΑ ΙΑΤΡΙΚΗΣ**



**Μεταπτυχιακό πρόγραμμα «βασικές βιοϊατρικές επιστήμες (ΒΒΕ)»  
Μεταπτυχιακό Δίπλωμα Ειδίκευσης (ΜΔΕ)**

**Τίτλος:**

**Ασθένειες των “Prions”**

**Θεραπευτικές προσεγγίσεις**

**(2021)**

**Όνοματεπώνυμο: Γουδετσίδης Ιωάννης**

**Επιβλέπων καθηγητής: Αγγελίδης Χαράλαμπος, Ομότιμος Καθηγητής Βιολογίας  
Ιατρικού Τμήματος Πανεπιστημίου Ιωαννίνων**

**Ιωάννινα 2024**



**Μεταπτυχιακό πρόγραμμα «βασικές βιοϊατρικές επιστήμες (BBE)»**

**Μεταπτυχιακό Δίπλωμα Ειδίκευσης (ΜΔΕ)**

**Τίτλος:**

***Α*σθένειες των “Prions”**

**Θεραπευτικές προσεγγίσεις**

**(2021)**

**Όνοματεπώνυμο: Γουδετσίδης Ιωάννης**

**Επιβλέπων καθηγητής: Αγγελίδης Χαράλαμπος, Ομότιμος Καθηγητής Βιολογίας  
Ιατρικού Τμήματος Πανεπιστημίου Ιωαννίνων**

**Ιωάννινα 2024**

«Η έγκριση της Μεταπτυχιακού Διπλώματος Ειδίκευσης από το Τμήμα Ιατρικής του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων δεν υποδηλώνει αποδοχή των γνώμων του συγγραφέα Ν. 5343/32, άρθρο 202, παράγραφος 2 (νομική κατοχύρωση του Ιατρικού Τμήματος)».

Όνοματεπώνυμο: Γουδετσίδης Ιωάννης

Τίτλος του Μεταπτυχιακού Διπλώματος Ειδίκευσης: Ασθένειες των Prions,  
Θεραπευτικές προσεγγίσεις (2021).

Ημερομηνία παρουσίασης: 22/02/2024

Επιβλέπων καθηγητής: Αγγελίδης Χαράλαμπος, Ομότιμος Καθηγητής Βιολογίας  
Ιατρικού Τμήματος Πανεπιστημίου Ιωαννίνων

Εξεταστική Επιτροπή :

**Αγγελίδης Χαράλαμπος**, Ομότιμος Καθηγητής, Ιατρικού Τμήματος, Πανεπιστημίου  
Ιωαννίνων

**Βεζυράκη Πατρόνα**, Καθηγήτρια Φυσιολογίας, Ιατρικού Τμήματος, Πανεπιστημίου  
Ιωαννίνων.

**Τσάμης Κωνσταντίνος**, Επίκουρος Καθηγητής Φυσιολογίας, Ιατρικού Τμήματος,  
Πανεπιστημίου Ιωαννίνων





*Το σύγγραμμα αυτό είναι αφιερωμένο στην οικογένεια μου.*



## ΠΕ ΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ .....	13
ΣΥΝΤΟΜΟΓΡΑΦΙΕΣ .....	15
ΠΕΡΙΛΗΨΗ .....	21
ABSTRACT .....	23
<b>ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1: ΟΙ PRION ΠΡΩΤΕΙΝΕΣ .....</b>	<b>25</b>
1.1. ΕΣΑΓΩΓΙΚΑ ΣΤΟΙΧΕΙΑ ΠΕΡΙ PRION DISEASES .....	26
1.2. ΟΙΚΟΓΕΝΕΙΑ ΝΕΥΡΟΕΚΦΥΛΙΣΤΙΚΩΝ ΝΟΣΗΜΑΤΩΝ ΚΑΙ PRIONS .....	28
1.3. ΒΡΑΒΕΙΟ PRUSINER .....	30
<b>ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2: ΙΣΤΟΡΙΚΗ ΑΝΑΔΡΟΜΗ .....</b>	<b>31</b>
2.1. Η ΙΣΤΟΡΙΚΗ ΑΝΑΔΡΟΜΗ ΤΗΣ ΜΕΤΑΔΟΤΙΚΗΣ ΣΠΟΓΓΩΔΟΥΣ ΕΓΚΕΦΑΛΟΠΑΘΕΙΑΣ ΣΤΑ ΖΩΑ .....	32
2.2. Η ΙΣΤΟΡΙΚΗ ΑΝΑΔΡΟΜΗ ΤΗΣ ΜΕΤΑΔΟΤΙΚΗΣ ΣΠΟΓΓΩΔΟΥΣ ΕΓΚΕΦΑΛΟΠΑΘΕΙΑΣ ΣΤΟΥΣ ΑΝΘΡΩΠΟΥΣ .....	33
<b>ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3: ΜΕΤΑΔΟΤΙΚΕΣ ΣΠΟΓΓΩΔΕΙΣ ΕΚΕΦΑΛΟΠΑΘΕΙΕΣ (ΜΣΕ) ή ΝΟΣΟΙ ΤΩΝ PRIONS ΣΤΑ ΖΩΑ ΚΑΙ ΣΤΟΝ ΑΝΘΡΩΠΟ .....</b>	<b>37</b>
3.1. ΕΙΣΑΓΩΓΙΚΑ ΣΤΟΙΧΕΙΑ ΠΕΡΙ PRIONS .....	38
3.2. Η ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΚΗ ΜΟΡΦΗ (PrP <sup>C</sup> : CELLULAR PRION PROTEIN) .....	38
3.2.1. Η Δομή της PrP <sup>C</sup> .....	39
3.2.2. Από το Γονίδιο στην Λειτουργία της Πρωτεΐνης PrP <sup>C</sup> .....	41
3.2.3. Διάφοροι Ρόλοι της PrP <sup>C</sup> στη Λειτουργία του ΚΝΣ .....	42
Η συμβολή της PrP <sup>C</sup> στην Νευρογένεση και διαφοροποίηση των νευρώνων .....	42
Εξισορρόπηση νευροπροστασίας και νευροτοξικότητας από την PrP <sup>C</sup> .....	43
Η PrP <sup>C</sup> στα νευρογλοιακά κύτταρα .....	44
Η μεταλλική σύνδεση της PrP <sup>C</sup> με ιόντα μετάλλων .....	44
Εμπλοκή της PrP <sup>C</sup> με τους υποδοχείς νευροδιαβιβαστών στις νευροδιαβιβαστικές λειτουργίες .....	46
3.2.4. Ο Προστατευτικός Ρόλος της PrP <sup>C</sup> στο Στρες .....	46
Προστασία της PrP <sup>C</sup> από το οξειδωτικό στρες .....	46
Η Προστασία της PrP <sup>C</sup> από το γονιδιοτοξικό στρες .....	46
Ο Προστατευτικός ρόλος της PrP <sup>C</sup> από την απόπτωση .....	47
PrP <sup>C</sup> , ένα μόριο που επηρεάζει το ανοσοποιητικό .....	47
Η συμμετοχή της PrP <sup>C</sup> στην Πρωτεόσταση .....	49
3.2.5. Η PrP <sup>C</sup> στην Προσκόλληση Κυττάρων και την Διακυτταρική Σύσταση ....	50
3.2.6. Η Συμμετοχή της PrP <sup>C</sup> στην Σηματοδότηση των Κυττάρων .....	51
3.2.7. Η Σύνδεση της PrP <sup>C</sup> με διάφορα Μόρια .....	52
3.2.8. Κυτταρική Πρωτεΐνη Prion (PrP <sup>C</sup> ) και Καρκίνοι .....	53
Εισαγωγικά στοιχεία .....	53
Διάφορες μορφές καρκίνου και PrP <sup>C</sup> .....	54
3.3. ΤΡΟΠΟΠΟΙΗΜΕΝΗ ΜΟΡΦΗ (PrP <sup>Sc</sup> ) .....	56
3.3.1. Η Διαδρομή Μετατροπής της PrP <sup>C</sup> στην PrP <sup>Sc</sup> .....	57
3.4. ΠΕΡΙ ΜΟΛΥΣΜΑΤΙΚΟΤΗΤΑΣ ΤΗΣ PrP <sup>C</sup> .....	58
3.5. ΠΕΡΙ ΑΡΧΙΚΟΥ ΕΡΕΘΙΣΜΑΤΟΣ ΚΑΙ ΑΙΤΙΟΥ ΤΩΝ ΝΟΣΩΝ .....	60

3.5.1. Μηχανισμοί νευροεκφυλισμού και νευροτοξικότητας .....	60
3.5.2. Η αλληλοεπίδραση της εξωκυτταρικής και ενδοκυτταρικής τοξικότητας ...	60
3.6. ΤΡΟΠΟΙ ΚΑΙ ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΙ ΜΟΛΥΝΣΗΣ .....	63
3.6.1. Διάφοροι τρόποι μετάδοσης .....	63
3.6.2. Η διαδρομή εισβολής από το έντερο στον εγκέφαλο .....	64
3.6.3. Διασπορά από κύτταρο σε κύτταρο .....	66
<b>ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4: ΑΣΘΕΝΕΙΕΣ PRION ΣΤΟΥΣ ΑΝΘΡΩΠΟΥΣ .....</b>	<b>69</b>
4.1. ΙΔΙΟΠΑΘΕΙΣ ΑΣΘΕΝΕΙΕΣ PRION (ΣΠΟΡΑΔΙΚΕΣ) .....	71
α) Η σποραδική CJD (sCJD) .....	71
β) Σποραδική θανατηφόρα αιπνία (sFI) .....	73
γ) Παραλλαγή της ασθένειας prion με ευαισθησία στην πρωτεάση (VPSPR) .....	73
4.2. ΟΙ ΓΕΝΕΤΙΚΕΣ ΑΣΘΕΝΕΙΕΣ PRION (ΚΛΗΡΟΝΟΜΙΚΕΣ) .....	74
4.3. ΕΠΙΚΤΗΤΕΣ ΑΣΘΕΝΕΙΕΣ PRION (ΜΟΛΥΣΜΑΤΙΚΕΣ) .....	75
α) Kuru .....	75
β) Ιατρογενής CJD (iCJD) .....	75
γ) Παραλλαγή της CJD (vCJD) .....	76
<b>ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5: ΑΣΘΕΝΕΙΕΣ PRION ΣΤΑ ΖΩΑ .....</b>	<b>79</b>
5.1. Η ΣΠΟΓΓΩΔΗΣ ΕΓΚΕΦΑΛΟΠΑΘΕΙΑ ΤΩΝ ΒΟΟΕΙΔΩΝ (ΣΕΒ) .....	80
5.1.1. Εισαγωγικά στοιχεία .....	80
5.1.2. Επιδημιολογία της ΣΕΒ .....	81
5.1.3. Παθογένεση-Τύποι της ΣΕΒ στα βοοειδή .....	81
5.1.4. Η πρόελευση της ΣΕΒ .....	83
5.1.5. Κλινικά συμπτώματα .....	84
5.1.6. Σχέση με τη Δημόσια Υγεία .....	86
5.2. Η ΤΡΟΜΩΔΗΣ ΝΟΣΟΣ (SCRAPIE) .....	86
5.2.1. Εισαγωγικά στοιχεία .....	86
5.2.2. Μετάδοση και παθογένεια στα πρόβατα και τις αίγες .....	87
5.2.3. Κατανομή της τρομώδους νόσου σε ιστούς προβάτων .....	88
5.2.4. Συμπτώματα της νόσου στα πρόβατα και τις αίγες .....	88
5.2.5. Γενετική επίδραση .....	89
5.2.6. Επιδημιολογία .....	92
5.2.7. Σχέση με τη Δημόσια Υγεία .....	96
<b>ΚΕΦΑΛΑΙΟ 6: ΘΕΡΑΠΕΥΤΙΚΕΣ ΠΡΟΣΕΓΓΙΣΕΙΣ .....</b>	<b>97</b>
6.1. ΘΕΡΑΠΕΙΑ .....	98
6.2. ΕΡΕΥΝΗΤΙΚΑ ΦΑΡΜΑΚΑ - ΧΗΜΕΙΟΘΕΡΑΠΕΥΤΙΚΗ ΠΡΟΣΕΓΓΙΣΗ .....	98
6.3. ΑΝΟΣΟΘΕΡΑΠΕΙΕΣ ΓΙΑ ΤΗ ΘΕΡΑΠΕΙΑ ΑΣΘΕΝΕΙΩΝ PRION .....	105
6.4. ΘΕΡΑΠΕΙΑ ΜΕ ΒΛΑΣΤΟΚΥΤΤΑΡΑ .....	106
6.5. ΣΚΕΨΕΙΣ ΕΠΙ ΤΩΝ ΘΕΡΑΠΕΙΩΝ .....	106
<b>ΚΕΦΑΛΑΙΟ 7: ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ – ΜΕΘΟΔΟΙ ΔΙΑΓΝΩΣΗΣ .....</b>	<b>107</b>
7.1. ΔΙΑΓΝΩΣΤΙΚΕΣ ΚΛΙΝΙΚΕΣ ΔΟΚΙΜΕΣ ΣΕ ΑΣΘΕΝΕΙΕΣ PRION ΤΩΝ ΑΝΘΡΩΠΩΝ .....	108
7.1.1. Η διάγνωση της Σποραδικής CJD .....	109
7.1.2. Η διάγνωση της Παραλλαγής CJD .....	110
7.1.3. Μικροσκοπική παθολογική διάγνωση .....	111

7.1.4. Η μέθοδος ανοσοαποτύπωσης (western blot) .....	111
7.1.5. Ανοσοϊστοχημεία για την ανίχνευση της PrP .....	112
7.2. ΔΙΑΓΝΩΣΤΙΚΕΣ ΔΟΚΙΜΕΣ ΣΕ ΒΟΟΕΙΔΗ ΚΑΙ ΑΙΓΟΠΡΟΒΑΤΑ .....	112
7.2.1. Εργαστηριακές μέθοδοι διάγνωσης της ΣΕΒ .....	114
7.2.2. Εργαστηριακές μέθοδοι διάγνωσης των ΜΣΕ στα μικρά μηρυκαστικά ....	115
7.2.3. Διάφορες άλλες Διαγνωστικές μέθοδοι στα Βοοειδή και τα Αιγοπρόβατα	116
<b>ΚΕΦΑΛΑΙΟ 8: ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ.....</b>	<b>119</b>



## **ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ**

Η παρούσα διπλωματική εργασία συντάχθηκε κατά τη διάρκεια του ακαδημαϊκού έτους 2020-2024 στο πλαίσιο του Μεταπτυχιακού Προγράμματος Σπουδών «Βασικές Βιοϊατρικές Επιστήμες» του Τμήματος Ιατρικής του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων. Θα ήθελα να εκφράσω τις θερμές μου ευχαριστίες στον Ομότιμο Καθηγητή Γενικής Βιολογίας, κ. Αγγελίδη Χαράλαμπο για την ανάθεση της διπλωματικής αυτής εργασίας καθώς και τη σημαντική καθοδήγηση του σε όλα τα ζητήματα που προέκυψαν κατά την διάρκεια της εκπόνησης της. Επίσης, θα ήθελα να ευχαριστήσω θερμά, καθένα ξεχωριστά, όλους τους διδάσκοντες του μεταπτυχιακού προγράμματος για την ενεργό παρουσία τους, το πάθος τους και την μετάδοση της ποιοτικής τους γνώσης.





## ΣΥΝΤΟΜΟΓΡΑΦΙΕΣ

Ab: Antibody

Abeta: Alzheimer beta-amyloid: Αλτσχάιμερ βήτα αμυλοιδές

Ach: Acetylcholine

AChE: Acetylcholinesterase

AD: Alzheimer's disease Ασθένεια Αλτσχάιμερ

ALS: amyotrophic lateral sclerosis, Αμυοτροφική Πλάγια Σκλήρυνση

AMPA:  $\alpha$ -Amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazolepropionic acid receptor

ApoE: Apolipoprotein E, Απολιποπρωτεΐνη E

APP: Amyloid precursor protein, πρόδρομη αμυλοειδής πρωτεΐνη

AS: atypical scrapie, άτυπη τρομώδης νόσος

AS: atypical scrapie, άτυπη τρομώδης νόσος

ATM kinase: serine/threonine protein kinase, σερίνης/θρεονίνης πρωτεϊνκινάση

ATP: Adenosine triphosphate, Τριφωσφορική αδενοσίνη

A $\beta$ : Amyloid- $\beta$ , Αμυλοειδές- $\beta$

BASE: Bovine Amyloidotic Spongiform Encephalopathy, αμυλοειδωτική σπογγώδης εγκεφαλοπάθεια βοοειδών

Bax: πρωτεΐνη που ρυθμίζει την απόπτωση

Bcl-2: B-cell lymphoma 2, λέμφωμα B-κυττάρων 2,

BDNF: Brain-derived neurotropic factor, Νευροτροφικός παράγοντας που προέρχεται από τον εγκέφαλο

BiP: Binding immunoglobulin protein, Σύνδεση πρωτεΐνης ανοσοσφαιρίνης

cAMP: Cyclic adenosine monophosphate Κυκλική μονοφωσφορική αδενοσίνη

Caspr: contactin-associated protein, συνδεδεμένης-πρωτεΐνης

CD: cluster of differentiation, σύμπλεγμα διαφοροποίησης

CJD: Creutzfeldt - Jakob disease, Νόσος Creutzfeldt-Jacob

CS: classical scrapie, κλασική τρομώδης νόσος

CT: Computed tomography Αξονική τομογραφία

Ctm PrP: C-terminus PrP, Καρβοξυ(C)-άκρο της PrP

CWD: Chronic Wasting Disease of Deer and Elk, Χρόνια Ατροφική Νόσος των ελαφοειδών

DLMs: dorsal longitudinal flight muscles, ραχιαίοι διαμήκεις μύες πτήσης στις δροσόφιλες

DC: Dendritic Cells: Δενδριτικά κύτταρα

DNA: Deoxyribonucleic acid, Δεοξυριβονουκλεϊνικό οξύ

ECM: Extracellular Matrix, εξωκυτταρική μήτρα ή εξωκυττάρια θεμέλια ουσία

eIF2 $\alpha$ :  $\alpha$  subunit of the eukaryotic translation initiation factor 2, υπομονάδα  $\alpha$  του ευκαρυωτικού παράγοντα έναρξης μετάφρασης 2

Endonuclease APE1: Apurinic/apyrimidinic endonuclease 1, ενδονουκλεάση 1 πουρίνης/πυριμιδίνης

ER: ενδοπλασματικό δίκτυο

ERK: Extracellular signal regulated kinase, Κινάση εξαρτώμενη από εξωκυττάρια σήματα

Fab: Fraction of antigen binding, Περιοχή αντισώματος για την πρόσδεση του αντιγόνου

FAE: Follicle-associated epithelium, Συνδετικά θυλάκια επιθηλίου

FDC: follicular dendritic cells, θηλακοειδή δενδριτικά κύτταρα

FFI: Fatal Familial Insomnia, Οικογενής Θανατηφόρος Αϋπνία

FLNA: Filamin A, Φιλαμίνη A

FOXO3A: Forkhead box O3, πλαίσιο διχαλωτής κεφαλής οξυγόνου 3A

FSE: Feline Spongiform Encephalopathy, Σπογγώδης Εγκεφαλοπάθεια της Γάτας

FTD: frontotemporal dementia, μετωποκροταφική άνοια

FTIR: Fourier Transform Infrared Spectroscopy, φασματοσκοπία υπερόθρων μετασχηματισμού Fourier

GD: Globular Domain (σφαιρική περιοχή ή τομέας ή σφαιρικό πεδίο ορισμού)

GFAP: glial fibrillary acidic protein, νευρογλοιακή ινιδική όξινη πρωτεΐνη

GH: Αυξητική ορμόνη

GPI: Glycosylphosphatidylinositol, γλυκοζυλοφωσφατιδυλινοσιτόλη

GSS: Gerstmann-Straussler-Scheinker, Σύνδρομο Gerstmann-Straussler-Scheinker

GWAS: genome-wide association studies - μελέτες συσχέτισης σε όλο το γονιδίωμα ή μελέτες σύνδεσης στο γονιδίωμα

HaPrP: Prion πρωτεΐνη κρηκτικού (χάμστερ)

HE: Hematoxylin and Eosin, Αιματοξυλίνη-Εωσίνη

HSF1: Heat shock factor 1, παράγοντας θερμικού σοκ 1

HSP: Πρωτεΐνη θερμικού σοκ

htau: Human tau Ανθρώπινη ταυ

HuPrP: Ανθρώπινη prion πρωτεΐνη

IL -1, -2: Interleukins, Ιντερλευκίνες με διαφορετικού τύπου ενέργειες

iPrPC: insoluble PrPC, αδιάλυτη PrPC

KDa: KiloDalton

LAMP1: Lysosomal-associated membrane protein 1, Πρωτεΐνη μεμβράνης 1 που σχετίζεται με λυσοσώματα

Ic/ms/ms: Φασματοσκοπία μάζας υγρής χρωματογραφίας

LPS: Lipopolysaccharides, λιποπολυσακχαρίτες

MBM: meat bone meal, γεύμα από κρέας οστά (οστεοκρεατάλευρα)

miRNA: Micro RNA Μικρο RNA

MoPrP: Prion πρωτεΐνη ποντικού

MRI: Magnetic resonance imaging Μαγνητική τομογραφία

mRNA: Messenger RNA Αγγελιοφόρο RNA

MSCs: Mesenchymal stem cells, μεσεγχυματικά βλαστοκύτταρα

mTOR: mechanistic target of rapamycin, μηχανιστικός στόχος της ραπαμυκίνης

MVBs: Multivesicular bodies, πολυκυστιδικά σωμάτια

NCAM: neural cell adhesion molecule, μόριο προσκόλλησης νευρικών κυττάρων

NFTs: Neurofibrillary tangles Νευροϊνιδικά μπερδέματα

NGS: next-generation sequencing - αλληλούχιση επόμενης γενιάς

NMDAR: υποδοχείς NMDA των νευρικών κυττάρων

NMR: nuclear magnetic resonance, πυρηνικός μαγνητικός συντονισμός

NO: Nitric oxide Οξείδιο του αζώτου

NOS: Συνθετάση νιτρικού οξέος

Ntm PrP: N-terminus PrP, αμινικό(N)-άκρο της PrP

OR: Octarepeat, οκτωεπανάληψη

OnPrP: Prion πρωτεΐνη προβάτου

OnPrP: Prion πρωτεΐνη προβάτου

p.o.: per os, από το στόμα

P53: κυτόχρωμα

PDAC: Pancreatic ductal carcinoma, καρκίνωμα του παγκρεατικού πόρου

PERK: Protein kinase RNA- like endoplasmic reticulum kinase, πρωτεϊνική κινάση RNA- όμοια με ενδοπλασματική κινάση

PET: Positron emission tomography Τομογραφία εκπομπής ποζιτρονίων

PI3-K: Κινάση της φωσφατιδυλινοσιτόλης

PK: Proteinase K, Πρωτεϊνάση K

PM: plasma membrane: Πλασματική μεμβράνη

PMCA: (Protein Misfolding Cyclic Amplification) κύκλοι ενίσχυσης της ελαττωματικής διαμόρφωσης πρωτεϊνών (Protein Misfolding Cyclic Amplification)

PMs: σημειακών μεταλλάξεων

PrDs: prion diseases

PRNP: Gene encoding the human prion protein Γονίδιο prion πρωτεΐνης

PrPc: cellular Prion Protein, Κυτταρική prion πρωτεΐνη

PrPres : Protease-resistant prion protein, prion πρωτεΐνη με αντίσταση στην πρωτεάση

PrPsc: scrapie Prion Protein, Πρωτεΐνη prion της τρομώδους

RARB: retinoic acid receptor protein - υποδοχέα ρετινοϊκού οξέος πρωτεΐνης

recPrP: ανασυνδυασμένη πρωτεΐνη πριόν

RNA: Ribonucleic acid Ριβονουκλεϊκό οξύ

ROS: Reactive oxidative species, Αντιδραστικά είδη οξείδωσης

RT-QuIC: real-time quaking-induced conversion

s.c.: subcutaneous, υποδόριος

SAD: Sporadic AD, σποραδική AD

SAF: Scrapie Associated Fibrils, Ινίδια συνδεόμενα με τη scrapie

SAXS: σκέδαση ακτίνων X μικρής γωνίας

SBO: small bowel obstruction, απόφραξη του λεπτού εντέρου

Sha: Syrian hamster, συριακό χάμστερ

SLO: secondary lymphoid organs, δευτερογενή λεμφοειδή όργανα

SLO: secondary lymphoid organs, δευτερογενή λεμφοειδή όργανα

SNPs: single-nucleotide polymorphisms - μονονουκλεοτιδικοί πολυμορφισμοί

SOD: Superoxide Dismutase, Υπεροξειδική δισμουτάση

SPM: Scanning probe microscopy, μικροσκόπιο ανιχνευτή σάρωσης επίσης γνωστό με τον κάπως παραπλανητικό όρο «μικροσκόπιο ατομικής δύναμης» ή «AFM»

STE: stop transfer effector, τελεστής διακοπής μεταφοράς

STII: εξωκυτταρικός μοριακός συνοδός

sXBP1: spliced X-box binding protein 1, πρωτεΐνη δέσμευσης X-box 1 συγκολλημένη πρωτεΐνη δέσμευσης X-Box 1

Tg: transgenic, Διαγονιακό

TME: Transmissible Mink Encephalopathy, Μεταδοτική Εγκεφαλοπάθεια των Ικτίδων

TNF: tissue necrotic factor, ιστικός νεκρωτικός παράγοντας

TNTs : tunneling nanotubes, νανοσωλήνες σήραγγας

vCJD: variant Creutzfeldt-Jakob Disease, Παραλλαγή της Νόσου Creutzfeldt-Jakob

VPSPr: variably protease-sensitive prionopathy, Παραλλαγή της ασθένειας prion με ευαισθησία στην πρωτεάση

WT: wild type, άγριος τύπος πρωτεΐνης

ENY: Εγκεφαλονωτιαίο υγρό

ΚΝΣ: Κεντρικό Νευρικό Σύστημα

ΛΔΣ: Λεμφοδικτυωτό Σύστημα

ΜΣΕ: Μεταδοτικές Σπογγώδεις Εγκεφαλοπάθειες

ΠΝΣ: Περιφερικό Νευρικό Σύστημα

ΣΕΒ: Σπογγώδης Εγκεφαλοπάθεια των Βοοειδών

ΣΝΣ: Συμπαθητικό Νευρικό Σύστημα

TN: Τρομώδης Νόσος



## Περίληψη

Οι ασθένειες prion ή μεταδοτικές σπογγώδεις εγκεφαλοπάθειες είναι μια ομάδα σπάνιων νευροεκφυλιστικών παθήσεων που είναι θανατηφόρες και προκαλούνται από μια ανώμαλη μορφή της κυτταρικής πρωτεΐνης prion λόγω της δομικής μετατροπής της. Η κυτταρική πρωτεΐνη prion ή PrP<sup>C</sup> είναι πρωτεΐνη που υπάρχει φυσιολογικά στον οργανισμό του ανθρώπου και των ζώων, η οποία είναι προσδεμένη με μια GPI-πρωτεΐνη στην κυτταρική επιφάνεια των νευρώνων και πολλών άλλων τύπων κυττάρων. Ο όρος «prion» επινοήθηκε από τον Stanley Prusiner το 1982 για να περιγράψει τα πρωτεϊνούχα μολυσματικά σωματίδια τα οποία ευθύνονται για τη μετάδοση της τρομώδους νόσου μεταξύ των προβάτων ή των αιγών. Σύμφωνα με την υπόθεση «μόνο πρωτεΐνη» που προτάθηκε για πρώτη φορά από τον John Griffith το 1967, τα prions μπορούν να διακριθούν από άλλα γνωστά παθογόνα λόγω της έλλειψης νουκλεϊκών οξέων. Αποτελούνται κυρίως από πρωτεΐνη prion scrapie ή συντομογραφικά PrP<sup>Sc</sup>, η οποία είναι ανθεκτική στην πέψη από πρωτεάση και συνιστά μια κακή αναδίπλωση της ισομορφής της κυτταρικής πρωτεΐνης prion (PrP<sup>C</sup>). Η PrP<sup>C</sup> εκτελεί σημαντικές λειτουργίες, όπως η μεταφορά ηλεκτρικών σημάτων στον εγκέφαλο, στην ομοιόσταση των νευρώνων, στην μελλοντική τύχη των βλαστοκυττάρων, στην προστασία από το στρες και την κυτταρική προσκόλληση. Ωστόσο η ανώμαλη μορφή της prion μπορεί να προκαλέσει εκτεταμένη βλάβη στον εγκέφαλο καθώς και σε άλλα νευρολογικά συστήματα του οργανισμού.

Οι ασθένειες Prion περιλαμβάνουν την νόσο Creutzfeldt-Jacob (CJD), το σύνδρομο Gerstmann-Sträussler-Scheinker (GSS), την θανατηφόρο οικογενή αϋπνία (FFI), την VPSPr και την kuru στον άνθρωπο, την τρομώδη νόσο στα πρόβατα και τις αίγες, την σπογγώδη εγκεφαλοπάθεια των βοοειδών (ΣΕΒ) που είναι γνωστή και ως νόσος των «τρελών αγελάδων», την χρόνια ατροφική νόσο των ελαφοειδών (CWD), την μεταδοτική εγκεφαλοπάθεια των μίνκ (TME) στα βιζόν, την σπογγώδη εγκεφαλοπάθεια αιλουροειδών (FSE) και την πρόσφατα αναγνωρισμένη νόσο της prion της καμήλας (CPD) σε καμήλα δρομάς (καμήλες με μια καμπούρα). Αυτές οι ασθένειες prion είναι σοβαρές και δεν υπάρχει αποτελεσματική θεραπεία. Οι περισσότεροι ασθενείς πεθαίνουν μέσα σε ένα έτος από τη διάγνωση της νόσου.

Χιλιάδες ενώσεις έχουν ελεγχθεί για δράση κατά της prion και όμως από αυτές που έχουν επίδραση *in vitro*, πολύ λίγες παρουσιάζουν επίδραση *in vivo*, ειδικά εάν χορηγηθούν στα τελευταία στάδια της νόσου. Παρόλα ταύτα η πιθανότητα εύρεσης μιας θεραπευτικής στρατηγικής καθημερινά αυξάνεται. Πέρα από την κλινική θεραπεία τίθεται και το θέμα της βιοασφάλειας. Υπάρχει άμεση και αυξανόμενη ανάγκη να βρεθούν αποτελεσματικά απολυμαντικά για τα αποθέματα αίματος, καθώς η παραλλαγή της νόσου Creutzfeldt Jakob (vCJD) μεταδίδεται με το αίμα. Απαιτούνται επίσης μη τοξικές προληπτικές θεραπείες στους ανθρώπους λόγω των συνεχιζόμενων περιπτώσεων σπογγώδους εγκεφαλοπάθειας των βοοειδών (ΣΕΒ). Τέλος οι στρατηγικές που χρησιμοποιούνται για τη θεραπεία των ασθενειών prion, μπορούν επίσης να έχουν εφαρμογή και σε άλλες νευροεκφυλιστικές ασθένειες που έχουν σχέση με την κακή αναδίπλωση πρωτεΐνης, όπως η νόσος του Αλτσχάιμερ, η νόσος του Πάρκινσον, η χορεία του Χάντινγκτον, κ.α.

Λέξεις – κλειδιά: Ασθένειες Prion, Σπογγώδεις εγκεφαλοπάθειες, νευροεκφυλιστικές ασθένειες.



## Abstract

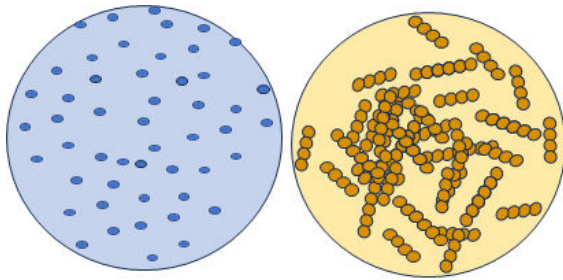
Prion diseases, or transmissible spongiform encephalopathies, are a group of rare neurodegenerative diseases that are fatal and are caused by an abnormal form of the cellular prion protein. The cellular prion protein or PrP<sup>C</sup> is a protein naturally present in the human and animal body, which is attached to a GPI-protein on the cell surface of neurons and many other cell types. The term "prion" was coined by Stanley Prusiner in 1982 to describe the proteinaceous infectious particles responsible for the transmission of scrapie among sheep or goats. According to the "protein only" hypothesis first proposed by John Griffith in 1967, it can be distinguished from other known pathogens by its lack of nucleic acids and consists mainly of prion scrapie protein or PrP<sup>Sc</sup>, that is resistant to protease digestion and consists of a misfolded isoform of the cellular prion protein. PrP<sup>C</sup> performs important functions such as electrical signal transduction in the brain, neuronal homeostasis, future stem cell fate, stress protection and cell adhesion. However, the abnormal form of the prion can cause extensive damage to the brain as well as other neurological systems of the body.

Prion diseases include Creutzfeldt-Jacob disease (CJD), Gerstmann-Sträussler-Scheinker syndrome (GSS), fatal familial insomnia (FFI), VPSPr and kuru in humans, scrapie in sheep and goats, bovine spongiform encephalopathy (BSE, also known as mad cow disease), chronic cervid atrophic disease (CWD), transmissible mink encephalopathy (TME) in mink, feline spongiform encephalopathy (FSE) and the recently recognized disease of camel prion (CPD) in dromedary camels. These prion diseases are serious and there is no effective treatment. Most patients die within a year of diagnosis.

Thousands of compounds have been tested for anti-prion activity and yet those that have an effect in vitro, very few show an effect in vivo, especially if administered in the late stages of the disease. Nevertheless, the probability of finding a therapeutic strategy is increasing. Beyond clinical treatment there is also the issue of biosafety, because there is a growing need to find effective disinfectants for blood supplies, as variant Creutzfeldt Jakob disease (vCJD) is blood-borne. Non-toxic prophylactic treatments are also needed in humans due to ongoing cases of bovine spongiform encephalopathy (BSE). Finally, the strategies used to treat prion diseases can also be applied to other neurodegenerative diseases related to protein misfolding, such as Alzheimer's disease, Parkinson's disease, Huntington's chorea, etc.

Keywords: Prion diseases, Transmitted spongiform diseases, Neurodegenerative diseases.





# Κεφάλαιο 1

## PRIONS ΠΡΩΤΕΙΝΕΣ

**1.1. ΕΙΣΑΓΩΓΙΚΑ ΣΤΟΙΧΕΙΑ ΠΕΡΙ PRION DISEASES**

**1.2. ΟΙΚΟΓΕΝΕΙΑ ΝΕΥΡΟΕΚΦΥΛΙΣΤΙΚΩΝ ΝΟΣΗΜΑΤΩΝ ΚΑΙ PRIONS**

**1.3. ΒΡΑΒΕΙΟ PRUSINER**

# ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1: ΟΙ PRION ΠΡΩΤΕΪΝΕΣ

## 1.1. ΕΙΣΑΓΩΓΙΚΑ ΣΤΟΙΧΕΙΑ ΠΕΡΙ PRION DISEASES

Η μοριακή βάση των Prion diseases στηρίζονται στις αλλαγές που υφίστανται οι φυσιολογικές πρωτεΐνες Prions (PrP<sup>C</sup>), οι οποίες βρίσκονται στην επιφάνεια πολλών κυττάρων. Οι ανώμαλες αυτές πρωτεΐνες (PrP<sup>Sc</sup>) συσσωρεύονται στον εγκέφαλο, προκαλώντας έτσι εγκεφαλική βλάβη. Η υπερβολική αυτή μη φυσιολογική συσσώρευση της τροποποιημένης αυτής πρωτεΐνης στον εγκέφαλο δημιουργεί προβλήματα στην μνήμη, τροποποιεί την προσωπικότητα και δημιουργεί δυσκολίες στην κίνηση.

Οι **ασθένειες prion** (Prion diseases) που είναι επίσης γνωστές και ως **μεταδοτικές σπογγώδεις εγκεφαλοπάθειες (ΜΣΕ)**, αποτελούν μια ειδική κατηγορία νευρολογικών νόσων που επηρεάζουν το κεντρικό νευρικό σύστημα (ΚΝΣ) προκαλώντας εκφυλισμό στα νευρικά κύτταρα. Όπως προαναφέραμε, το κοινό τους χαρακτηριστικό γνώρισμα είναι η **συσσώρευση μιας μορφής πρωτεΐνης στον εγκέφαλο, μη φυσιολογικής διαμόρφωσης**, που προκαλεί εγκεφαλική νόσο. Σε αντίθεση η αρχική φυσιολογική μορφή (PrP<sup>C</sup>) είναι απαραίτητη στα κύτταρα και συντελεί σημαντικές λειτουργίες. Αυτή η μη φυσιολογική μορφή πρωτεΐνης, ονομάζεται prion **protein scrapie** (PrP<sup>scrapie</sup>) και πήρε το όνομα αυτό, από το είδος της θανατηφόρας αρρώστιας που προκαλεί όταν ανακαλύφθηκε αρχικά στα πρόβατα. Οι μεταδοτικές σπογγώδεις εγκεφαλοπάθειες είναι όλες μεταδοτικές όπως έχει αποδειχθεί πειραματικά *in vitro* και *in vivo*, και έχουν θανατηφόρα εξέλιξη.

Στα ζώα οι ασθένειες prion, ανάλογα το είδος, καταγράφονται ως παρακάτω:

- Στα **πρόβατα** και τις **αίγες** έχουμε δύο μορφές, την **scrapie** ή **αλλιώς κλασική τρομώδης νόσος** (classical scrapie, CS), που είναι η παλαιότερη γνωστή μεταδοτική σπογγώδης εγκεφαλοπάθεια, (Orge L., et al, 2021, Mathiason C.K., 2017, Fast C. and Groschup M.H., 2013, Beckerman M., 2015, Schneider et al., 2008) και την **άτυπη τρομώδη νόσο** (atypical scrapie, AS) που ανακαλύφθηκε μεταγενέστερα, (Orge L., et al, 2021, Fast C. and Groschup M.H., 2013).
- Στα **Βοοειδή** (περιλαμβάνονται οι **αγελάδες** και τα **άγρια μηρυκαστικά**), διακρίνουμε:
  - A) στις **αγελάδες**: την **Σπογγώδη Εγκεφαλοπάθεια των Βοοειδών (ΣΕΒ)** ή αλλιώς «νόσος των τρελών αγελάδων» η οποία απαντάται σε δύο μορφές. Στον **κλασικό τύπο ΣΕΒ** (Classic - Bovine Spongiform Encephalopathy, C-BSE), (Orge L., et al, 2021, Whitechurch B.C., et al, 2017, Corona C. et al, 2017, Zanusso G. and Monaco S., 2013) και τις **άτυπες μορφές της Σπογγώδους Εγκεφαλοπάθειας των Βοοειδών** (atypical High-BSE & atypical Low-BSE), (Orge L., et al, 2021, Corona C. et al, 2017).
  - B) στα **άγρια μηρυκαστικά** των ζωολογικών πάρκων (Βίσονες, Στρεψίκερος, όρυξ): την **Σπογγώδη Εγκεφαλοπάθεια των Άγριων Μηρυκαστικών** (Transmissible spongiform encephalopathy of captive wild ruminants) ή/και **Σπογγώδης εγκεφαλοπάθεια εξωτικών οπληφόρων** (Exotic Ungulate

Encephalopathy) που είναι ίδια μορφή με την Σπογγώδη Εγκεφαλοπάθεια των Βοοειδών στις αγελάδες, (Orge L., et al, 2021).

- Την **Μεταδοτική Εγκεφαλοπάθεια των Μίνκ** (Transmissible mink encephalopathy, TME). Εκτρεφόμενα είδη που αναφέρονται και ως βιζόν και χρησιμοποιούνται για την γούνα τους, (Orge L., et al, 2021, Mathiason C.K., 2017).
- Την **Χρόνια Ατροφική Νόσο των Ελαφοειδών** (Wasting disease of deer and elk, CWD). Εκτρεφόμενα είδη Ταράνδων και Ελαφιών που χρησιμοποιούνται κυρίως για το κρέας τους και το κυνήγι και δευτερευόντως άλλα μέρη του σώματος όπως δέρμα, κέρατα κ.α. Τα εκτρεφόμενα είδη αναμιχθήκανε με τα άγρια είδη των ελαφοειδών στα δάση της βορείου Αμερικής (ένα φαινόμενο που το ανακαλύψανε στις Η.Π.Α. και τον Καναδά), (Orge L., et al, 2021, Mathiason C.K., 2017).
- Την **Σπογγώδη Εγκεφαλοπάθεια των Αιλουροειδών** (Feline Spongiform Encephalopathy, FSE). Εμφανίστηκε στα οικόσιτα αιλουροειδή π.χ. γάτες, τίγρης κ.α., καθώς και στα μεγάλα αιλουροειδή των ζωολογικών κήπων, (Orge L., et al, 2021).
- Την **Σπογγώδη Εγκεφαλοπάθεια της Καμήλας** (Camel Spongiform Encephalopathy, CSE), (Orge L., et al, 2021).

Στον άνθρωπο οι ασθένειες prion διακρίνονται σε διάφορες μορφές, όπως:

- **Οι ιδιοπαθείς ή αλλιώς σποραδικές νόσοι.**
- **Οι γενετικές ή αλλιώς κληρονομικές νόσοι.**
- **Οι επίκτητες ή αλλιώς μολυσματικές νόσοι.**

**Οι ιδιοπαθείς ή αλλιώς σποραδικές νόσοι:** Περιλαμβάνουν την σποραδική νόσο Creutzfeldt-Jakob (sporadic CJDisease), που είναι η πιο κοινή μορφή ασθένειας prion στους ανθρώπους, η σποραδική θανατηφόρος αϋπνία (sporadic Fatal Insomnia) που είναι η σποραδική μορφή της FFI και δεν είναι τόσο συχνή και μια σπάνια σποραδική μορφή της CJD, η παραλλαγή ανώμαλης μορφής prion πρωτεΐνης με ευαισθησία στην δράση της πρωτεάσης (Variably protease-sensitive prionopathy-VPSPr), (Brown P., 2013, Gambetti P. and Notari S., 2013, Beckerman M., 2015),

**Οι γενετικές ή αλλιώς κληρονομικές νόσοι:** όπως η οικογενής νόσος Creutzfeldt-Jakob (familial CJD), το σύνδρομο του Gerstmann-Straussler-Scheinker (Syndrome GSS) και η θανατηφόρα οικογενής αϋπνία (Fatal Familial Insomnia), (Brown P., 2013, Gambetti P. and Notari S., 2013, Beckerman M., 2015),

**Οι επίκτητες ή αλλιώς μολυσματικές νόσοι:** όπως η kuru, η ιατρογενής Creutzfeldt-Jakob (iatrogenic CJD) και η παραλλαγή της Creutzfeldt-Jakob (variant CJD) που είναι η μόνη ανθρώπινη ΜΣΕ που συνδέεται με την σπογγώδη εγκεφαλοπάθεια των βοοειδών (ΣΕΒ), (Brown P., 2013, Gambetti P. and Notari S., 2013, Beckerman M., 2015).

Στον πίνακα 1 παρακάτω αναφέρονται όλες οι παραπάνω νόσοι ανθρώπων και ζώων συνοπτικά.

<b>ΜΣΕ Ανθρώπου</b>	<b>Ξενιστής</b>
Σποραδική Creutzfeldt-Jakob ασθένεια (sporadic CJD, <b>sCJD</b> ), Σποραδική θανατηφόρος αϋπνία (sporadic Fatal Insomnia, <b>sFI</b> ), Variably protease-sensitive prionopathy ( <b>VPSPr</b> ).	Άνθρωπος
Οικογενής Creutzfeldt-Jakob (familial CJD, <b>fCJD</b> ), Σύνδρομο GSS (Gerstmann-Strausler-Sheinker Syndrome, <b>GSS</b> ), Θανατηφόρα οικογενής αϋπνία (Fatal Familial Insomnia, <b>FFI</b> ).	Άνθρωπος
<b>Kuru</b> , Ιατρογενής Creutzfeldt-Jakob (iatrogenic CJD, <b>iCJD</b> ), Παραλλαγή της Νόσου Creutzfeldt-Jakob (Variant CJD, <b>vCJD</b> ).	Άνθρωπος
<b>ΜΣΕ Ζώων</b>	<b>Ξενιστής</b>
Κλασική τρομάδης νόσος (Classical Scrapie, <b>CS</b> )	Πρόβατα, Αίγες, Άγριο Πρόβατο - Ovis musimon (mufflon)
Άτυπη Τρομάδης νόσος (Atypical Scrapie, <b>AS</b> )	Πρόβατα, Αίγες
Σπογγώδης εγκεφαλοπάθεια βοοειδών (Bovine Spongiform Encephalopathy, <b>BSE</b> ), η Κλασική ΣΕΒ (Classic BSE, <b>C-BSE</b> ) και οι άτυπες ΣΕΒ ( <b>H-BSE &amp; L-BSE</b> ).	Βοοειδή
Σπογγώδης εγκεφαλοπάθεια των άγριων μηρυκαστικών ( <b>Transmissible spongiform encephalopathy of captive wild ruminants</b> ) ή/και Σπογγώδης εγκεφαλοπάθεια εξωτικών οπληφόρων ( <b>Exotic Ungulate Encephalopathy</b> ) που είναι ίδια μορφή με την Σπογγώδη Εγκεφαλοπάθεια των Βοοειδών στις Αγελάδες.	Άγρια μηρυκαστικά των ζωολογικών πάρκων π.χ. Βίσονες, Στρεπνίκερος, όρυξ και άλλα οπληφόρα είδη ζωολογικών κήπων
Μεταδοτική εγκεφαλοπάθεια των μίνκ (Transmissible mink encephalopathy, <b>TME</b> )	Μίνκ (βιζόν εκτρεφόμενα)
Χρόνια ατροφική νόσος των ελαφοειδών (Wasting disease of deer and elk, <b>CWD</b> )	Τάρανδοι, Ελάφια
Σπογγώδης εγκεφαλοπάθεια αιλουροειδών (Feline Spongiform Encephalopathy, <b>FSE</b> )	Οικόσιτα αιλουροειδή καθώς και μεγάλα αιλουροειδή ζωολογικών κήπων
Σπογγώδη Εγκεφαλοπάθεια της Καμήλας (Camel Spongiform Encephalopathy, <b>CSE</b> )	Καμήλες

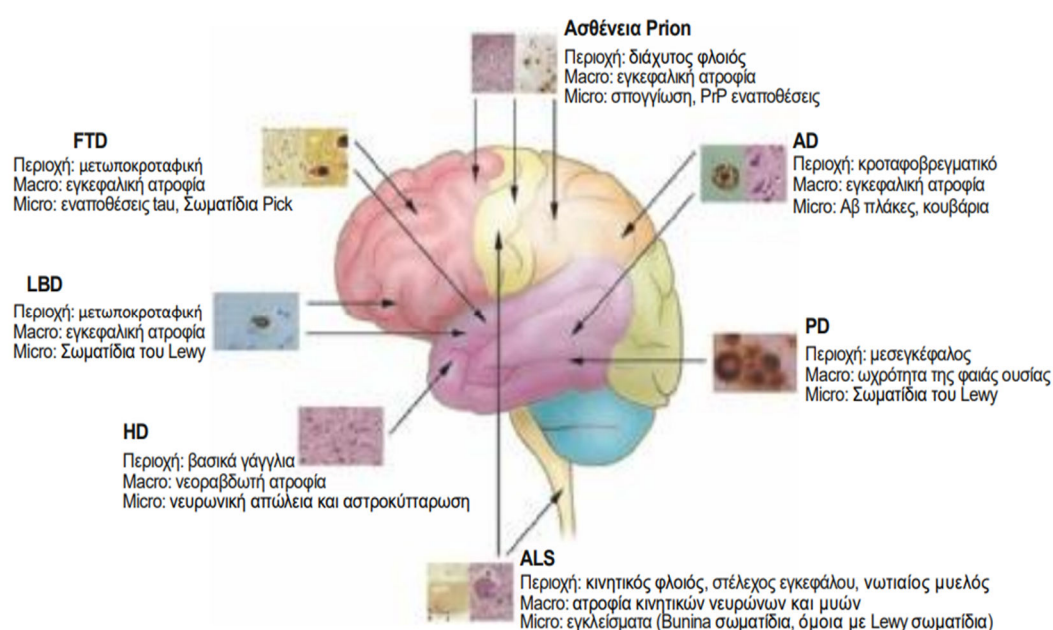
*Πίνακας 1. Αναφορά όλων των γνωστών ΜΣΕ σε όλα τα είδη και οι ξενιστές τους.*

## 1.2. ΟΙΚΟΓΕΝΕΙΑ ΝΕΥΡΟΕΚΦΥΛΙΣΤΙΚΩΝ ΝΟΣΗΜΑΤΩΝ ΚΑΙ PRIONS

Οι έρευνες για τις μεταδοτικές σπογγώδεις εγκεφαλοπάθειες έδωσαν πολλά στοιχεία σχετικά για την συσσώρευση πρωτεϊνών με ανώμαλη δομή στον εγκέφαλο και τον μηχανισμό μετάδοσής τους, όπως συμβαίνει και σε άλλες νευρολογικές νόσους του εγκεφάλου που προκαλούν εκφυλισμό στα νευρικά κύτταρα. Η συσσώρευση πρωτεϊνών με ανώμαλη δομή που προκαλούν ασθένειες (αναλυτική αναφορά πίνακας 2), συμβαίνει για παράδειγμα στην νόσο του Alzheimer (AD) όπου παρατηρείται συσσώρευση πεπτιδίων Αμυλοειδών βήτα (Ab), στην μετωποκροταφική άνοια (FTD) συσσώρευση πεπτιδίων tau, στην νόσο Πάρκινσον (PD) παρατηρούνται συσσωματώματα α-συνουκλείνης, στην Αμυοτροφική Πλάγια Σκλήρυνση (ALS) συσσωματώματα της Transactive Response Protein 43 (TDP-43) (συσσωματώματα δέσμευσης DNA), στις Μεταδοτικές Σπογγώδεις Εγκεφαλοπάθειες (ΜΣΕ) παρατηρείται συσσώρευση και πολλαπλασιασμός της ανώμαλης δομής της PrP<sup>sc</sup>, η οποία ήταν και το πρώτο παράδειγμα των πρωτεϊνών με ανώμαλη δομή που

αθροίζονται σε βάθος χρόνου και εμφανίζουν χαρακτηριστικά μολυσματικότητας, (Erana H., et al., 2017).

Σε όλες αυτές τις νευρολογικές νόσους εκτός του κοινού τους χαρακτηριστικού που είναι η συσσώρευση πρωτεϊνών με ανώμαλη δομή και στην συνέχεια η πρόκληση εκφύλισης του εγκεφάλου, έχουν άλλο ένα κοινό χαρακτηριστικό ότι εμφανίζονται σε μεγάλες ηλικίες. Αυτό εξηγεί και το παραπάνω, ότι αθροίζονται σε βάθος χρόνου και εμφανίζουν χαρακτηριστικά μολυσματικότητας με αποτέλεσμα την πρόκληση εκφύλισης μετά από χρόνια. Έτσι παρατηρείται σε κάθε νόσο η παρουσία ανώμαλων δομών πρωτεϊνών, οι οποίες εμφανίζονται σε διάφορες περιοχές του εγκεφάλου, (Εικ. 1), (Erana H., et al., 2017).



**Εικόνα 1:** Οι Νευροεκφυλιστικές διαταραχές, τα χαρακτηριστικά τους και οι περιοχές που επηρεάζονται κυρίως. FTD: μετωποκροταφική άνοια, LBD: νόσος Lewy σωματιδίων, HD: νόσος του Huntington, ALS: αμυοτροφική πλευρική σκλήρυνση, PD: νόσος Parkinson, AD: νόσος Alzheimer, (Beckerman M., 2015).

Στον πίνακα 2 γίνεται μια πιο αναλυτική αναφορά για ασθένειες που προκαλούνται από τη συσσώρευση πρωτεϊνών με ανώμαλη δομή στον εγκέφαλο, τις πρωτεΐνες που συμμετέχουν και τα παθολογικά ευρήματα από μικροσκοπικές αναλύσεις, κατά την απόθεση πρωτεϊνών σε ιστούς εγκεφάλων με νευροεκφυλιστικά νοσήματα, (Beckerman M., 2015, Prusiner, S. B., 2001).

Συσσώρευση Πρωτεϊνών στις Νευροεκφυλιστικές Ασθένειες		
Ασθένεια	Πρωτεΐνη	Παθολογικά Ευρήματα
Νόσοι Prion (PrD)	PrP <sup>Sc</sup>	Αμυλοειδής πλάκες PrP
Νόσος του Alzheimer (AD)	Αβ, tau, α-synuclein	Αμυλοειδής πλάκες Αβ, tau, α-synuclein
Νόσος του Parkinson (PD)	a-Synuclein	Σωματίδια του Lewy
Μετωποκροταφική άνοια (FTD)	Tau	Ευθύγραμμο νημάτια και ελικοειδή νημάτια κατά ζεύγη
Νόσος του Pick	Tau	Σωματίδια Pick

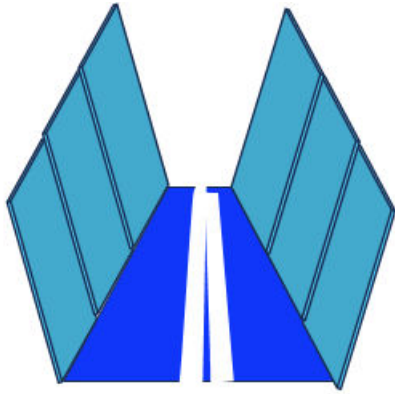
Προοδευτική υπερπυρηνική παράλυση	Tau	Ευθύγραμμα νημάτια σε νευροϊνδιακά κουβάρια
Αμυοτροφική πλάγια σκλήρυνση (ALS)	Νευρονημάτια (TDP-43, FUS)	Νευρωνικά συσσωματώματα
Νόσος του Huntington (HD)	Huntingtin (htt)	
Παρεγκεφαλιδονωτιαία αταξία: Τύπος 1 Τύπος 2 Νόσος του Machado-Joseph	Ataxin 1 Ataxin 2 Ataxin 3	Πυρηνικά εγκλείσματα Κυτοπλασματικά εγκλείσματα Πυρηνικά εγκλείσματα
Χρόνια τραυματική εγκεφαλοπάθεια	TDP-43, tau	

**Πίνακας 2:** Κύριες αντιπροσωπευτικές νευροεκφυλιστικές ασθένειες και οι πρωτεΐνες που τις δημιουργούν, (Beckerman M., 2015, Prusiner, S. B., 2001).

### 1.3. ΒΡΑΒΕΙΟ PRUSINER

Το Νόμπελ Φυσιολογίας ή Ιατρικής του 1997 απονεμήθηκε στον Δρ. Prusiner για την ανακάλυψη των prions το 1982, (Prusiner S., et.al., 1982). Η ανακάλυψη αφορά ένα νέο είδος μολυσματικού παράγοντα που προκαλεί ασθένειες στον εγκέφαλο, όπου διευκρινίζεται και ο τρόπος δράσης του. Η τρομώδη νόσος, η ΣΕΒ, η ασθένεια kuru και οι διάφορες μορφές της νόσου Creutzfeldt-Jakob που προκαλούν νευροεκφυλιστική διαταραχή, αναφέρονται ως ασθένειες των Prions (Prion diseases). Αυτές εμφανίζουν σπογγώδη εκφυλισμό δηλαδή μακροσκοπικά παρατηρούμε μια σπογγώδη εμφάνιση με κενोटόπια της εγκεφαλικής ουσίας και μικροσκοπικά την καταστροφή των νευρικών κυττάρων και αστροκυτταρική γλοίωση (κατεστραμμένος νευρικός ιστός που αντικαθίσταται από διογκωμένα και κατεστραμμένα αστροκύτταρα που δημιουργούν ουλή) στο Κεντρικό Νευρικό Σύστημα. Τα prions (proteinaceous infectious particle), είναι ένα ακρωνύμιο που προέρχεται από τα "πρωτεϊνικά μολυσματικά σωματίδια", που είναι καθαρές πρωτεΐνες χωρίς DNA και RNA. Το 1982, μετά από δέκα χρόνια έρευνας, ο Prusiner και η ομάδα του, παρήγαγαν ένα παρασκεύασμα από εγκέφαλο χάμστερ που περιείχε έναν μολυσματικό παράγοντα αποτελούμενο από μία μόνο πρωτεΐνη. Η πρωτεΐνη Prion (PrP) όπως ανακάλυψε ο Prusiner ήταν «διπλός παράγοντας», που υπήρχε τόσο σε κανονική διαμόρφωση (PrP<sup>c</sup>) όσο και σε μια ανώμαλη διαμόρφωση (PrP<sup>Sc</sup>) που προκαλεί την ασθένεια. Παρατήρησε στα παρασκευάσματά του, ότι μετά από μεγάλο χρόνο επώασης ξεκινούσε η αλυσιδωτή αντίδραση μετατροπής της φυσιολογικής μορφής της πρωτεΐνης PrP<sup>c</sup> στην παθολογική διαμόρφωση της PrP<sup>Sc</sup>, αυτή που προκαλεί την ασθένεια και την καταστροφή του εγκεφαλικού ιστού. Για μια δεκαετία, ο Prusiner προσπαθούσε να ανακαλύψει εάν ο μολυσματικός παράγοντας της τρομώδους νόσου ήταν ένας μικρός ιός, ωστόσο τα στοιχεία του δεν στήριζαν αυτήν την υπόθεση. Άλλοι επιστήμονες ανέφεραν ότι τα παρασκευάσματά του περιείχαν πρωτεΐνη αλλά όχι νουκλεϊκό οξύ (Prusiner S., 1997). Ακόμη και αφότου ο Prusiner έλαβε το βραβείο Νόμπελ, τα prion συνέχισαν να προκαλούν μεγάλη συζήτηση καθώς οι σκεπτικιστές αρνούσαν την ύπαρξη μολυσματικών παραγόντων που δεν είχαν ίχνος γενετικού υλικού. Ωστόσο ο Prusiner συνέχισε να υποστηρίζει τα prion. Το 2004 αυτός και η ομάδα του σημείωσαν σημαντική πρόοδο στο να αντιπαραταθεί στους επικριτές του, εντοπίζοντας τον ρόλο των prion στην εξάπλωση της σπογγώδους εγκεφαλοπάθειας των βοοειδών, κοινώς γνωστή ως νόσος των τρελών αγελάδων.





## Κεφάλαιο 2

# ΙΣΤΟΡΙΚΗ ΑΝΑΔΡΟΜΗ

**2.1. Η ΙΣΤΟΡΙΚΗ ΑΝΑΔΡΟΜΗ ΤΩΝ ΜΕΤΑΛΟΤΙΚΗΣ ΣΠΟΓΓΩΔΗΣ ΕΓΚΕΦΑΛΟΠΑΘΕΙΑΣ ΣΤΑ ΖΩΑ**

**2.2. Η ΙΣΤΟΡΙΚΗ ΑΝΑΔΡΟΜΗ ΤΩΝ ΜΕΤΑΛΟΤΙΚΗΣ ΣΠΟΓΓΩΔΗΣ ΕΓΚΕΦΑΛΟΠΑΘΕΙΑΣ ΣΤΟΥΣ ΑΝΘΡΩΠΟΥΣ**

## ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2: ΙΣΤΟΡΙΚΗ ΑΝΑΔΡΟΜΗ

### 2.1. Η ΙΣΤΟΡΙΚΗ ΑΝΑΔΡΟΜΗ ΤΗΣ ΜΕΤΑΔΟΤΙΚΗΣ ΣΠΟΓΓΩΔΗΣ ΕΓΚΕΦΑΛΟΠΑΘΕΙΑΣ ΣΤΑ ΖΩΑ

**1732-1820:** Η παλαιότερη περιγραφή της τρομώδους νόσου στα αιγοπρόβατα (scrapie) στην Αγγλία τον 18<sup>ο</sup> αιώνα. Η τρομώδης νόσος δεν είναι μόνο το πρωτότυπο των Μεταδοτικών Σπογγωδών Εγκεφαλοπαθειών αλλά και η ασθένεια Prion με τη μεγαλύτερη ιστορία δημοσιεύσεων. Όποια και αν είναι η ιστορική αρχή, γνωρίζουμε ότι μέχρι τον δέκατο όγδοο αιώνα ήταν διαδεδομένο τόσο στην Αγγλία όσο και στη Γερμανία. Η αρχή της νόσου στην Αγγλία πιθανότατα να προήλθε από την εισαγωγή του ισπανικού προβάτου «merino». Μεταξύ 1750-1820 υπήρξαν εκτεταμένες επιδημίες στη ΒΔ. Ευρώπη και η πρώτη αυθεντική αναφορά για την τρομώδη νόσο γράφτηκε στη Γερμανία και χρονολογείται από το έτος 1750. Ωστόσο, μια μεταγενέστερη δημοσίευση αναφέρει ακόμη και περιπτώσεις στην Αγγλία που συνέβησαν ήδη το 1732. Αρκετοί συγγραφείς σε μεταγενέστερους χρόνους αναφέρθηκαν ακόμη και σε πολύ προγενέστερες χρονικές περιόδους, που εκτείνονται από τους ρωμαϊκούς χρόνους έως τον δέκατο έβδομο αιώνα, αλλά χωρίς να δίνουν αντίστοιχες αναφορές (για λεπτομερέστερη ανασκόπηση Schneider et al., 2008), (Mathiason C.K., 2017, Fast C. and Groschup M.H., 2013, Beckerman M., 2015).

**1939:** Αναφέρθηκε πειραματική μετάδοση τρομώδους νόσου. Ο Jean Cuillé αναγνώρισε την ανάγκη, ότι πρέπει να υπάρξει μια εκτεταμένη περίοδος παρατήρησης μετά τη μόλυνση και δημοσίευσε με τον Paul-Louis Chelle ένα υπέροχο σύνολο πειραμάτων μεταξύ 1936-1938 που επιβεβαίωσαν χωρίς αμφιβολία ότι η τρομώδης νόσος ήταν πράγματι μια μεταδοτική ασθένεια, (Brown P., 2013, Fast C. and Groschup M.H., 2013).

**Δεκαετία του 1940:** Ο William Gordon είχε την ιδέα και εκτέλεσε μια τεράστια μελέτη χρησιμοποιώντας πάνω από 1.000 πρόβατα για να διερευνήσει την ευαισθησία της φυλής στην τρομώδη νόσο (το «πείραμα των είκοσι τεσσάρων φυλών»). Αυτό οδήγησε στην επιλογή, για τους πειραματικούς σκοπούς, δύο κοπαδιών της φυλής Herdwick, το ένα πολύ ευαίσθητο και το άλλα σχετικά ανθεκτικό. Έφτιαξε μια πολύ δραστήρια ομάδα επιστημόνων, συμπεριλαμβανομένων των Gordon Hunter, Geoffrey Millson, Richard Kimberlin, Carol Walker και Iain Pattison, οι οποίοι δημιούργησαν μια πληθώρα ερευνητικών εργασιών κατά τη διάρκεια της δεκαετίας του 1960 έως τη δεκαετία του 1980 που αφορούσαν τη γενετική ευαισθησία, την παθογένεια και τη φύση της τρομώδους νόσου στις φυλές των προβάτων, (Brown P., 2013). Το 1947 ανακαλύφθηκε στις ΗΠΑ μια νόσος στα μίνκ που είχε παρόμοιες κλινικές και παθολογικές ενδείξεις με την scrapie των προβάτων, (Mathiason C.K., 2017).

**1965:** Αναγνώριση της μεταδοτικής εγκεφαλοπάθειας των μίνκ (βιζόν) (transmissible mink encephalopathy) στις ΗΠΑ, η οποία συμπεριλήφθηκε στην οικογένεια της Μεταδοτικής Σπογγώδους Εγκεφαλοπάθειας, (Orge L., et al, 2021, Mathiason C.K., 2017). Στα τέλη αυτής της δεκαετίας παρατηρήθηκε μια ασθένεια που προκαλεί ατροφία στα ελαφοειδή, (Orge L., et al, 2021, Mathiason C.K., 2017).

**1986:** Παράλληλα, η μεταδοτική εγκεφαλοπάθεια των μίνκ (βιζόν) διαγνώστηκε στον Καναδά, τη Φινλανδία και τη Ρωσία. Την ίδια χρονιά αναγνωρίστηκε και περιγράφηκε η ατροφική νόσος των ελαφοειδών (ατροφία με απώλεια βάρους), (CWD- chronic wasting disease), (Orge L., et al, 2021, Mathiason C.K., 2017, Brown P., 2013, Telling

G., 2013). Και οι δύο ασθένειες μπορεί να προήλθαν από την έκθεση σε πρόβατα μολυσμένα με τρομώδη νόσο που υπήρχαν στις ΗΠΑ από τα τέλη της δεκαετίας του 1940, αλλά αυτή η επιδημιολογικά εύλογη υπόθεση δεν αποδείχθηκε ποτέ, (Mathiason C.K., 2017, Brown P., 2013).

**1987:** Πρώτη αναφορά ΣΕΒ σε βοοειδή, (Whitechurch B.C., et al, 2017, Corona C. et al, 2017, Zanusso G. and Monaco S., 2013).

**1990:** Σπογγώδης εγκεφαλοπάθεια αιλουροειδών (Feline Spongiform Encephalopathy, FSE). Εμφάνιση σε οικόσιτα αιλουροειδή καθώς και μεγάλα αιλουροειδή ζωολογικών κήπων. Την ίδια χρονιά έγινε αναφορά για την Σπογγώδη Εγκεφαλοπάθεια των Εξωτικών Οπληφόρων (Exotic Ungulate Encephalopathy) ή αλλιώς Σπογγώδης Εγκεφαλοπάθεια των Αιχμάλωτων Αγριών Μηρυκαστικών (Transmissible spongiform encephalopathy of captive wild ruminants), που εμφανίστηκε σε ζώα όπως ο Στρεψίκερος, ο όρυξ και άλλα οπληφόρα είδη ζωολογικών κήπων. Ίδια μορφή της Σπογγώδους Εγκεφαλοπάθειας των Αγελάδων, (Orge L., et al, 2021).

**1998:** Άτυπη μορφή τρομώδους νόσου-Nor98 scrapie. Διαγνώστηκε για πρώτη φορά σε πρόβατα στη Νορβηγία μία ασυνήθιστη μορφή της Τρομώδους Νόσου, η οποία στη συνέχεια ονομάστηκε Nor98 scrapie, (Orge L., et al, 2021, Fast C. and Groschup M.H., 2013).

**2009:** Διαπίστωσαν ότι όταν χορήγησαν τροφή σε ψάρια που προερχόταν από μολυσμένα κρεατάλευρα με σπογγώδη εγκεφαλοπάθεια των βοοειδών, προκάλεσαν αλλοιώσεις στον εγκέφαλο τους που ενδεχομένως σχετίζονται με τις μεταδιδόμενες σπογγώδεις εγκεφαλοπάθειες.

**2018:** Πρώτη αναφορά για την Σπογγώδη Εγκεφαλοπάθεια της Καμήλας (Camel Spongiform Encephalopathy, CSE), (Orge L., et al, 2021).

## **2.2. Η ΙΣΤΟΡΙΚΗ ΑΝΑΔΡΟΜΗ ΤΩΝ ΜΕΤΑΔΟΤΙΚΗΣ ΣΠΟΓΓΩΔΗΣ ΕΓΚΕΦΑΛΟΠΑΘΕΙΑΣ ΣΤΟΥΣ ΑΝΘΡΩΠΟΥΣ**

**1920-1921:** Περιγράφονται οι πρώτες πιθανές περιπτώσεις σποραδικής Creutzfeldt-Jakob (sporadic CJD) στον άνθρωπο. Η αρχική περίπτωση του Creutzfeldt περιγράφηκε ως «ένας νέος και ασυνήθιστος τύπος νευρολογικής νόσου» σε μια 22χρονη γυναίκα που ασθενούσε για 1 έτος. Η ασθένεια αυτή χαρακτηριζόταν από τρόμο, σπαστικότητα, νυσταγμό, αταξία, κλονικό σπασμό μυών και άνοια. Η νευροπαθολογία έδειξε διάχυτη νευρωνική απώλεια και αστρογλοίωση, αλλά η δημιουργία κενотоπίων δεν αναφέρθηκε ούτε απεικονίστηκε. Αργότερα το 1922, ο Jakob ανέφερε τέσσερις περιπτώσεις που νόμιζε ότι έμοιαζαν με την περίπτωση του Creutzfeldt. Αμέσως μετά έγινε η πρώτη αναφορά μιας κληρονομικής Creutzfeldt-Jakob νόσου, της οικογενούς Creutzfeldt-Jakob (familial CJD, **fCJD**), (Brown P., 2013, Gambetti P. and Notari S., 2013, Beckerman M., 2015).

**1936:** Ο Gerstmann, ο Straüssler και ο Scheinker ανέφεραν το πρώτο σύνδρομο που είναι και αυτό κληρονομικής φύσεως, καθώς το σύνδρομο αυτό φέρει τα ονόματά τους (**GSS**), (Brown P., 2013, Gambetti P. and Notari S., 2013, Beckerman M., 2015).

**1954:** Σημαντική ερευνητική στιγμή στην μελέτη των Prions: Εισήχθη για πρώτη φορά ο όρος «αργή μόλυνση από τον ιό», λόγω της αργής εκδήλωσης της νόσου που

εμφανίζεται μετά από πολλά χρόνια από την στιγμή της μόλυνσης, (Fast C. and Groschup M.H., 2013).

**1955–57:** Η ασθένεια Kuru ανακαλύφθηκε μεταξύ των Αβορίγινων της Παπούα Νέας Γουινέας. Ένας νεαρός παιδίατρος που έγινε ερευνητής, ο Carleton Gajdusek, τοποθετήθηκε στο Walter Reed Army Medical Center και το 1954 του ανατέθηκε να περάσει ένα χρόνο στην Αυστραλία για να μελετήσει την ανοσολογία της ηπατικής νόσου στο εργαστήριο του Sir. MacFarlane Burnet. Κατά τη διάρκεια της παραμονής του ταξίδεψε στην Παπούα Νέα Γουινέα και εκεί συνάντησε τον Vincent Zigas, έναν Λιθουανό ιατρό φυσιολόγο που εργαζόταν ως αξιωματούχος ιατρός στα Ανατολικά υψίπεδα. Ο Zigas του μίλησε για μια παράξενη νευρολογική ασθένεια (kuru) που αποδεκάτιζε τους αυτόχθονες λαούς της περιοχής και τον κάλεσε στα υψίπεδα να δει μόνος του. Βλέποντας και μελετώντας τους ανθρώπους εκεί, του κίνησε το ενδιαφέρον η υψηλή συχνότητα εμφάνισης, η κατανομή ηλικίας και φύλου, και τα νευρολογικά χαρακτηριστικά της νόσου, (Brown P., 2013).

**1959:** Σημειώνονται ομοιότητες μεταξύ Kuru και CJD και αμέσως μετά με την scrapie. Το έτος 1959 ήταν το έτος σηματοδότησης για τις Μεταδοτικές Σπογγώδεις Εγκεφαλοπάθειες. Ο Gajdusek ίδρυσε ένα νοσοκομείο kuru στην Okara, το διοικητικό κέντρο της περιοχής, οργανώνοντας τη φροντίδα των ασθενών με kuru, κάνοντας αυτοψίες, προσπαθώντας να ανακαλύψει την αιτία της νόσου, και τη διεξαγωγή θεραπευτικών δοκιμών με βάση όλες τις πιθανές αιτίες. Κατά τη διάρκεια αυτής της περιόδου, έστειλε δείγματα εγκεφάλων από δώδεκα περιπτώσεις kuru στον Igor Klatzo, έναν νευροπαθολόγο που εργαζόταν στο NIH Rocky Mountain στη Μοντάνα. Το 1959 δημοσίευσε τα ευρήματά του, σημειώνοντας εκτεταμένη νευρωνική εκφύλιση (συμπεριλαμβανομένης της κενотоπίωσης), απώλεια μυελίνης, αστρογλοιακό και μικρογλοιακό πολλαπλασιασμό, διάσπαρτα περιαγγειακά περιβλήματα και στις μισές περιπτώσεις κυρίως στην παρεγκεφαλιδική περιοχή παρουσία αμυλοειδών πλακών. Δεν ανέφερε τη σπογγώδη αλλαγή και απέδωσε ότι η δημιουργία των κενотоπίων στην περιοχή όπου βρίσκονται οι νευρώνες, οφείλεται σε μεταθανάτιο τεχνούργημα. Ωστόσο, στη συζήτησή του συγκρίνοντας την ασθένεια kuru με άλλες ασθένειες, κατέληξε στο συμπέρασμα ότι «η Creutzfeldt-Jakob ασθένεια φαίνεται πως είναι πολύ κοντά με την kuru και έχουν πολλές ομοιότητες», (Brown P., 2013).

**1967:** Σημαντική ερευνητική στιγμή στην μελέτη των Prions: Για πρώτη φορά, μια πρωτεΐνη θεωρήθηκε ως μολυσματικός παράγοντας και η πρώτη δήλωση της υπόθεσης της αυτοπαραγόμενης πρωτεΐνης ή «υπόθεση μόνο-πρωτεΐνης», (Fast C. and Groschup M.H., 2013).

**1974:** Πρώτη τεκμηριωμένη ιατρογενής μετάδοση Prion (μόσχευμα κερατοειδούς), (Brown P., 2013).

**1982:** Σημαντική ερευνητική στιγμή στην μελέτη των Prions: Ο Prusiner και η ομάδα του μετά από πειράματα που διεξήχθησαν σε δείγματα εγκεφάλου χάμστερ, ανακάλυψαν ότι η παθολογική prion πρωτεΐνη είναι ανθεκτική στην πρωτεάση και εξαιρετικά υδρόφοβη πρωτεΐνη. Τα παρασκευάσματα ήταν πλούσια εμπλουτισμένα με υψηλής μολυσματικότητας prions που συναντώνται στην τρομώδη νόσο. Στην συνέχεια ανακοινώθηκε και η έννοια του Prion. Με βάση την αντίσταση του παθογόνου στην πρωτεάση, εισήχθη ο όρος «πρωτεϊνικό μολυσματικό σωματίδιο» (ακρωνύμιο: prion-“proteinaceous infectious particle”) και η μετατροπή μιας

φυσιολογικής κυτταρικής πρωτεΐνης (PrP<sup>c</sup>) στην παθολογική ισομορφή της, την PrP<sup>Sc</sup>, (Prusiner et al., 1982).

**1986:** Για πρώτη φορά εντοπίστηκε μια κληρονομική ασθένεια που χαρακτηρίζεται από εκφυλισμό του θαλάμου, προοδευτική απώλεια νευρολογικών χαρακτηριστικών που διαταράσσουν τον ύπνο, με κινητικές ανωμαλίες και υπερενεργοποίηση του αυτόνομου νευρικού συστήματος του εγκεφάλου που αναφέρεται ως θανατηφόρος οικογενής αϋπνία (fatal familial insomnia-FFI), (Beckerman M., 2015, Gambetti P. and Notari S., 2013).

**1996:** Προσδιορίστηκε νέα παραλλαγή της ασθένειας CJD (vCJD- variant of Creutzfeldt-Jakob Disease), η οποία σημειώθηκε στο Ηνωμένο Βασίλειο, με χαρακτηριστικά που συνάδουν με μια διάγνωση CJD, αλλά με νεότερη μέση ηλικία έναρξης και είναι η μόνη ανθρώπινη ΜΣΕ που συνδέεται με την σπογγώδη εγκεφαλοπάθεια των βοοειδών (ΣΕΒ), (Whitechurch B.C., et al, 2017, Beckerman M., 2015, Zanusso G. and Monaco S., 2013, Brown P., 2013).

**1997:** Βραβείο Nobel στην Φυσιολογία και Ιατρική στον Dr. Prusiner για την ανακάλυψη των Prions. Παρουσιάστηκαν αποδεικτικά στοιχεία ότι η vCJD προκαλείται από τον παράγοντα ΣΕΒ και ότι η αιτία της επιδημίας vCJD, ήταν η κατανάλωση τροφίμων από βοοειδή που είχαν μολυνθεί με την μολυσματική μορφή prion που προκαλεί σπογγώδη εγκεφαλοπάθεια των βοοειδών. Επίσης αναφέρθηκε για τα Β-λεμφοκύτταρα, ότι είναι βασικός ο ρόλος τους στην περιφερική μετάδοση των Prions, (Prusiner S.B., 1997).

**2001:** Σημαντική ερευνητική στιγμή στην μελέτη των Prions: Ανάπτυξη της μεθόδου Protein Misfolding Cycling Amplification (PMCA), που διευκόλυνε σημαντικά τον *in vitro* πολλαπλασιασμό του παθογόνου παράγοντα, (Moda F., 2017).

**2008:** Αναφορά νόσου που ανήκει στις σποραδικές ασθένειες του Creutzfeldt-Jakob, και ονομάστηκε ως παραλλαγή ανώμαλης μορφής prion πρωτεΐνης με ευαισθησία στην δράση της πρωτεάσης (Variably protease-sensitive prionopathy-VPSP), (Gambetti P. and Notari S., 2013).





## Κεφάλαιο 3

# ΜΕΤΑΔΟΤΙΚΕΣ ΣΠΟΓΓΩΔΕΙΣ ΕΚΕΦΑΛΟΠΑΘΕΙΕΣ (ΜΣΕ) ή ΝΟΣΟΙ ΤΩΝ PRIONS ΣΤΑ ΖΩΑ ΚΑΙ ΣΤΟΝ ΑΝΘΡΩΠΟ

**3.1. ΕΙΣΑΓΩΓΙΚΑ ΣΤΟΙΧΕΙΑ ΠΕΡΙ PRIONS**

**3.2. Η ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΚΗ ΜΟΡΦΗ (PRP<sup>C</sup> : CELLULAR PRION PROTEIN)**

**3.3. Η ΤΡΟΠΟΠΟΙΗΜΕΝΗ ΜΟΡΦΗ (PRP<sup>Sc</sup>)**

**3.4. ΠΕΡΙ ΜΟΛΥΣΜΑΤΙΚΟΤΗΤΑΣ ΤΗΣ PrP<sup>Sc</sup>**

**3.5. ΠΕΡΙ ΑΡΧΙΚΟΥ ΕΡΕΘΙΣΜΑΤΟΣ ΚΑΙ ΑΙΤΙΟΥ ΤΩΝ ΝΟΣΩΝ**

**3.6. ΤΡΟΠΟΙ ΚΑΙ ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΙ ΜΟΛΥΝΣΗΣ**

## ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3: ΜΕΤΑΛΟΤΙΚΕΣ ΣΠΟΓΓΩΔΕΙΣ ΕΚΕΦΑΛΟΠΑΘΕΙΕΣ (ΜΣΕ) ή ΝΟΣΟΙ ΤΩΝ PRIONS ΣΤΑ ΖΩΑ ΚΑΙ ΣΤΟΝ ΑΝΘΡΩΠΟ

### 3.1. ΕΙΣΑΓΩΓΙΚΑ ΣΤΟΙΧΕΙΑ ΠΕΡΙ PRIONS

Αν διατρέξουμε την βιβλιογραφία θα δούμε διάφορους όρους που περιγράφουν τις διάφορες διαμορφώσεις της πρωτεΐνης prion ή την νόσο που προκαλεί κάποια διαμόρφωσή της.

**Πρωτεΐνη κυτταρικής Prion (PrP<sup>Cellular</sup>):** Η φυσιολογική κυτταρική πρωτεΐνη prion είναι μια γλυκοπρωτεΐνη και απαντάται συνήθως στις κυτταρικές μεμβράνες των περισσότερων κυττάρων του οργανισμού και λιγότερο συχνότερα σε ελεύθερη μορφή. Εκφράζεται σε υψηλά επίπεδα στα κύτταρα του εγκεφάλου, έχει κυρίως δομή α-έλικα και λιγότερο β-πτυχώση. Είναι διαλυτή σε απορρυπαντικά και διασπάται από πρωτεάσες. Η PrP<sup>C</sup> κωδικοποιείται από το γονίδιο PRNP στους ανθρώπους και το γονίδιο Prnp στα ποντίκια.

**Πρωτεΐνη Prion που σχετίζεται με νόσο (PrP<sup>Scrapie</sup>):** Ανώμαλη μορφή της φυσικής πρωτεΐνης που οφείλεται σε λανθασμένη αναδίπλωση της. Είναι μετα-μεταφραστικά τροποποιημένη (μη φυσιολογική) ισομορφή της PrP<sup>C</sup>, με σημαντική περιεκτικότητα σε β-πτυχωτή δομή. Είναι αδιάλυτη σε μη μετουσιωτικούς παράγοντες και παρουσιάζει μερική αντίσταση στη πρωτεάση.

**Prion (Proteinaceous Infectious Particles, πρωτεϊνικά μολυσματικά σωματίδια):** Λειτουργικός όρος που υποδηλώνει τον μεταδοτικό παράγοντα της νόσου των prions. Σύμφωνα με την υπόθεση της μόνο-πρωτεΐνης, ένα βασικό συστατικό των prions είναι η PrP<sup>Sc</sup>.

**Στελέχη Prion:** Αυτο-πολλαπλασιαζόμενες ανώμαλες διαμορφώσεις της πρωτεΐνης prion, που διαφέρουν δραστικά μεταξύ τους ως προς την περίοδο επώασης, το διαφορετικό βιοχημικό προφίλ (π.χ. ηλεκτροφορητική κινητικότητα) και την κατανομή των εγκεφαλικών βλαβών. Αυτές οι ανώμαλες διαμορφώσεις όταν μεταδίδονται σε διαφορετικούς ξενιστές του ίδιου είδους ή σε διαφορετικά είδη του ζωικού βασιλείου, χαρακτηρίζονται από παθολογίες που διακρίνονται από διάφορους νευροπαθολογικούς φαινότυπους.

**Νόσος Prion:** Θανατηφόρα νευροεκφυλιστική διαταραχή, επίσης γνωστή ως μεταδοτική σπογγώδης εγκεφαλοπάθεια, που επηρεάζει ανθρώπους και ζώα, και χαρακτηρίζεται από τη συσσώρευση της PrP<sup>Sc</sup> στα κύτταρα του εγκεφάλου. Οι ασθένειες Prion του ανθρώπου, αναπτύσσονται σποραδικά, μπορούν να κληρονομηθούν λόγω μεταλλάξεων στο γονίδιο PRNP ή να αποκτηθούν μέσω μόλυνσης με ανθρώπινα ή ζωικά Prion μέσω διαφόρων οδών, όπως για παράδειγμα μέσω της πεπτικής οδού που είναι η πιο συνήθης, (Brandner, S. and Jaunmuktane, Z., 2017).

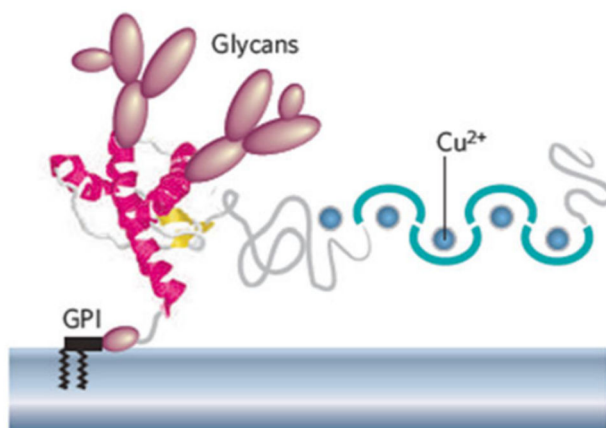
### 3.2. Η ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΚΗ ΜΟΡΦΗ (PrP<sup>C</sup>: CELLULAR PRION PROTEIN)

Αυτή η μορφή της κυτταρικής πρωτεΐνης βρίσκεται σχεδόν σε όλους τους ιστούς του σώματος αν και με αυξημένη έκφραση στο κεντρικό νευρικό σύστημα. Οι περισσότερες αναφορές δείχνουν ότι η PrP<sup>C</sup> εκφράζεται όχι μόνο σε νευρώνες αλλά



και σε αστροκύτταρα, ολιγοδενδροκύτταρα και την μικρογλοία. Τα ενδοθηλιακά κύτταρα στα τοιχώματα των αιμοφόρων αγγείων του πρόσθιου εγκεφάλου εκφράζουν και αυτά την PrP<sup>C</sup>. Επίσης η έκφραση της PrP<sup>C</sup> έχει αναφερθεί και στο Περιφερικό Νευρικό Σύστημα, όπως τα γάγγλια της ράχης και της κοιλιακής ρίζας του νωτιαίου μυελού, τους αισθητικούς και κινητικούς νευρικούς άξονες και τα κύτταρα του Schwann. Εκτός του νευρικού συστήματος, η έκφραση της PrP<sup>C</sup> έχει ανιχνευθεί και σε κύτταρα του ανοσοποιητικού, που είναι τα T-λεμφοκύτταρα, τα φυσικά φονικά κύτταρα και τα ιστιοκύτταρα, καθώς επίσης και σε κύτταρα πολλών οργάνων, όπως η καρδιά, το πάγκρεας, το έντερο, ο σπλήνας, το ήπαρ και τα νεφρά, (Castle A.R. and Gill A.C., 2017). Η PrP<sup>C</sup> εκφράζεται σε πολλά είδη σπονδυλωτών, συμπεριλαμβανομένων των αμφίβιων, των πτηνών, των ψαριών, των θηλαστικών και των ερπετών. Αυτό υποδηλώνει ότι η PrP<sup>C</sup> παίζει κάποιο ζωτικό λειτουργικό ρόλο, (Whitechurch B.C., et al, 2017).

Η φυσιολογική κυτταρική πρωτεΐνη prion (PrP<sup>C</sup>) είναι μια **γλυκοπρωτεΐνη** και όπως όλες οι πρωτεΐνες συντίθεται στο ενδοπλασματικό δίκτυο των κυττάρων. Στη συσκευή Golgi υφίσταται επεξεργασία και ολοκληρώνεται σαν πρωτεΐνη. Στην συνέχεια μεταφέρεται στην κυτταρική επιφάνεια, η οποία προσδένεται στην εξωτερική επιφάνεια του κυττάρου, μέσω μιας σύνδεσης με την **γλυκοφωσφατιδυλινοσιτόλη** (GPI-glycophosphatidylinositol), που συνιστά ένα φωσφολιπίδιο των μεμβρανών (Εικόνα 2), (Whitechurch B.C., et al, 2017).

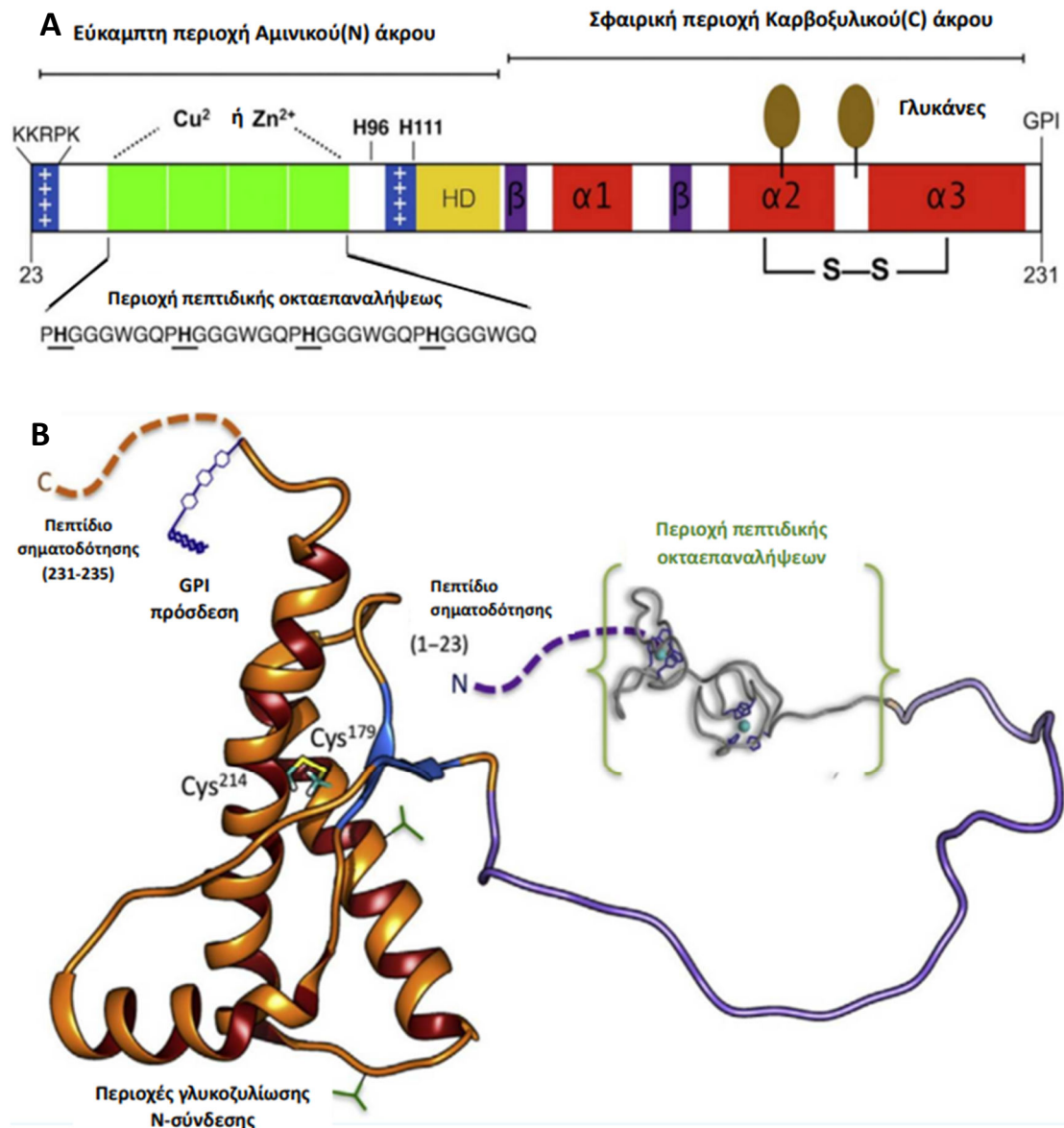


**Εικόνα 2:** Σχηματική απεικόνιση μιας πρωτεΐνης prion PrP στην επιφάνεια του κυττάρου. Εμφανίζονται δύο τομείς μια συμπαγή περιοχή Καρβοξυλικού(C)-άκρου που προσδένεται στην κυτταρική επιφάνεια με σύνδεση GPI και μια εύκαμπτη περιοχή Αμινικού(N)-άκρου που δεσμεύει ιόντα χαλκού και άλλα μέταλλα. Ο συμπαγής τομέας περιέχει τρεις α-έλικες που εμφανίζονται με κόκκινο και ένα ζεύγος κοντών αντιπαράλληλων β-κλώνων που απεικονίζονται με κίτρινο χρώμα, (Beckerman M. Prion Diseases, 2015).

### 3.2.1. Η Δομή της PrP<sup>C</sup>

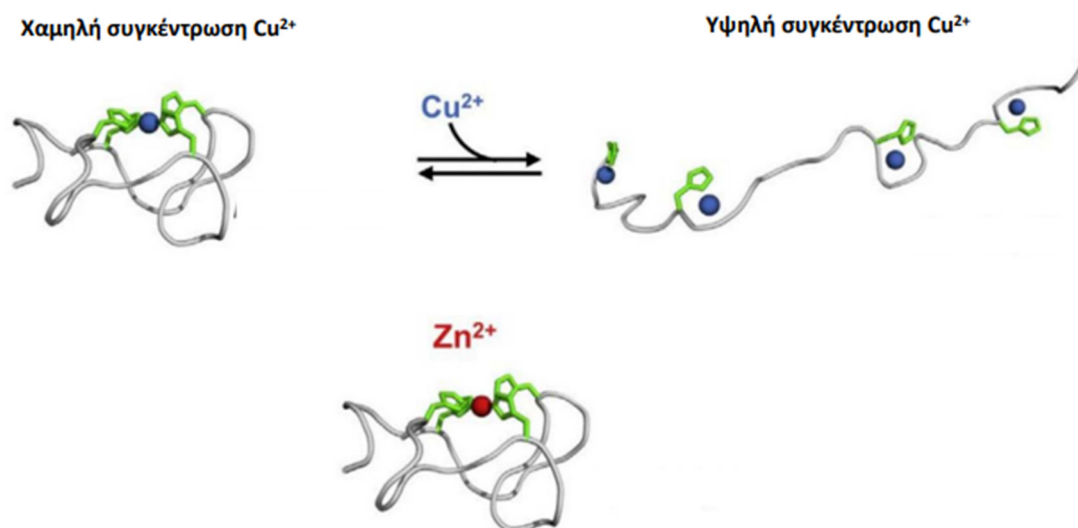
Η δομή της κυτταρικής πρωτεΐνης PrP<sup>C</sup> αποτελείται από δύο τομείς, την σφαιρική περιοχή μαζί με το καρβοξυλικό(C)-άκρο και την περιοχή του Αμινικού(N)-άκρου. Η σφαιρική περιοχή αποτελείται από τρεις α-έλικες ( $\alpha 1$ ,  $\alpha 2$  &  $\alpha 3$ ) και μια μικρή περιοχή με 2 β- φύλλα που είναι αντιπαράλληλα. Ένας απλός δισουλφιδικός δεσμός μεταξύ των κυστεϊνών Cys179–Cys214, συνδέει την  $\alpha 2$  και την  $\alpha 3$  έλικα για το

σχηματισμό και τη διατήρηση της τριτοταγούς δομής (Εικόνα 3, σχήμα A & B), (Rossetti G. and Carloni P., 2017).



**Εικόνα 3:** Σχήμα A σε όψη 2 διαστάσεων (εν μέρει ξεδιπλωμένη) και το σχήμα B σε τρισδιάστατη όψη της HuPrP<sup>C</sup>. (HumanPrP<sup>C</sup> - Ανθρώπινη κυτταρική Prion). Διαθέτει μια περιοχή επανάληψης οκταπεπτιδίου (OR-octarepeat peptide), που συμμετέχει στη σύνδεση ιόντων  $\text{Cu}^{+2}$  στο αμινοκί(N)-άκρο (στις πράσινες αγκύλες απεικονίζεται ένα παράδειγμα δέσμευσης ιόντος  $\text{Cu}^{+2}$  ή  $\text{Zn}^{+2}$ ). Τα δύο  $\beta$ -φύλλα ( $\beta 1$  και  $\beta 2$ ), οι τρεις  $\alpha$ -έλικες ( $\alpha 1$ ,  $\alpha 2$ , και  $\alpha 3$ ), ένας δισουλφιδικός δεσμός (SS) μεταξύ των αμινοξέων κυστεΐνης 179 και 214. Οι έλικες  $\alpha 2$  και  $\alpha 3$  που συνδέονται με τον δεσμό SS αποτελούν τον τομέα  $\alpha 2$ - $\alpha 3$ . Μια σύνδεση γλυκοζυλοφωσφατιδυλινοσιτόλης (GPI, με μπλε χρώμα) προσαρτάται στο Καρβοξυλικό(C)-άκρο, το οποίο συνδέει την πρωτεΐνη στην εξωτερική κυτταρική μεμβράνη. Σχήμα A: (Evans E.G.B. and Millhauser G.L. 2017), Σχήμα B: (Rossetti G. and Carloni P., 2017).

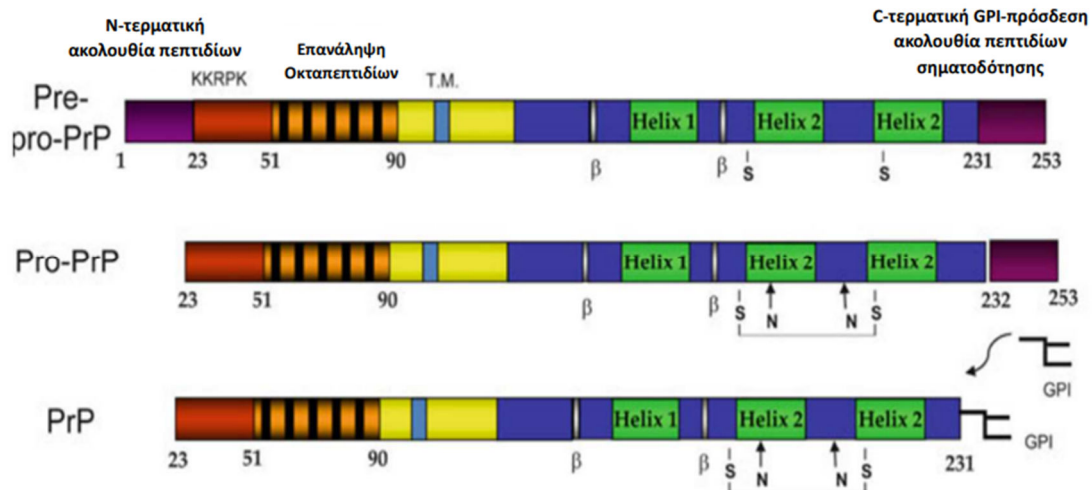
Η κυτταρική πρωτεΐνη PrP<sup>C</sup> συμβάλει σημαντικά στην ομοιόσταση των μεταλλικών ιόντων στο κυτταρικό περιβάλλον των νευρώνων όταν υπάρχουν διακυμάνσεις στις συγκεντρώσεις τους. Η περιοχή του Αμινοκικού(N)-άκρου της PrP<sup>C</sup> που είναι σε φυσική αταξία και μερικές φορές αναφέρεται ως «εύκαμπτη ουρά», εκτελεί σημαντικές φυσιολογικές λειτουργίες όσον αφορά την ομοιόσταση των μεταλλικών ιόντων. Στην περιοχή αυτή της εύκαμπτης ουράς περιέχονται χαρακτηριστικές επαναλήψεις οκτώ πεπτιδίων (περιοχή OR, OctaRepeat Peptide) πλούσιες σε γλυκίνη (ανθρώπινη αλληλουχία PHGGGWGQ) που επιτρέπει στην πρωτεΐνη να δεσμεύει τα ιόντα των μετάλλων του χαλκού (Cu<sup>2+</sup>) και του (Zn<sup>2+</sup>) ψευδαργύρου και με μικρότερη συγγένεια του μαγγανίου και του νικελίου. Η πρόσληψη του ψευδαργύρου από την PrP<sup>C</sup> γίνεται από τις πλευρικές αλυσίδες της ιμιδαζόλης και από τα τέσσερα υπολείμματα ιστιδίνης της οκταπεπτιδικής ουράς, ενώ η σύνδεση του χαλκού είναι πιο πολύπλοκη, επειδή η σύνδεση του εξαρτάται σε μεγάλο βαθμό από τη σχετική συγκέντρωση του Cu<sup>2+</sup> και το pH του περιβάλλοντος χώρου (Εικόνα 4), (Evans E.G.B. and Millhauser G.L., 2017).



**Εικόνα 4:** Η διαμόρφωση της οκταπεπτιδικής ουράς της PrP<sup>C</sup> κατά την δέσμευση των ιόντων Cu<sup>2+</sup> και Zn<sup>2+</sup>. Οι πλευρικές αλυσίδες ιστιδίνης έχουν πράσινο χρώμα όπου γίνεται η δέσμευση των ιόντων. Στη περίπτωση του χαλκού δεξιά, η συγκέντρωση των ιόντων του είναι σε υψηλές συγκεντρώσεις και φαίνεται το ξεδίπλωμα της οκταπεπτιδικής ουράς, (Evans E.G.B. and Millhauser G.L. 2017).

### 3.2.2. Από το Γονίδιο στην Λειτουργία της Πρωτεΐνης PrP<sup>C</sup>

Στον άνθρωπο η πρωτεΐνη PrP κωδικοποιείται από το PRNP, ένα μικρό γονίδιο στο **χρωμόσωμα 20** που παράγει αρχικά την προ-προ-PrP αποτελούμενη από 253 αμινοξέα. Στην συνέχεια γίνεται η παραγωγή μιας ενδιάμεσης μορφής της προ-PrP με 231 αμινοξέα, για να καταλήξει στην τελική μορφή μιας ώριμης πρωτεΐνης αποτελούμενη από 208 αμινοξέα με την προσθήκη της GPI στο καρβοξυλικό άκρο (Εικόνα 5), (Whitechurch B.C., et al, 2017, Xin W., et al, 2013).



**Εικόνα 5:** Η μετα-μεταφραστική τροποποίηση της φυσιολογικής κυτταρικής πρωτεΐνης PrP. Ξεκινώντας από την Pre-pro-PrP, μετά την Pro-PrP έως την τελική ώριμη prion της PrP, (Xin W., et al, 2013).

### 3.2.3. Διάφοροι Ρόλοι της PrP<sup>C</sup> στη Λειτουργία του ΚΝΣ

Καθώς η PrP<sup>C</sup> εκφράζεται σε μεγαλύτερη αφθονία στον εγκέφαλο, η λειτουργία της PrP<sup>C</sup> έχει μελετηθεί περισσότερο στο πεδίο των νευρώνων. Τα παθογόνα prions είναι τοξικά όταν μεταβάλλεται η φυσιολογική λειτουργία της PrP<sup>C</sup> στους νευρώνες, με αποτέλεσμα να διενεργηθούν πολλές έρευνες όσον αφορά τον φυσιολογικό ρόλο που ασκεί η PrP<sup>C</sup> σε αυτά τα κύτταρα.

Η αφαίρεση του γονιδίου PrP<sup>C</sup> σε διαγονιδιακά ποντίκια προκαλεί ελαττώματα στις συνάψεις των νευρώνων. Η ρύθμιση της έκφρασης του γονιδίου PRNP στον άνθρωπο και η παρουσία της PrP<sup>C</sup> στους νευρώνες παίζει σημαντικό ρόλο στην λειτουργία της μνήμης, καθώς οι έρευνες έδειξαν ότι σχετίζεται με την μακροπρόθεσμη μνήμη και την γλωσσική ανάπτυξη. Επίσης η έκφραση του γονιδίου Prnp στα ποντίκια έδειξε ότι εμπλέκεται στη ρύθμιση του κερκάδιου ρυθμού (μια βιολογική διαδικασία) που επηρεάζει κατά πολύ την συμπεριφορά κατά την διάρκεια της ημέρας, (Hirsch T.Z., et al, 2017).

### Η συμβολή της PrP<sup>C</sup> στην Νευρογένεση και διαφοροποίηση των νευρώνων

Η συμβολή της PrP<sup>C</sup> στην λειτουργία του μηχανισμού των συνάψεων μπορεί να ενεργήσει σε διαφορετικά επίπεδα. Ένα από αυτά, αφορά την διαφοροποίηση των νευρώνων (επιμήκυνση των νευρώνων και ανάπτυξη συνάψεων) και την ηλεκτρική σύνδεση του εγκεφάλου. Το άλλο αφορά την συμβολή στην δομική διατήρηση της σύναψης στους ώριμους νευρώνες, διατηρώντας τα κυτταροσκελετικά συστατικά τους. Αυτή η θετική επίδραση της PrP<sup>C</sup> δεν λειτουργεί από μόνη της, αλλά στην αλληλεπίδραση της PrP<sup>C</sup> με διάφορους συνεργάτες σύζευξης (Πίνακας 3) όπως:

- το μόριο προσκόλλησης νευρικών κυττάρων **NCAM** (neural cell adhesion molecule, μόριο που εκτός της προσκόλλησης, εμπλέκεται στην ανάπτυξη και την προσαρμοστικότητα του νευρώνα, καθώς στην μάθηση και την μνήμη),

- τη **λαμινίνη** ή αλλιώς «κόλα των κυττάρων» που είναι μέρος της κυτταρικής εξωκυτταρικής μήτρας (ECM: extracellular matrix, η εξωκυτταρική μήτρα ή αλλιώς διακυτταρική μήτρα). Είναι ένα δίκτυο που αποτελείται από εξωκυτταρικά μακρομόρια και μέταλλα, όπως το κολλαγόνο, τα ένζυμα, τις γλυκοπρωτεΐνες, κ.α, τα οποία βρίσκονται στους μεσοκυττάριους χώρους και συμμετέχουν στην κυτταρική προσκόλληση, στην επικοινωνία μεταξύ των κυττάρων και στην διαφοροποίηση τους. Συνιστά ένα από τα κύρια συστατικά της βασικής μεμβράνης που ανήκει στις συγκολλητικές γλυκοπρωτεΐνες που ρυθμίζουν την κυτταρική προσκόλληση, την διαφοροποίηση, τη μετανάστευση και την πρόσφυση των κυττάρων,
- τις **ιντεγκρίνες** που είναι διαμεμβρανικοί υποδοχείς και βοηθούν στην προσκόλληση των κυττάρων μεταξύ τους και της κυτταρικής εξωκυτταρικής μήτρας ECM,
- την **βιτρονεκτίνη**, μια γλυκοπρωτεΐνη που βρίσκεται άφθονη στην ECM και προάγει την προσκόλληση και την εξάπλωση των κυττάρων. Έχει μια θέση σύνδεσης για τις ιντεγκρίνες, η οποία χρησιμεύει για την πρόσδεση των κυττάρων στην εξωκυτταρική μήτρα ECM.

Στην περίπτωση λοίμωξης από prion, η PrP<sup>C</sup> δεν είναι πλέον λειτουργική, καθώς αλλάζει η αρχιτεκτονική των νευρικών κυττάρων, με αποτέλεσμα την δυσλειτουργική πόλωση των νευρώνων, καθώς διαταράσσει την ηλεκτρική σύνδεση του εγκεφάλου και την πρόκληση βλάβης των νευροδιαβιβαστών. Αυτό έχει ως συνέπεια την κατάρρευση της επικοινωνίας μεταξύ των νευρώνων, (Hirsch T.Z., et al, 2017).

### **Εξיסορρόπηση νευροπροστασίας και νευροτοξικότητας από την PrP<sup>C</sup>**

Αρκετές παρατηρήσεις που γίνανε σε ποντίκια *in vivo*, έδειξαν ότι ο τομέας του αμινικού(N)-άκρου της PrP<sup>C</sup> που είναι η εύκαμπτη ουρά, ασκεί νευροπροστατευτική δράση έναντι διάφορων νευροτοξικών παραγόντων. Αυτό οφείλεται στην ευκαμψία της «ουράς» και της ιδιότητα της να δεσμεύει ευκολότερα κάποια μόρια. Κάποια από αυτά τα μόρια μπορεί να είναι αντισώματα, τα οποία στοχεύουν τις παθολογικές διαμορφώσεις πάνω στην κυτταρική επιφάνεια, με αποτέλεσμα την δρομολόγηση της απόπτωσης του κυττάρου. Σε μια έρευνα που διεξάχθηκε από την ομάδα του Aguzzi, χρησιμοποιήθηκε ένας μεγάλος αριθμός αντισωμάτων που στόχευαν διάφορους επιτόπους της PrP<sup>C</sup> και μιμούσαν την επίδραση όπως συμβαίνει σε λοίμωξη από prion. Παρατήρησαν ότι τα αντισώματα επικάθονται στην εύκαμπτη ουρά του αμινικού(N)-άκρου της PrP<sup>C</sup>, η οποία λειτουργεί ως ασπίδα στην προστασία της σφαιρικής περιοχής του μορίου της PrP<sup>C</sup> πρωτεΐνης. Έτσι η απουσία επαφής με τα αντισώματα και τα τοξικά σήματα αυτών, την καθιστούσαν λειτουργική ως υποδοχέα χωρίς να επηρεάζονται αρνητικά τα κύτταρα. Αντίθετα στην μεταλλαγμένη μορφή της PrP<sup>C</sup>, η εύκαμπτη ουρά του αμινικού(N)-άκρου απουσίαζε ή δεν ήταν λειτουργική και έτσι όλο το μόριο ήταν εκτεθειμένο στα αντισώματα και δεν προστατευόταν από τις βλαβερές επιδράσεις αυτών.

Σε άλλες μελέτες, με γονιδιακά ποντίκια που εξέφραζαν μεταλλαγμένες μορφές της PrP<sup>C</sup>, όπως με έλλειμα του αμινικού(N)-άκρου της PrP<sup>C</sup>, αποδείχθηκε ότι νοσούσαν από αταξία στις κινήσεις τους και εκφυλισμό της παρεγκεφαλίδας. Τα αποτελέσματα αυτά έδειξαν και επιβεβαίωσαν τον προστατευτικό ρόλο του αμινικού(N)-άκρου της εύκαμπτης ουράς της PrP<sup>C</sup>.



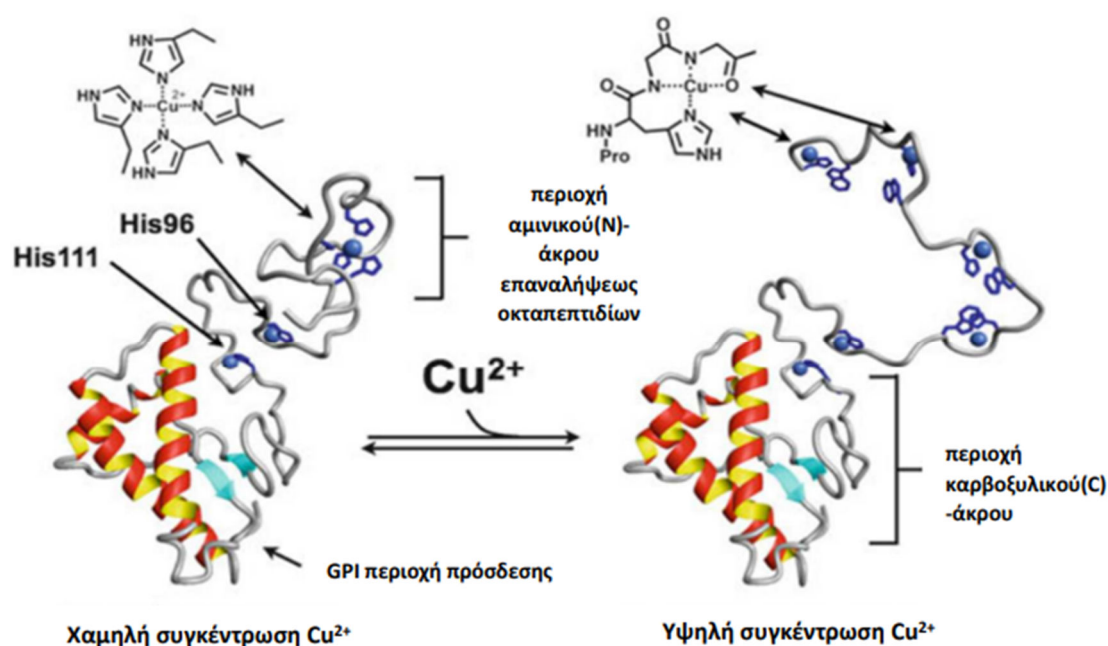
## Η PrP<sup>C</sup> στα νευρογλοιακά κύτταρα

Η συμβολή της PrP<sup>C</sup> στην σωστή λειτουργία του εγκεφάλου περιλαμβάνει την αλληλεπίδραση των νευρώνων με τα νευρογλοιακά κύτταρα (κύτταρα του κεντρικού και περιφερικού νευρικού συστήματος που παρέχουν υποστήριξη και προστασία στους νευρώνες, όπως τα αστροκύτταρα, τα ολιγοδενδροκύτταρα, τα μικρογλοία, τα επενδυτικά κύτταρα, τα κύτταρα του Schwann, κ.α.). Κάποιες από τις λειτουργίες της PrP<sup>C</sup> είναι:

- Η εμπλοκή της στην διεπαφή μεταξύ νευρώνων και των κυττάρων του Schwann.
- Η προαγωγή της νευρογένεσης των αστροκυττάρων και την επιβίωση των νευρώνων. Αυτό γίνεται μέσω της προστασίας, σε συνθήκες στρες, τόσο στα ίδια τα αστροκύτταρα όσο και στους γειτονικούς νευρώνες,
- Η ρύθμιση των εξωσωμάτων, όταν μεταφέρεται από τα αστροκύτταρα στους νευρώνες μέσω εξωσωμάτων (εξωκυτταρικά κυστίδια που μεταφέρουν εξωκυτταρικά διάφορα μόρια, πρωτεΐνες και γενετικό υλικό) και πιθανόν να διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στην διακυτταρική επικοινωνία των νευρώνων, κατ' επέκταση στην καλή λειτουργία του εγκεφάλου,
- Η έλλειψη της PrP<sup>C</sup> στα αστροκύτταρα, προκαλεί την έλλειψη μεταφοράς του γαλακτικού, με αποτέλεσμα την διαταραχή της δραστηριότητας του κυττάρου στην μεταφορά των αμινοξέων, (Hirsch T.Z., et al, 2017).

## Η μεταλλική σύνδεση της PrP<sup>C</sup> με ιόντα μετάλλων

Όσον αφορά την νευροπροστασία, ο προστατευτικός ρόλος του αμινικού(N)-άκρου της PrP<sup>C</sup> αποδίδεται στις ιδιότητες της εύκαμπτης ουράς της, η οποία λειτουργεί σαν μεταφορέας διάφορων μετάλλων (Εικόνα 6). Συγκεκριμένα μεταφέρει, στο εσωτερικό του κυττάρου τα μέταλλα χαλκού και ψευδαργύρου και στο εξωτερικό του κυττάρου τα ελεύθερα ιόντα του Cu<sup>2+</sup> και Zn<sup>2+</sup> που δεν εισέρχονται στο κύτταρο λόγω της κυτταροτοξικότητας που επιδεικνύουν, (Evans E.G.B. and Millhauser G.L., 2017).



**Εικόνα 6:** Δομικά χαρακτηριστικά της PrP<sup>C</sup> σε χαμηλές και υψηλές συγκεντρώσεις Cu<sup>2+</sup>. Η περιοχή του καρβοξυλικού(C)-άκρου είναι ελικοειδής, ενώ η περιοχή του αμινικού(N)-άκρου είναι εύκαμπτη και ικανή να αναδιαρθρωθεί για να φιλοξενήσει διαφορετικές συγκεντρώσεις του χαλκού. Σε χαμηλές συγκεντρώσεις Cu<sup>2+</sup>, το μεταλλικό ιόν εντοπίζεται στις θέσεις της (ιστιδίνης) His96 και His111, όπου το μεμονωμένο ιόν του χαλκού δεσμεύεται στην περιοχή οκταπεπτιδικών επαναλήψεων (OR, Octarepeat) από τις τέσσερις πλευρικές αλυσίδες της ιμιδαζόλης της His (αριστερή εικόνα). Σε υψηλές συγκεντρώσεις Cu<sup>2+</sup>, η περιοχή των οκταπεπτιδικών επαναλήψεων (OR) αναδιαρθρώνεται για να λάβει τέσσερα ιόντα χαλκού, κάθε ιόν σε μονή πλευρική αλυσίδα και από τα άζωτα του σκελετού της His (δεξιά εικόνα), (Millhauser G.L., 2013).

Ο χαλκός και ο ψευδάργυρος είναι απαραίτητα ιχνοστοιχεία για την σωστή λειτουργία αρκετών μακρομορίων, όπως τους παράγοντες μεταγραφής (ειδικές πρωτεΐνες που συμμετέχουν στην ενεργοποίηση ή την καταστολή της γονιδιακής έκφρασης, δηλαδή της μεταγραφής του DNA σε RNA) και τις πρωτεΐνες που σχετίζονται με την προστασία από το οξειδωτικό stress. Για παράδειγμα η πρωτεΐνη SOD (Super Oxide Dismutase, δισμουτάση του υπεροξειδίου) δρα ως αντιοξειδωτικό και αντιφλεγμονώδες ένζυμο στο σώμα, εξουδετερώνοντας τις ελεύθερες ρίζες που μπορούν να οδηγήσουν σε προκαρκινικές μεταβολές των κυττάρων. Έτσι ποντίκια που υπερεκφράζουν την PrP αυξάνουν την δράση της, με αποτέλεσμα τα επίπεδα του χαλκού και του ψευδαργύρου να μειώνονται. Αντιθέτως όταν υπάρχει απουσία του γονιδίου PRNP, η ενζυματική δράση της SOD μειώνεται κατά 50% στον εγκέφαλο. Έχει επίσης διαπιστωθεί ότι η PrP<sup>C</sup> ρυθμίζει την απευαισθητοποίηση των υποδοχέων NMDA (N-methyl-D-aspartate, N-μεθυλο-D-ασπαρτικού), έναν υποδοχέα του γλουταμινικού και ιοντικού διαύλου, που είναι ο κύριος διεγερτικός υποδοχέας στους νευρώνες. Η απευαισθητοποίηση που προκαλεί, προστατεύει τους νευρώνες από διεγερτική τοξικότητα και υπερβολική εισροή ασβεστίου που προκαλείται από παρατεταμένη έκθεση στο γλουταμικό. Η σωστή ενεργοποίηση του μηχανισμού απευαισθητοποίησης του NMDA υποδοχέα απαιτεί την αλληλεπίδραση με PrP<sup>C</sup> που είναι δεσμευμένη με Cu<sup>2+</sup>. Μια άλλη μελέτη διαπίστωσε ότι η αλληλεπίδραση της PrP<sup>C</sup> με τον μεταφορέα γλουταμικού EAAT3 (Neuronal excitatory amino acid transporter, Διεγερτικός μεταφορέας αμινοξέων νευρώνα) στους νευρώνες, ήταν απαραίτητη για τη σωστή πρόσληψη γλουταμικού και την προστασία από το οξειδωτικό στρες. Αποτέλεσμα των διάφορων παρατηρήσεων έδειξαν ότι η ρύθμιση της λειτουργίας του NMDA υποδοχέα από την PrP<sup>C</sup> εξαρτάται σε μεγάλο βαθμό από την ικανότητα της PrP<sup>C</sup> να δεσμεύει Cu<sup>2+</sup> και Zn<sup>2+</sup> μέσω της εύκαμπτης περιοχής του αμινικού(N)-άκρου, (Evans E.G.B. and Millhauser G.L., 2017).

Σύμφωνα με τις παραπάνω παρατηρήσεις και μιας μεταγενέστερης μελέτης του Gasperini και των συνεργατών του, διαπίστωσαν ότι η PrP<sup>C</sup> συνεργάζεται με τον χαλκό για να προκαλέσει S-νιτροζυλίωση του υποδοχέα NMDA (διεργασία η οποία αδρανοποιεί το μονοξειδίο του αζώτου, που σε ορισμένες συνθήκες αν απελευθερωθεί μπορεί να καταλήξει ως τοξική ελεύθερη ρίζα). Εκτός από τον χαλκό, η PrP<sup>C</sup> δεσμεύει επίσης ιόντα ψευδαργύρου και διευκολύνει την πρόσληψή τους στα νευρικά κύτταρα μέσω των υποδοχέων AMPA ( $\alpha$ -amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazolepropionic acid receptor, ο υποδοχέας του  $\alpha$ -αμινο-3-υδροξυ-5-μεθυλο-4-ισοξαζολοπροπιονικού οξέος είναι ένας ιοντοτροπικός διαμεμβρανικός υποδοχέας του νευροδιαβιβαστή γλουταμινικού οξέος). Συνολικά, αρκετές αναφορές συγκλίνουν σε έναν προστατευτικό ρόλο έναντι της διεγερτικής τοξικότητας που προκαλείται από το

γλουταμικό οξύ στους υποδοχείς και οδήγησαν στο συμπέρασμα ότι η αλληλεπίδραση της PrP<sup>C</sup> με τα μεταλλικά ιόντα παίζει σημαντικό ρόλο στην νευροπροστασία, (Hirsch T.Z., et al, 2017).

### **Εμπλοκή της PrP<sup>C</sup> με τους υποδοχείς νευροδιαβιβαστών στις νευροδιαβιβαστικές λειτουργίες**

Σημαντικές μελέτες έδειξαν την ωφέλιμη αλληλεπίδραση της PrP<sup>C</sup> με τους NMDA και AMPA υποδοχείς των νευροδιαβιβαστών. Επίσης ωφέλιμες αλληλεπιδράσεις υπάρχουν στους υποδοχείς της σεροτονίνης, της ντοπαμίνης καθώς και τους χολινεργικούς υποδοχείς. Στους ζωικούς οργανισμούς η απουσία της PrP<sup>C</sup> φαίνεται να προκαλεί δυσλειτουργίες στα ντοπαμινεργικά, χολινεργικά και σεροτονινεργικά συστήματα, επειδή η PrP<sup>C</sup> συμβάλλει στη έκφραση της σύνθεσης των μονοαμινών (σεροτονίνη, κατεχολαμίνες, ντοπαμίνη, αδρεναλίνη και νοραδρεναλίνη), τον καταβολισμό τους ή στην αποδέσμευση τους. Αυτό δείχνει πόσο σημαντικό ρόλο έχει η PrP<sup>C</sup> στη διαβιβαστική ικανότητα των συνάψεων, (Hirsch T.Z., et al, 2017).

#### **3.2.4. Ο Προστατευτικός Ρόλος της PrP<sup>C</sup> στο Στρες**

Η PrP<sup>C</sup> προστατεύει από:

- Οξειδωτικό στρες μετέχοντας στην αντιοξειδωτική άμυνα
- Γονιδιοτοξικό στρες
- Ενεργοποίηση της Απόπτωσης
- Απόκλιση της πρωτεοστασίας
- Διέγερση του ανοσοποιητικού και της νευροφλεγμονής

#### **Η προστασία της PrP<sup>C</sup> από το οξειδωτικό στρες**

Μια από τις λειτουργίες της PrP<sup>C</sup> είναι και η προστατευτική της δράση από το οξειδωτικό στρες, η οποία μετέχει στην αντιοξειδωτική άμυνα με δύο τρόπους:

α) με άμεση ρύθμιση που διεξάγει η περιοχή του αμινικού(N)-άκρου στα ROS (Reactive oxidative species, αντιδραστικά είδη οξείδωσης που παράγουν μοριακό οξυγόνο ως φυσιολογικό χαρακτηριστικό της αερόβιας ζωής του κυττάρου). Με την παρουσία του ελεύθερου χαλκού αυξάνεται ο σχηματισμός των ROS και προκαλεί βλάβη στα κύτταρα, λόγω πολλών ελεύθερων ριζών οξυγόνου που παράγονται. Έτσι η περιοχή του αμινικού(N)-άκρου δεσμεύει τον χαλκό, μειώνει την παραγωγή τους και διακόπτει την αλυσιδωτή αντίδραση παραγωγής ελεύθερων ριζών,

β) με έμμεση επαγωγή, από την PrP<sup>C</sup>, του αντιοξειδωτικού ενζύμου συνθετάση της γλουταθειόνης, με αποτέλεσμα να αυξηθούν τα επίπεδα της γλουταθειόνης, η οποία είναι φυσικό αντιοξειδωτικό του οργανισμού και λόγω της οξειδοαναγωγικής της ικανότητας, δεσμεύει τις ελεύθερες ρίζες και προστατεύει το κύτταρο.

Η προστατευτική δράση της PrP<sup>C</sup> έναντι του οξειδωτικού στρες δεν περιορίζεται μόνο στους νευρώνες, αλλά και σε διάφορα άλλα κύτταρα, όπως τα αστροκύτταρα, τα μεσεγχυματικά βλαστοκύτταρα και τα κύτταρα του πλακούντα. Αυτή η λειτουργία αποτελεί τη βάση για τον ευεργετικό ρόλο που ασκεί η PrP<sup>C</sup> σε συνθήκες υποξίας, (Hirsch T.Z., et al, 2017).



## Η προστασία της PrP<sup>C</sup> από το γονιδιοτοξικό στρες

Η ευεργετική δράση της PrP<sup>C</sup> και η περιοχή του αμινικού(N)-άκρου κατά του οξειδωτικού στρες, επεκτείνονται και στην προστασία του DNA. Τα αντιδραστικά είδη οξείδωσης (ROS) προκαλούν βλάβες και στο DNA. Ο Bravard και οι συνεργάτες του μελέτησαν ότι η PrP<sup>C</sup> ανταποκρίνεται στην προστασία του DNA όταν υπάρχει έκθεση σε γονιδιοτοξικό στρες, με την αύξηση της μεταγραφής του γονιδίου PRNP στους νευρώνες. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα την αύξηση της PrP<sup>C</sup>, η οποία συσσωρεύεται στον πυρήνα και αλληλοεπιδρά με την ενδονουκλεάση APE1 (Apurinic/aryrimidinic endonuclease 1). Η ενδονουκλεάση αυτή είναι ένα πολυλειτουργικό ένζυμο που εμπλέκεται στην οδό επιδιόρθωσης εκτομής βάσης (BER, Base excision repair), το οποίο επιδιορθώνει την οξειδωτική βλάβη που προκαλείται από ενδογενείς και εξωγενείς παράγοντες και διεγείρει τη δραστηριότητα της επιδιόρθωσης.

Επίσης η αλληλοεπίδραση της PrP<sup>C</sup> με την ATM κινάση συμβάλουν και αυτά στην προστασία από το γονιδιοτοξικό στρες. Η ATM κινάση (serine/threonine kinase, κινάση σερίνης/θρεονίνης) είναι μια πολύ σημαντική κινάση που διαφυλάττει την ακεραιότητα του γονιδιώματος, η οποία φωσφορυλιώνει αρκετές βασικές πρωτεΐνες που ξεκινούν την ενεργοποίηση του σημείου ελέγχου βλάβης του DNA, οδηγώντας σε διακοπή του κυτταρικού κύκλου (επιδιόρθωση DNA ή απόπτωση). Όταν η συγκέντρωση του χαλκού αυξάνεται σε όρια που μπορεί να προκληθεί οξειδωτικό στρες, προκαλείται και ταχεία αύξηση της PrP<sup>C</sup>, που συνοδεύεται από ισχυρή φωσφορυλίωση της ATM στη Ser-1981 (Σερίνη-1981) και έτσι ενεργοποιείται, (Hirsch T.Z., et al, 2017).

## Ο προστατευτικός ρόλος της PrP<sup>C</sup> από την απόπτωση

Ο προστατευτικός ρόλος που ασκεί η PrP<sup>C</sup> έναντι διαφόρων τύπων επιβλαβών ουσιών είναι σημαντικός όπως αναφέρθηκαν παραπάνω. Η δράση της PrP<sup>C</sup> στην κυτταροπροστασία ολοκληρώθηκε και επιβεβαιώθηκε και σε διάφορα περιβάλλοντα *in vitro* και *in vivo* για την πρόκληση ενεργοποίησης του μηχανισμού της απόπτωσης, όπως:

- σε **έλλειψη ορού** σε θρεπτικό υπόστρωμα, για την μειωμένη παροχή θρεπτικών ουσιών για την ανάπτυξη των κυττάρων,
- σε **ενεργοποίηση της κασπάσης** από το αντιβιοτικό σταυροσπορίνη (οι κασπάσες αρχικά είναι ανενεργά προένζυμα στο κυτταρόπλασμα που μετατρέπονται αργότερα σε πλήρως λειτουργικές πρωτεάσες και διαδραματίζουν βασικό ρόλο στη διαδικασία της απόπτωσης),
- σε **αναστολή πρωτεϊνοσύνθεσης**, με ουσίες που δρουν στο επίπεδο των ριβοσωμάτων που σταματούν την ανάπτυξη ή τον πολλαπλασιασμό των κυττάρων,
- σε **υπερφόρτωση ασβεστίου**,
- σε **ισχαιμία**, και
- σε **διεγερτική τοξικότητα**.

Οι παραπάνω πειραματισμοί προσβλέπανε στην δημιουργία στρεσογόνων συνθηκών και την ενεργοποίηση του αποπτωτικού μηχανισμού για την καταστροφή των κυττάρων. Έτσι παρατηρήθηκε η αναστολή αυτού του μηχανισμού, με την δράση της PrP<sup>C</sup> να ρυθμίζει την απόπτωση για την επιβίωση και τον πολλαπλασιασμό των κυττάρων με κάποιους μηχανισμούς:

- Ο κυτταροπροστατευτικός ρόλος της PrP<sup>C</sup> προσδίδεται στην περιοχή του αμινοκικού(N)-άκρου της (περιληπτική περιγραφή Κεφ. 3.2.3, παρ. Εξισορρόπηση νευροπροστασίας και νευροτοξικότητας από την PrP<sup>C</sup>).
- Μπορεί να σχετίζεται με την κινητοποίησή του εξωκυτταρικού μοριακού συνοδού STI1 (Stress Inducible Protein 1, επαγόμενη από το στρες πρωτεΐνη 1, που ως μοριακός συν-συνοδός δρα για τη σωστή αναδίπλωση των πρωτεϊνών και για τη διατήρηση της κυτταρικής ομοιόστασης, αναφορά στην παρακάτω παράγρ., PrP<sup>C</sup> και ανοσοποιητικό),
- Μπορεί να σχετίζεται με την ενεργοποίηση του μονοπατιού PI3K/Akt ή της πρωτεϊνικής κινάσης A. Το PI3K (Phosphatidylinositol-4,5-bisphosphate 3-kinase), η φωσφατιδυλινοσιτόλη-4,5-διφωσφορική 3-κινάση όταν ενεργοποιείται, οδηγείται στην δέσμευση της πρωτεϊνικής κινάσης B (Akt) στην κυτταρική μεμβράνη, την ενεργοποιεί και με την σειρά της ενδοκυτταρικά η Akt φωσφορυλιώνει και ρυθμίζει τη λειτουργία πολλών κυτταρικών πρωτεϊνών που εμπλέκονται σε ενζυματικές βιολογικές επιδράσεις, που έχουν σχέση με τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό, την αναστολή της απόπτωσης, τη μετανάστευση κυττάρων, τη μεταφορά κυστιδίων και τον καρκινικό μετασχηματισμό των κυττάρων, (Hirsch T.Z., et al, 2017).

### **PrP<sup>C</sup>, ένα μόριο που επηρεάζει το ανοσοποιητικό**

Η PrP<sup>C</sup> εκφράζεται σε μεγάλο βαθμό στα κύτταρα του κεντρικού νευρικού συστήματος και κάποια από αυτά είναι και τα κύτταρα του ανοσοποιητικού του εγκεφάλου, όπως τα αστροκύτταρα και τα μικρογλοιακά κύτταρα. Η κυτταροπροστατευτική δράση που ασκεί η PrP<sup>C</sup> στον εγκέφαλο γίνεται μέσω ρυθμιστικών παραγόντων σηματοδότησης του ανοσοποιητικού που συμβάλλει στην μειωμένη διέγερση του ανοσοποιητικού του εγκεφάλου και την αποφυγή βλάβης που δημιουργείται μέσω της φλεγμονής. Διάφοροι πειραματισμοί απέδειξαν ότι η απουσία της PrP<sup>C</sup> αυξάνει την διέγερση του ανοσοποιητικού και την νευροφλεγμονή. Η προσδεμένη PrP<sup>C</sup> μέσω της GPI στην επιφάνεια αυτών των κυττάρων, αλληλοεπιδρά με πολυμοριακά σύμπλοκα της επιφάνειας και με αυτά που είναι στην εξωκυτταρική μήτρα ECM (περιληπτική περιγραφή Κεφ. 3.2.3, παρ. Η συμβολή της PrP<sup>C</sup> στην Νευρογένεση και διαφοροποίηση των νευρώνων), και την ενεργοποίηση μιας σειράς μεταγωγής σήματος. Κάποια από αυτά τα πολυμοριακά σύμπλοκα που συνεργάζεται η PrP<sup>C</sup> είναι η STI1 (stress inducible protein, πρωτεΐνη επαγόμενη από το στρες) που είναι εξωκυτταρικός μοριακός συνοδός που ενεργοποιεί ενδοκυτταρικά τις κινάσες:

- την πρωτεϊνική κινάση A (PKA- Protein kinase A), είναι μια πρωτεϊνική κινάση που ανήκει στην οικογένεια κινάσης σερίνης-θρεονίνης και ενεργοποιείται από την κυκλική μονοφωσφορική αδενοσίνη (cAMP), με διάφορες λειτουργίες στο κύτταρο, που είναι η ρύθμιση του γλυκογόνου, του σακχάρου και του μεταβολισμού των λιπιδίων.
- την mTOR (mechanistic target of rapamycin, Μηχανισμός με στόχο την ραπαμυκίνη), ρυθμίζει την κυτταρική ανάπτυξη, τον πολλαπλασιασμό των κυττάρων, την κυτταρική κινητικότητα, την επιβίωση των κυττάρων, τη σύνθεση των πρωτεϊνών, την αυτοφαγία και τη μεταγραφή.
- τις κινάσες MAP ERK1/2 (mitogen-activated protein kinases ERK1/2, Μιτογόνος πρωτεϊνική κινάση), ρυθμίζουν τις λειτουργίες των κυττάρων, όπως τον πολλαπλασιασμό τους, την γονιδιακή έκφραση, την διαφοροποίηση, την μίτωση, την κυτταρική επιβίωση και την απόπτωση.

- και την GSK3b (Glycogen synthase kinase-3 beta, Κινάση της σύνθεσης του γλυκογόνου-3 βήτα), εμπλέκεται στον ενεργειακό μεταβολισμό, στην ανάπτυξη των νευρικών κυττάρων και στο σχηματισμό μορφογένεσης.

Έτσι με την σειρά τους οι παραπάνω κινάσες ενεργοποιούν μέσω του πυρήνα την έναρξη της νευροπροστατευτικής δράσης και την ενεργοποίηση μηχανισμών για την ρύθμιση του ανοσοποιητικού για την λειτουργία αντιφλεγμονωδών παραγόντων στο νευρικό σύστημα, (Hirsch T.Z., et al, 2017).

### **Η συμμετογή της PrP<sup>C</sup> στην Πρωτεόσταση**

Η πρωτεόσταση είναι η διατήρηση της ομοιοστασίας για το σύνολο των πρωτεϊνών που εκφράζονται σε ένα οργανισμό και επιτρέπει στις κυτταρικές πρωτεΐνες να διατηρήσουν μια σωστή βιολογική δραστηριότητα μέσα στο κυτταρικό περιβάλλον. Ένας από τους πολλαπλούς ρόλους της PrP<sup>C</sup> στην συμβολή αυτού του πρωτεοστατικού δικτύου, είναι να συντονίζεται η μεταγραφή του γονιδίου Prnp μαζί με διάφορους παράγοντες αυτού του δικτύου όπως:

- ο **HSF1** (Heat shock factor 1, Παράγοντας θερμικού σοκ 1) που είναι ο κύριος μεσολαβητής των μεταγραφικών αποκρίσεων στο πρωτεοτοξικό στρες. Παίζει προστατευτικό ρόλο εξασφαλίζοντας τη σωστή αναδίπλωση και κατανομή των πρωτεϊνών μέσα στα κύτταρα. Αυτή η οδός ενεργοποιείται από το στρες της θερμοκρασίας, αλλά και από μια ποικιλία άλλων στρεσογόνων παραγόντων, όπως οι υποξικές συνθήκες και την έκθεση στους ρύπους,
- η **sXBP1** (spliced X-box binding protein 1, Πρωτεΐνη δέσμευσης ματίσματος X-box 1) που λειτουργεί ως παράγοντας μεταγραφής, η οποία ρυθμίζει την έκφραση γονιδίων τα οποία είναι σημαντικά για την καλή λειτουργία του ανοσοποιητικού συστήματος και της κυτταρικής απόκρισης στο στρες,
- η **FOXO3A** (*Forkhead box O3, Διχαλωτής κεφαλής box O3, ανθρώπινη πρωτεΐνη που κωδικοποιείται από το γονίδιο FOXO3 που ανήκει στην υποκατηγορία της οικογένειας μεταγραφικών παραγόντων του οξυγόνου*) μεσολαβεί σε πολλαπλές φυσιολογικές και παθολογικές διεργασίες προκαλώντας την μεταγραφή γονιδίων-στόχων που έχουν σχέση με την απόπτωση, τον πολλαπλασιασμό, την εξέλιξη του κυτταρικού κύκλου, την επιβίωση και τη βλάβη του DNA. Ανταποκρίνεται επίσης σε διάφορες κυτταρικές πιέσεις όπως η υπερϊώδης ακτινοβολία και το οξειδωτικό στρες.

Επιπλέον, όσον αφορά τη μετάφραση πρωτεϊνών, κατά την διάρκεια των Μεταδοτικών Σπογγωδών Εγκεφαλοπαθειών ενεργοποιείται η οδός της **PERK** (*Protein kinase endoplasmic reticulum kinase, Πρωτεϊνική κινάση του ενδοπλασματικού δικτύου*), η οποία ενεργοποιείται όταν προκαλείται στρες στο ενδοπλασματικό δίκτυο και σταματά τη μετάφραση των πρωτεϊνών με ανώμαλες διαμορφώσεις, όταν τα συστατικά των συνάψεων μπορεί να περιέχουν τέτοιου είδους πρωτεΐνες σαν την PrP<sup>Sc</sup>.

Από λειτουργική άποψη η PrP<sup>C</sup> μπορεί να συμμετέχει στο πρωτεοστατικό δίκτυο σε πολλά επίπεδα, όπως:

α) Προάγοντας τη σύνθεση πρωτεϊνών μέσω του πρωτεϊνικών κινασών που είναι η **mTOR** (mechanistic target of rapamycin), λειτουργώντας ως πρωτεϊνική κινάση σερίνης/θρεονίνης που ρυθμίζει την **κυτταρική ανάπτυξη**, τον πολλαπλασιασμό των

κυττάρων, την κυτταρική κινητικότητα, την επιβίωση των κυττάρων, τη σύνθεση πρωτεϊνών, την αυτοφαγία και τη μεταγραφή,

β) Ενεργοποιώντας την **αυτοφαγία**, αυξάνοντας την έκφραση της πρωτεΐνης Beclin1 (ένα σύμπλοκο πρωτεΐνης που ο ρόλος της είναι κρίσιμος όσον αφορά τη βιογένεση των αυτοφαγοσωμάτων και τη βιογένεση των κυστιδίων διπλής μεμβράνης που περικλείουν στόχους αποικοδόμησης τα οποία συγχωνεύονται με λυσοσώματα),

γ) ενεργοποίηση του  $\alpha 7$  νικοτινικού υποδοχέα της ακετυλοχολίνης ( **$\alpha 7nAChR$** , οικογένεια νικοτινικών υποδοχέων ακετυλοχολίνης που ρυθμίζουν τη μακροπρόθεσμη μνήμη) και έχει νευροπροστατευτική δράση ενεργοποιώντας την αυτοφαγία στα νευρικά κύτταρα,

δ) Οργανώνοντας την αλληλεπίδραση μεταξύ έκκρισης κυστιδίων και σχηματισμού αυτοφαγοσωμάτων και

ε) Προστατεύοντας το ενδοπλασματικό δίκτυο έναντι του κυτταρικού στρες που δημιουργείται, (Hirsch T.Z., et al, 2017).

### 3.2.5. Η PrP<sup>C</sup> στην Προσκόλληση Κυττάρων και την Διακυτταρική Σύσταση

Η PrP<sup>C</sup> συνεργάζεται με αρκετές πρωτεΐνες όσον αφορά την κυτταρική προσκόλληση και ρυθμίζει τη δραστηριότητά τους. Κάποιες από αυτές είναι:

α) οι εξωκυτταρικές πρωτεΐνες της ECM όπως η λαμινίνη ή η βιτρονεκτίνη. Η ECM (extracellular matrix, εξωκυτταρική μήτρα ή αλλιώς διακυτταρική μήτρα) είναι ένα δίκτυο που αποτελείται από εξωκυτταρικά μακρομόρια και μέταλλα, όπως το κολλαγόνο, τα ένζυμα, τις γλυκοπρωτεΐνες, κ.α, τα οποία βρίσκονται στους μεσοκυττάρους χώρους και συμμετέχουν στην κυτταρική προσκόλληση, στην επικοινωνία μεταξύ των κυττάρων και στην διαφοροποίησή τους. Οι εξωκυτταρικές πρωτεΐνες της ECM, η λαμινίνη και η βιτρονεκτίνη είναι συγκολλητικές γλυκοπρωτεΐνες και ρυθμίζουν την κυτταρική προσκόλληση, καθώς η συνεργασία τους με την PrP<sup>C</sup> συμβάλλει στην ανάπτυξη των νευρώνων μέσω της προσκόλλησης,

β) αρκετές διαμεμβρανικές πρωτεΐνες όπως ο πρόδρομος υποδοχέας λαμινίνης (περιληπτική αναφορά Κεφ. 3.2.3, παρ. Η συμβολή της PrP<sup>C</sup> στην Νευρογένεση και διαφοροποίηση των νευρώνων) που αλληλοεπιδρά με την PrP<sup>C</sup> για την προσκόλληση,

γ) την NCAM (Neural Cell Adhesion Molecule, Μόριο προσκόλλησης νευρικών κυττάρων), όπου η PrP<sup>C</sup> σταθεροποιεί την NCAM στις λιπιδικές σχεδίες της κυτταρικής μεμβράνης για την ανάπτυξη των νευρώνων,

δ) τις ιντεγκρίνες  $\beta$  (αναφορά Κεφ. 3.2.3, παρ. Η συμβολή της PrP<sup>C</sup> στην Νευρογένεση και διαφοροποίηση των νευρώνων), οι οποίες συνδέουν τα εσωτερικά συστατικά σηματοδότησης του κυτταροσκελετού με το εξωκυτταρικό μικροπεριβάλλον. Η αλληλοεπίδραση με την PrP<sup>C</sup> βοηθάει στην ρύθμιση της δραστηριότητάς τους. Αυτή η αλληλεπίδραση με τις ιντεγκρίνες μπορεί να προσδώσει στην PrP<sup>C</sup> την ικανότητα να ρυθμίζει τον κύκλο εργασιών των εστιακών προσκολλήσεων,

ε) τις καντερίνες οι οποίες αντιπροσωπεύουν μια άλλη κατηγορία μορίων προσκόλλησης που διατηρούν τις επαφές κυττάρου-κυττάρου και παρουσιάζουν λειτουργικές αλληλεπιδράσεις με την PrP<sup>C</sup>. Στα κύτταρα του εντέρου εντοπίστηκε η PrP<sup>C</sup> με την E-καντερίνη στις συνενώσεις κυττάρου-κυττάρου. Σημαντικός ο ρόλος της PrP<sup>C</sup> στην ισορροπία μεταξύ του πολλαπλασιασμού και της διαφοροποίησης των εντερικών επιθηλιακών κυττάρων. Αναφέρθηκε επίσης ότι ασθενείς με φλεγμονώδεις νόσους του εντέρου είχαν μειωμένα επίπεδα PrP<sup>C</sup> στο έντερο. Ένα δεύτερο μέλος της οικογένειας καντερινών η N-καντερίνη, μπορεί να επηρεαστεί από την PrP<sup>C</sup> κατά την διακίνηση της στην επιφάνεια του νευρικού κυττάρου ή κατά την κατανομή της στο αναπτυσσόμενο νευροεπιθήλιο,

στ) η PrP<sup>C</sup> μπορεί να επηρεάσει τη σύνθεση ή την αναδιαμόρφωσή της ίδιας της ECM, και αυτό εντοπίζεται ιδιαίτερα στα αστροκύτταρα ή στα προγονικά νευρικά κύτταρα. Επίσης παρατηρήθηκε ότι στα διαγονιακά ποντίκια με απουσία του γονιδίου *prnp*, εμφανίστηκαν ελαττώματα στη δομή της οδοντίνης, μια ένδειξη ότι η PrP<sup>C</sup> δρα στη σύνθεση της ECM που είναι στον οδοντικό ιστό, (Miranzadeh Mahabadi H. and Taghibiglou C., 2020, Hirsch T.Z., et al, 2017).

### 3.2.6. Η συμμετοχή της PrP<sup>C</sup> στην σηματοδότηση των κυττάρων

Η συμμετοχή της PrP<sup>C</sup> στην μεταγωγή σήματος των κυττάρων και στην κυτταρική επικοινωνία λειτουργεί με διάφορους τρόπους όπως:

- Να λειτουργεί η PrP<sup>C</sup> ή τα προϊόντα διάσπασής της ως συνδεδετικά μόρια, όπως συμβαίνει στην ενεργοποίηση του υποδοχέα Adgrg6 (Adhesion G-Protein Coupled Receptor G6), ο οποίος είναι καθοριστικός στην ανάπτυξη, την συντήρηση και την επισκευή της μυελίνης του περιφερικού νευρικού συστήματος στα κύτταρα του Schwann (ολιγοδενδροκύτταρα του Περιφερικού Νευρικού Συστήματος που επενδύουν τα περιφερικά νεύρα με μυελίνη).
- Να ενεργεί ως υποδοχέας ή συνυποδοχέας της κυτταρικής επιφάνειας, όπως στην περίπτωση του συμπλόκου Αβ-PrP<sup>C</sup>-mGluR5. (Metabotropic glutamate receptor 5 & Prion protein & Αβ amyloid-β oligomers). Το mGluR5 είναι ο μεταβοτροπικός υποδοχέας του γλουταμινικού 5 που είναι ο κύριος διεγερτικός νευροδιαβιβαστής στο κεντρικό νευρικό σύστημα και ενεργοποιεί τους ιοντοτροπικούς και μεταβοτροπικούς υποδοχείς του γλουταμινικού. Τα ολιγομερή του αμυλοειδούς πεπτιδίου Αβ είναι αυτά που ενεργοποιούν την παθοφυσιολογία της νόσου Alzheimer. Αυτά είναι νευροτοξικά προϊόντα διάσπασής της πρόδρομης αμυλοειδούς πρωτεΐνης (APP, Amyloid Precursor Protein), η οποία είναι μια διαμεμβρανική πρωτεΐνη.
- Να ρυθμίζει έμμεσα τη δραστηριότητα διαφόρων μορίων σηματοδότησης και να επηρεάζει την διακίνηση τους. Κάποια από αυτά είναι οι β1 ιντεγκρίνες (οικογένεια μορίων κυτταρικής προσκόλλησης που είναι σημαντικά για την ανάπτυξη και την μετανάστευση), η E-καντερίνη (μόριο προσκόλλησης), καθώς και τον υποδοχέα του επιδερμικού αυξητικού παράγοντα (EGFR-Epidermal growth factor receptor, ο οποίος συντελεί σημαντικές νευροτροφικές λειτουργίες σχετικά με την ανάπτυξη, τη διαφοροποίηση και την επισκευή του νευρικού ιστού).

### 3.2.7. Η Σύνδεση της PrP<sup>C</sup> με διάφορα Μόρια

Μια μεγάλη ποικιλία ενδοκυτταρικών και εξωκυτταρικών μορίων που αλληλοεπιδρούν με την PrP<sup>C</sup>, πραγματοποιούν ποικίλες λειτουργίες στα κύτταρα και αναφέρονται στον Πίνακα 3. Δύο από τα πιο μελετημένα μόρια που αλληλοεπιδρούν με την PrP<sup>C</sup> και εμπλέκονται στη νόσο του Alzheimer είναι το **αμυλοειδές πεπτίδιο Αβ** που είναι νευροτοξικό προϊόν διάσπασης μιας διαμεμβρανικής πρωτεΐνης, της πρόδρομης αμυλοειδούς πρωτεΐνης (APP, Amyloid Precursor Protein) και ο εξωκυτταρικός μοριακός συνοδός STII Stress Inducible Protein 1, επαγόμενη από στρες πρωτεΐνη 1 που ως μοριακός συν-συνοδός δρα για τη σωστή αναδίπλωση των πρωτεϊνών και για τη διατήρηση της κυτταρικής ομοιόστασης.

Η αλληλοεπίδραση των πρωτεϊνών **PrP<sup>C</sup>-STII** συμβάλει σε πολλαπλές βιολογικές διεργασίες, κάποιες από αυτές είναι: η αυτοανανέωση των νευρικών βλαστοκυττάρων, η διαφοροποίηση, η επιβίωση και η πρωτεϊνική σύνθεση των νευρώνων, η εδραίωση της μνήμης, η ενίσχυση της απελευθέρωσης των νευροδιαβιβαστών και τέλος η προστασία από ισχαιμία. Έτσι ο STII μπορεί να προστατεύσει από την τοξικότητα εφόσον συνδεθεί με την PrP<sup>C</sup> στην περιοχή δέσμευσης της Αβ για την προστασία των νευρώνων από τοξικά ερεθίσματα. Η αλληλεπίδραση της Αβ-PrP<sup>C</sup> αντιπροσωπεύει τώρα έναν τομέα έντονης έρευνας και έχει αποτελέσει το θέμα πολλών πρόσφατων ανασκοπήσεων.

Ένας άλλος κεντρικός συνεργάτης της PrP<sup>C</sup> που αξίζει ιδιαίτερης προσοχής είναι η πρωτεΐνη στήριξης Caveolin-1 (κύριο συστατικό των μεμβρανών που συνδέει τις υπομονάδες ιντεγκρίνης με την τυροσινική κινάση). Η Caveolin ενεργεί ως μόριο γέφυρα μεταξύ της PrP<sup>C</sup> με τους συνεργάτες σύζευξης, οι οποίοι είναι τελεστές της κυτταρικής σηματοδότησης όπως:

- Η β-κατενίνη (πρωτεΐνη διπλής λειτουργίας, που εμπλέκεται στη ρύθμιση και το συντονισμό της προσκόλλησης μεταξύ των κυττάρων και της μεταγραφής των γονιδίων),
- Οι ιντεγκρίνες (διαμεμβρανικοί υποδοχείς που βοηθούν στην προσκόλληση μεταξύ των κυττάρων στην εξωκυτταρική μήτρα ECM) και τα κυτταροσκελετικά συστατικά όπως η ακτίνη, (Hirsch T.Z., et al, 2017).

ΟΝΟΜΑ ΠΡΩΤΕΙΝΗΣ	ΒΙΟΛΟΓΙΚΟ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑ
<b>Εξωκυτταρικοί συνεργάτες σύζευξης</b>	
STII	Αυτοανανέωση νευρικών βλαστοκυττάρων Διαφοροποίηση των νευρώνων Επιβίωση των νευρώνων Πρωτεϊνική σύνθεση των νευρώνων Ενοποίηση μνήμης Ενίσχυση της απελευθέρωσης νευροδιαβιβαστών Προστασία από ισχαιμία
Αβ	Νευροτοξικότητα Ανακύκλωση NMDA Tau φωσφορυλίωση
<b>Πρωτεΐνες ECM</b>	
Laminin	Εκφύλιση νευρώνων, μνήμη
Vitronectin	Εκφύλιση νευρώνων
<b>Πρωτεΐνες στήριξης</b>	
Caveolin-1	Ενεργοποίηση src κινασών καθόδου από την PrP <sup>C</sup> Ισορροπία μεταξύ κυτταρικών κυστιδίων και αυτοφαγοσώματων
Flotillin	Διακίνηση της N-cadherin

	Διακίνηση του EGFR
<b>Υποδοχείς κυτταρικής προσκόλλησης</b>	
APP	Κυτταρική προσκόλληση και ανάπτυξη του ΚΝΣ
Integrin β1	Νευρογένεση
Laminin receptor	Κυτταρική επιβίωση
NCAM	Αύξηση νευρώνων Διαφοροποίηση των νευρώνων
<b>Υποδοχείς αυξητικού παράγοντα</b>	
EGFR	Πολλαπλασιασμός κυττάρων
<b>Συστατικά εστιακής πρόσφυσης</b>	
Δεσμοσωματικές πρωτεΐνες	Διατήρηση επιθηλιακής πολικότητας
<b>Υποδοχείς νευροδιαβιβαστών</b>	
mGluR1	Εκφύλιση νευρώνων
mGluR2	Αστροκυτταρική μεταφορά γαλακτικού
mGluR5	Εκφύλιση νευρώνων Μακροχρόνια κατάθλιψη Αβ-εξαρτώμενη νευροτοξικότητα
mGluR6/7	Προστασία από διεγερτική τοξικότητα
GluA1, GluA2	Νευρωνική μεταφορά ψευδαργύρου
GluN2D	Προστασία από διεγερτική τοξικότητα
α7nAChR	Ρύθμιση αυτοφαγίας, χρήση ιόντων ασβεστίου (Ca <sup>2+</sup> ) για την επικοινωνία και την εκτέλεση ενδοκυτταρικών διεργασιών
<b>Διάφορες πρωτεΐνες κυτταρικής επιφάνειας</b>	
LRP1	Ενδοκυττάρωση Ενίσχυση της απελευθέρωσης νευροδιαβιβαστών
Adgrg6	Συντήρηση περιφερικής μυελίνης
Na <sup>+</sup> /K <sup>+</sup> -ATPase	Αστροκυτταρική μεταφορά γαλακτικού
Glypican-1	Σύνδεσμος σχεδίας
TNAP	Αποφωσφορυλίωση λαμίνης
BACE1	APP διάσπαση
<b>Διάφορες ενδοκυτταρικές πρωτεΐνες</b>	
Μέλη της οικογένειας Rab των μικρών GTPασων	Διακίνηση PrP <sup>C</sup>
Argonaute	Επεξεργασία MicroRNA
Γαλακτική αφυδρογονάση A (LDHA)	Ενεργοποίηση του LDHA
β-Catenin	Μεταγραφική δραστηριότητα της β-κατενίνης / Σύμπλεγμα TCF7L2

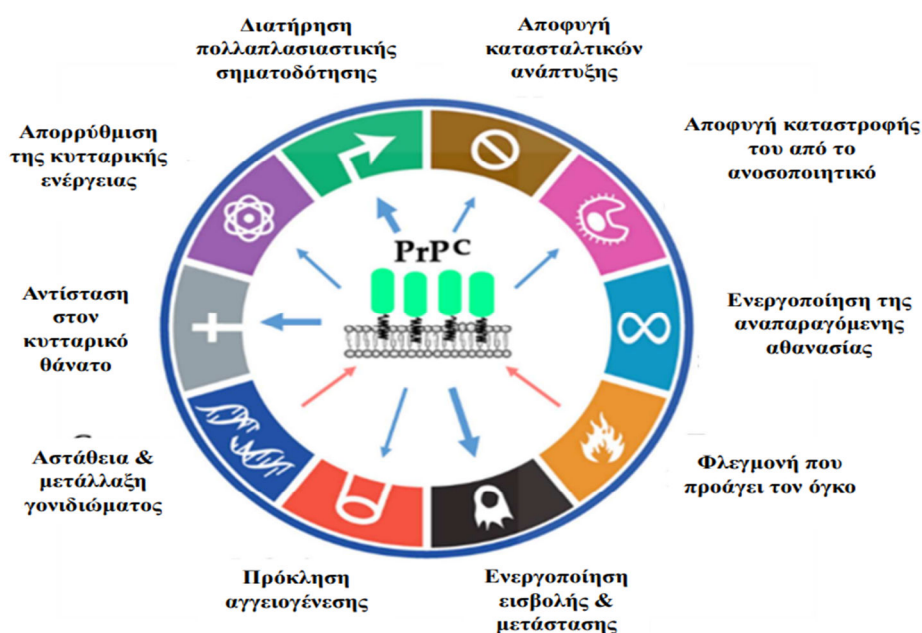
**Πίνακας 3:** Εξωκυτταρικοί και ενδοκυτταρικοί συνεργάτες σύζευξης της PrP<sup>C</sup> και οι σχετικές βιολογικές διεργασίες τους, (Hirsch T.Z., et al, 2017).

### 3.2.8. Κυτταρική Πρωτεΐνη Prion (PrP<sup>C</sup>) και Καρκίνοι

#### Εισαγωγικά στοιχεία

Για αρκετά χρόνια οι περισσότερες μελέτες από το διάστημα που ανακαλύφθηκε η prion πρωτεΐνη, επικεντρώθηκαν στον ρόλο που σχετίζεται με την νευροεκφυλιστική νόσο. Όταν αργότερα ανακαλύφθηκε ότι η prion πρωτεΐνη ρυθμίζει και την απόπτωση, πολλές μελέτες άρχισαν να επικεντρώνονται στον πιθανό ρόλο της στην επιβίωση και τον πολλαπλασιασμό των κυττάρων, (Xin W., et al, 2013). Σήμερα, η PrP<sup>C</sup> εμπλέκεται σε διάφορες πτυχές της βιολογίας του καρκίνου καθώς υπερεκφράζεται σε διάφορους τύπους καρκίνων και κυρίως κατά την διάρκεια του πολλαπλασιασμού, τη μετανάστευση, την εισβολή και τη μετάσταση των καρκινικών κυττάρων. Επίσης σχετίζεται και με την ανοχή που προσδίδει στα κύτταρα που

εκτίθενται σε κυτταροτοξικούς παράγοντες (φάρμακα για την θεραπεία του καρκίνου), με αποτέλεσμα να έχει δημιουργήσει το ενδιαφέρον στην μελέτη του καρκίνου τα τελευταία χρόνια, (Mouillet-Richard S., et al, 2021).



**Εικόνα 7:** Σύνοψη των δεδομένων που συνδέουν την PrP<sup>C</sup> με διάφορα χαρακτηριστικά γνωρίσματα του καρκίνου. Τα μπλε βέλη δείχνουν πως συμβάλλει η PrP<sup>C</sup> στα ιδιαίτερα χαρακτηριστικά του καρκίνου και τα κόκκινα βέλη δείχνουν πως συμβάλλει η PrP<sup>C</sup> στην ρύθμιση των χαρακτηριστικών του καρκίνου. Το πάχος του βέλους σχετίζεται με το ποσοστό που έχει αποδειχθεί μέχρι τώρα, ότι η PrP<sup>C</sup> συνδέεται με διάφορα χαρακτηριστικά γνωρίσματα του καρκίνου. Προσαρμοσμένο από τους Hanahan και Weinberg, (Mouillet-Richard S., et al, 2021).

### Διάφορες μορφές καρκίνου και PrP<sup>C</sup>

Στα γαστρικά καρκινικά κύτταρα η PrP<sup>C</sup> έχει την ικανότητα να διεγείρει την ανάπτυξη των καρκινικών κυττάρων, καθώς στην φάση του πολλαπλασιασμού των κυττάρων, η PrP<sup>C</sup> αρχίζει να υπερεκφράζεται και έτσι ενεργοποιεί την οδό της φωσφατιδυλινσιτιδης 3-κινάσης (PI3K- Phosphatidylinositide 3-kinase, η οποία είναι οικογένεια ενζύμων που εμπλέκονται σε κυτταρικές λειτουργίες όπως, η κυτταρική ανάπτυξη, ο πολλαπλασιασμός, η διαφοροποίηση, η κινητικότητα, η επιβίωση και η ενδοκυτταρική διακίνηση, οι οποίες με στην συνέχεια εμπλέκονται με τον καρκίνο). Αυτό έχει ως αποτέλεσμα την συμβολή της PrP<sup>C</sup> στην αύξηση της **κυκλίνης D1** (μιας πρωτεΐνης που σχετίζεται με τον κυτταρικό κύκλο η οποία ρυθμίζεται σημαντικά από την PrP<sup>C</sup> τόσο σε επίπεδα mRNA όσο και σε επίπεδα πρωτεΐνης) και την μετάβαση των κυττάρων, από τη φάση G1 του κυτταρικού κύκλου στην οποία αναπτύσσεται το κύτταρο στην φάση S του κυτταρικού κύκλου στην οποία αντιγράφεται το DNA, (Yousaf S., et al, 2022).

Στο παχύ έντερο η δράση της PrP<sup>C</sup> ενισχύει την ανάπτυξη και τον πολλαπλασιασμό των HT29 κυττάρων (κυτταρική σειρά από ανθρώπινο αδενοκαρκίνωμα του παχέος εντέρου), που είναι τα καρκινικά κύτταρα του παχέος



εντέρου. Παρατηρήθηκε σε μια έρευνα ότι με την χρήση της φουκοειδίνης (*φυσικό εκχύλισμα από διάφορα είδη καφέ φυκών και αγγουριού της θάλασσας*), αναστείλανε την έκφραση της PrP<sup>C</sup> κατ' επέκταση και την κυτταρική ανάπτυξη των HT29 καρκινικών κυττάρων. Με αυτό καταφέρανε να δούνε ποιοι παράγοντες συντέλεσαν σε αυτήν την αναστολή. Παρατηρήσαν ότι αναστείλανε τον κυτταρικό κύκλο με την μείωση της CDK κινάσης (cyclin-dependent kinase), που από αυτήν εξαρτάται η παραγωγή και η αύξηση των κυκλινών για την ρύθμιση του κυτταρικού κύκλου. Η CDK κινάση ανήκει σε μια οικογένεια πρωτεϊνικών κινασών που παίζουν σημαντικό ρόλο στη ρύθμιση του κυτταρικού κύκλου στην ρύθμιση της μεταγραφής, στην επεξεργασία του mRNA και στη διαφοροποίηση των κυττάρων, (Yousaf S., et al, 2022).

Στον καρκίνο του εγκεφάλου και συγκεκριμένα τα κύτταρα του γλοιοβλαστώματος (GBM- glioblastoma cells) αναπτύσσονται όταν η PrP<sup>C</sup> αλληλοεπιδρά με τον συνεργάτη-συνοδό της Hsp70/90 την HOP (HOP- Hsp70/90 organizing protein) μια πρωτεΐνη οργάνωσης η οποία παίζει σημαντικό ρόλο στην παραγωγική αναδίπλωση των πρωτεϊνών και συμμετέχει σε μια σειρά βασικών οδών σηματοδότησης. Η ενεργοποίηση αυτών των μονοπατιών σηματοδότησης γίνεται μέσω της οδού PI3K (Phosphatidylinositol-4,5-bisphosphate 3-kinase) και της οδού της εξοκυτταρικής κινάσης ERK1/2 (mitogen-activated protein kinases ERK1/2), η οποίες ενισχύουν τον πολλαπλασιασμό των κυττάρων του γλοιοβλαστώματος, (Yousaf S., et al, 2022).

Τα καρκινικά κύτταρα προτιμούν να παράγουν την ενέργειά τους με αερόβια γλυκόλυση. Επομένως αυτό οδηγεί σε μείωση της διαθέσιμης ενέργειας για σύνθεση, κυτταρική επιβίωση και πολλαπλασιασμό. Η υπερέκφραση της PrP<sup>C</sup> μπορεί επίσης να προκαλέσει το φαινόμενο Warburg, μιας διαδικασίας που στα θηλαστικά το τελικό προϊόν μπορεί να είναι γαλακτικό ή μετά από πλήρη οξείδωση της γλυκόζης μέσω αναπνοής στα μιτοχόνδρια να παράγεται CO<sub>2</sub>. Σε όγκους και άλλα πολλαπλασιαζόμενα ή αναπτυσσόμενα κύτταρα, ο ρυθμός πρόσληψης γλυκόζης αυξάνεται δραματικά και παράγεται γαλακτικό, ακόμη και παρουσία οξυγόνου στα πλήρη λειτουργικά μιτοχόνδρια. Έτσι στα καρκινικά κύτταρα του παχέος εντέρου το αποτέλεσμα είναι η αύξηση της έκφρασης του μεταφορέα γλυκόζης 1 (Glut1- Glucose transporter 1), η οποία με τη σειρά της ενισχύει την απορρόφηση της γλυκόζης για τις ανάγκες αυτών των κυττάρων και δημιουργείται έτσι ένα μεταβολικό περιβάλλον που επιτρέπει την ταχεία βιοσύνθεση για την υποστήριξη της ανάπτυξης και του πολλαπλασιασμού τους, (Yousaf S., et al, 2022).

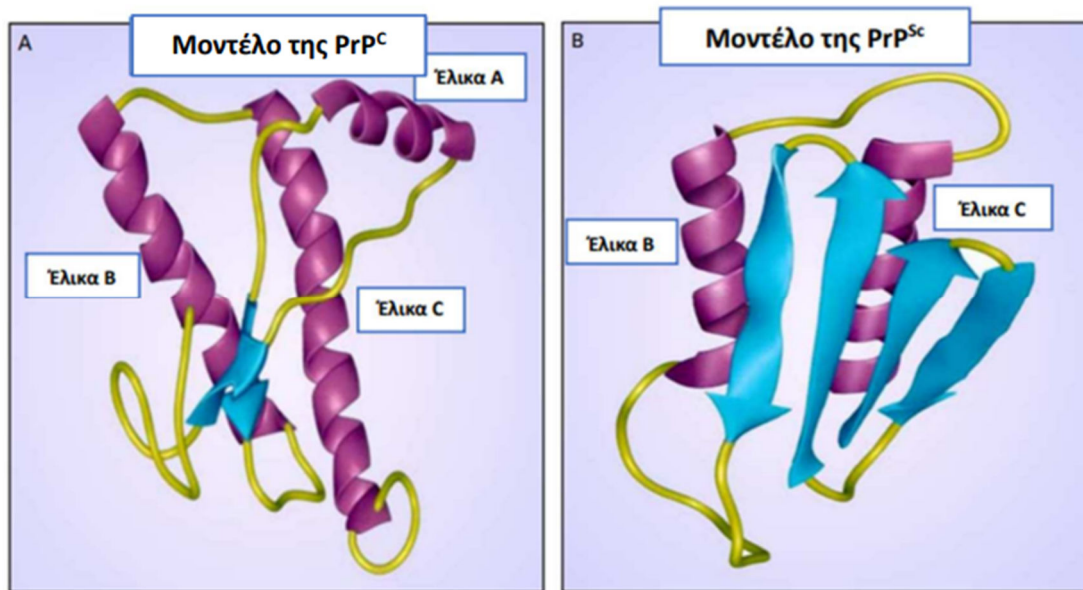
Η αλληλοεπίδραση της PrP<sup>C</sup> με τον υποδοχέα Notch1, βοηθάει στον πολλαπλασιασμό του αδενοκαρκινώματος του παγκρεατικού πόρου (PDAC-pancreatic ductal adenocarcinoma). Ο υποδοχέας Notch1 είναι μέλος μιας οικογένειας υποδοχέων που εξυπηρετούν την εξειδικευμένη σηματοδότηση σε ορισμένους τύπους κυττάρων και εκτελούν συγκεκριμένες λειτουργίες, που καθορίζουν την κυτταρική προοπτική. Εμπλέκεται στην κυτταρική ανάπτυξη και διαίρεση (πολλαπλασιασμός), ωρίμανση των κυττάρων (διαφοροποίηση) και την αυτοκαταστροφή αυτών (απόπτωση), (Yousaf S., et al, 2022).

Ιδιαίτερο χαρακτηριστικό	Συνεργάτης	Τύπος καρκίνου
Διατήρηση της πολλαπλασιαστικής σηματοδότησης	PI3K/AKT- CyclinD1	Γαστρικός
Διατήρηση της πολλαπλασιαστικής σηματοδότησης	NOTCH1	Παγκρέατος
Διατήρηση της πολλαπλασιαστικής σηματοδότησης	ILK	Παχέος εντέρου
Αποφυγή κατασταλτικών ανάπτυξης	NF2	Σβάννωμα
Αποφυγή κατασταλτικών ανάπτυξης	TGFβ	Παχέος εντέρου
Αντίσταση στον κυτταρικό θάνατο	MDR1	Γαστρικός
Αντίσταση στον κυτταρικό θάνατο	PI3K/AKT	Γαστρικός
Αντίσταση στον κυτταρικό θάνατο	BCL2	Γαστρικός
Αντίσταση στον κυτταρικό θάνατο	BCL2	Μαστός
Αντίσταση στον κυτταρικό θάνατο	BCL2	Γλοίωμα
Αντίσταση στον κυτταρικό θάνατο	Επιβίωση/cIAP-1/XIAP	Παχέος εντέρου
Αντίσταση στον κυτταρικό θάνατο	Par4	Γλοιοβλάστωμα
Αντίσταση στον κυτταρικό θάνατο	Διαλυτή PrP <sup>C</sup>	Μαστός
Πρόκληση αγγειογένεσης	Υποξία	Παχέος εντέρου
Ενεργοποίηση εισβολής και μετάστασης	MMPs	Μαστός
Ενεργοποίηση εισβολής και μετάστασης	MMPs	Γαστρικός
Ενεργοποίηση εισβολής και μετάστασης	NOTCH1	Παγκρέατος
Ενεργοποίηση εισβολής και μετάστασης	JNK	Πνεύμονας
Επαναπρογραμματισμός ενεργειακού μεταβολισμού	GLUT1	Παχέος εντέρου
Αποφυγή ανοσολογικής καταστροφής	TGFβ	Παχέος εντέρου
Αποφυγή ανοσολογικής καταστροφής	IDO	Παχέος εντέρου

**Πίνακας 4:** Περίληψη των οδών σηματοδότησης μέσω των οποίων η PrP<sup>C</sup> συμβάλλει σε ένα δεδομένο χαρακτηριστικό γνώρισμα του καρκίνου, σε σχέση με τον τύπο του καρκίνου, (Mouillet-Richard S., et al, 2021).

### 3.3. Η ΤΡΟΠΟΠΟΙΗΜΕΝΗ ΜΟΡΦΗ (PRP<sup>Sc</sup>)

Στα θηλαστικά η φυσιολογική μορφή της κυτταρικής πρωτεΐνης prion (PrP<sup>C</sup>) μετατρέπεται στην παθολογική μορφή της πρωτεΐνης prion (PrP<sup>Sc</sup>) μέσω της ανώμαλης αναδίπλωσης της, με αποτέλεσμα να έχουν αυτές οι δύο μορφές διαφορετικές βιοχημικές ιδιότητες. Η περιορισμένη πρωτεόλυση της PrP<sup>Sc</sup> παράγει ένα μικρότερο, ανθεκτικό στην πρωτεάση μόριο περίπου 142 αμινοξέων, που ονομάζεται PrP 27-30, το οποίο πολυμερίζεται σε αμυλοειδές. Οι πολυπεπτιδικές αλυσίδες των PrP<sup>C</sup> και PrP<sup>Sc</sup> είναι πανομοιότυπες ως προς τη σύνθεση αλλά διαφέρουν ως προς τις τρισδιάστατες δομές τους. Ενώ η PrP<sup>C</sup> έχει τρεις α-έλικες (σηματισμοί αμινοξέων που μοιάζουν με σπειροειδή) και δύο βραχεία σε β-φύλλο (επίπεδους κλώνους αμινοξέων), σε αντίθεση η PrP<sup>Sc</sup> έχει μόνο δύο α-έλικες και πολύ περισσότερα σε β-φύλλα (Εικόνα 8 & 9). Αυτή η δομική μεταβολή από τις α-έλικες στα β-φύλλα για την PrP είναι ένα θεμελιώδες γεγονός που αιτιολογεί τις ασθένειες prion.



**Εικόνα 8:** Τρισδιάστατες δομές Ισόμορφών Πρωτεΐνης Prion (*PrP*). Στο πλαίσιο *A*: Αυτή η εικόνα δείχνει τη δομή της *PrP<sup>C</sup>*, όπου η τρεις έλικες είναι μωβ, οι βρόγχοι με κίτρινο χρώμα και τα β-φύλλα είναι μπλέ. Στο πλαίσιο *B*: Αυτή η εικόνα δείχνει τη δομή της *PrP<sup>Sc</sup>*, όπου τα β-φύλλα είναι μπλε και περισσότερα από την προηγούμενη δομή, οι δύο έλικες που απομείνανε μετά την μεταμόρφωση της δομής είναι μωβ και οι κίτρινοι βρόγχοι, (Prusiner S. B., 2001).

Τέσσερις νέες έννοιες έχουν προκύψει από τις μελέτες στα prion. Πρώτον, τα prion είναι το μόνο γνωστό παράδειγμα μολυσματικών παθογόνων που στερούνται νουκλεϊκού οξέος. Όλοι οι άλλοι μολυσματικοί παράγοντες διαθέτουν γονιδιώματα που αποτελούνται είτε από RNA είτε από DNA που κατευθύνουν τη σύνθεση των απογόνων τους. Δεύτερον, οι ασθένειες prion μπορεί να εκδηλωθούν ως μολυσματικές, γενετικές ή σποραδικές διαταραχές. Καμία άλλη ομάδα ασθενειών με μία μόνο αιτία δεν έχει τέτοιο ευρύ φάσμα κλινικών εκδηλώσεων. Τρίτον, οι ασθένειες prion προκύπτουν από τη συσσώρευση της *PrP<sup>Sc</sup>*, το οποίο έχει μια ουσιαστικά διαφορετική διαμόρφωση από την προδρόμη *PrP<sup>C</sup>*. Τέταρτον, η *PrP<sup>Sc</sup>* μπορεί να έχει ποικίλες διαμορφώσεις, καθεμία από τις οποίες φαίνεται να σχετίζεται με μια συγκεκριμένη ασθένεια. Το πώς μια συγκεκριμένη διαμόρφωση της *PrP<sup>Sc</sup>* μεταδίδεται στην *PrP<sup>C</sup>* κατά τη διάρκεια της αναπαραγωγής προκειμένου να παραχθεί μια νέα εκκολλαπτόμενη *PrP<sup>Sc</sup>* με την ίδια διαμόρφωση, είναι άγνωστο. Οι παράγοντες που καθορίζουν τη θέση στο κεντρικό νευρικό σύστημα όπου εναποτίθεται μια συγκεκριμένη *PrP<sup>Sc</sup>* δεν είναι επίσης γνωστοί, (Prusiner, S. B., 2001).

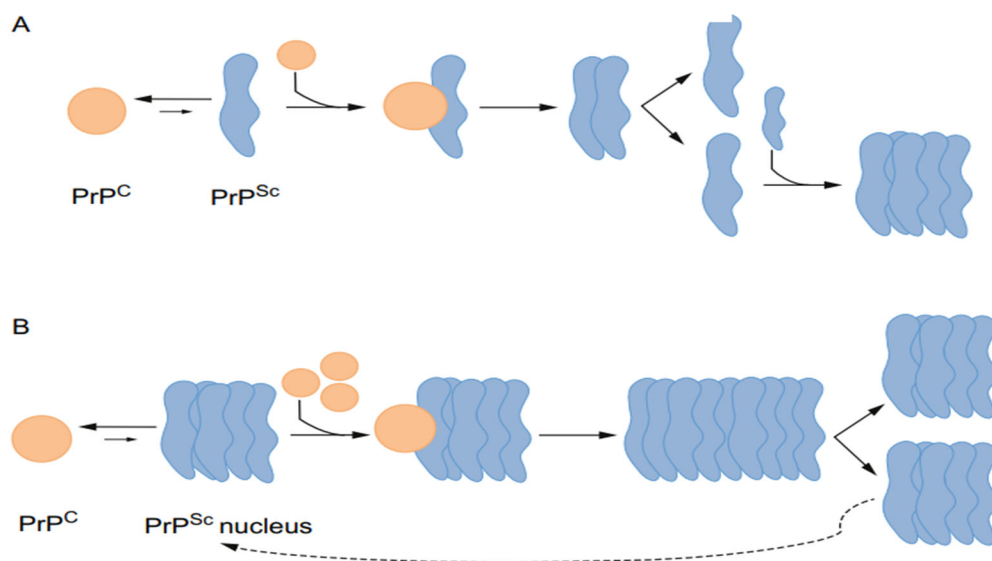
### 3.3.1. Η Διαδρομή Μετατροπής της *PrP<sup>C</sup>* στην *PrP<sup>Sc</sup>*

Η *PrP<sup>C</sup>* μετατρέπεται σε *PrP<sup>Sc</sup>* στην κυτταρική μεμβράνη ή εντός της ενδοκυτταρικής οδού. Μόλις τα prions εισέλθουν σε έναν οργανισμό, αρχίζει μια διαδικασία εκθετικής αντιγραφής και δημιουργεί όλο και περισσότερα σωματίδια *PrP<sup>Sc</sup>*. Η μετατροπή της φυσιολογικής *PrP<sup>C</sup>* στην παθολογική μορφή της *PrP<sup>Sc</sup>* πιστεύεται ότι γίνεται με την δέσμευση της *PrP<sup>Sc</sup>* από την *PrP<sup>C</sup>*, δημιουργώντας έτσι ένα ενδιάμεσο σύμπλεγμα πριν σχηματιστεί η εκκολλαπτόμενη *PrP<sup>Sc</sup>*. Η πλήρης

κατανόηση για την διαδικασία αυτής της μετατροπής δεν είναι πλήρως διευκρινισμένη, αλλά δύο θεωρητικά μοντέλα χρησιμοποιήθηκαν για την πλήρη κατανόηση της διαδικασίας μετατροπής της PrP<sup>C</sup> σε PrP<sup>Sc</sup>, (Marín-Moreno A., et al, 2017).

**Το πρώτο μοντέλο** που εξηγεί την αντιγραφή της prion και είναι γνωστό ως «μοντέλο μετατροπής με τη βοήθεια προτύπου» το οποίο προτάθηκε από τον Prusiner, (Prusiner 1991). Αυτό το μοντέλο προτείνει ότι ένα μόριο της PrP<sup>Sc</sup> ενώνεται με ένα μόριο της PrP<sup>C</sup> για να σχηματίσει ένα μόριο ετεροδιμερές, ή αλλιώς ένα ενδιάμεσο μόριο που συχνά αναφέρεται ως PrP<sup>\*</sup>, βοηθώντας έτσι στην αναδίπλωση και η PrP<sup>C</sup> μετατρέπεται σε μόριο PrP<sup>Sc</sup>. Και τα δύο μόρια μπορούν τώρα να λειτουργήσουν ως πρότυπα με αποτέλεσμα την έκθεση και την μόλυνση περισσότερων μορίων PrP<sup>C</sup> και κατ' επέκταση τη δημιουργία περισσότερων μορίων PrP<sup>Sc</sup> (Εικόνα 10A), (Marín-Moreno A., et al, 2017).

**Το δεύτερο μοντέλο** ονομάζεται «μοντέλο πυρηνικού πολυμερισμού». Αυτό το μοντέλο υποθέτει ότι η PrP<sup>Sc</sup> και η PrP<sup>C</sup> βρίσκονται σε μια απλή ισορροπία όπου η PrP<sup>C</sup> είναι η κυρίαρχη ισομορφή, ενώ τα σχηματισμένα μόρια της PrP<sup>Sc</sup> αρχίζουν να σχηματίζουν έναν πυρήνα. Μόλις σχηματιστεί ο πυρήνας που λειτουργεί ως σπόρος, προσλαμβάνει και μετασχηματίζει όλο και περισσότερα μόρια PrP<sup>C</sup>. Έτσι δημιουργείται ένα περιβάλλον πιο ευνοϊκό, με αποτέλεσμα τον σχηματισμό συσσωματωμάτων αμυλοειδούς (Εικόνα 10B), (Marín-Moreno A., et al, 2017).



**Εικόνα 10:** Διάγραμμα δύο μοντέλων που παρουσιάζονται ως προτάσεις για τη μετατροπή της PrP<sup>C</sup> σε PrP<sup>Sc</sup>. (A) Το "μοντέλο μετατροπής με την βοήθεια προτύπου" προτείνει ότι ένα μόριο PrP<sup>Sc</sup> σχηματίζει ένα ετεροδιμερές με ένα μόριο PrP<sup>C</sup> και βοηθά στην αναδίπλωση του για την παραγωγή δύο μορίων PrP<sup>Sc</sup>. (B) Το μοντέλο «πυρηνικού πολυμερισμού» υποθέτει ότι η PrP<sup>Sc</sup> και η PrP<sup>C</sup> είναι μέσα ισορροπίας και ότι η PrP<sup>C</sup> είναι η κυρίαρχη ισομορφή. Τελικά, τα μόρια της PrP<sup>Sc</sup> που παράγονται σχηματίζουν έναν πυρήνα που αργότερα λειτουργεί ως σπόρος, (Marín-Moreno A., et al, 2017).

### 3.4 ΠΕΡΙ ΜΟΛΥΣΜΑΤΙΚΟΤΗΤΑΣ ΤΗΣ PrP<sup>Sc</sup>

Η PrP<sup>Sc</sup> είναι ο αιτιολογικός παράγοντας της μεταδοτικής σπογγώδους εγκεφαλοπάθειας, που ανήκει στην ομάδα των θανατηφόρων νευροεκφυλιστικών

ασθενειών. Κάποιες από αυτές είναι η νόσος Creutzfeldt-Jakob και η Kuru που προσβάλλουν τους ανθρώπους, η σπογγώδη εγκεφαλοπάθεια των βοοειδών (ΣΕΒ), η scrapie που προσβάλλει τα πρόβατα και τις αίγες καθώς και άλλες ασθένειες prion που προσβάλλουν άλλα είδη. Σε όλες τις περιπτώσεις μετά από την καταστροφή του εγκεφάλου στους ξενιστές με μηχανισμούς που εξακολουθούν μην είναι ακόμη πλήρως κατανοητοί, η PrP<sup>Sc</sup> έχει τη δυνατότητα να μεταδοθεί και σε άλλα άτομα του ίδιου είδους ή ακόμα και σε άλλα είδη. Η μετάδοση μεταξύ διαφορετικών ειδών είναι ένα ιδιαίτερα ανησυχητικό χαρακτηριστικό, καθώς μια δεδομένη ασθένεια prion θα μπορούσε να «πηδήξει» από τον φυσικό της ξενιστή σε άλλα είδη, ακόμη και στους ανθρώπους. Ευτυχώς λόγω του λεγόμενου φραγμού ειδών η μετάδοση μεταξύ των ειδών δεν είναι τόσο απλή. Η μετάδοση prion στα διαφορετικά είδη έχει μεγαλύτερο χρόνο εμφάνιση της νόσου και η επώαση (εκθετική αντιγραφή και συσσώρευση της prion) διαρκεί περισσότερο και είναι πιο ευμετάβλητη. Στην πραγματικότητα αν και ο φραγμός των ειδών επηρεάζεται κυρίως από τις διαφορές στην αλληλουχία του γονιδίου PrP (διαφορές στις γενετικές πληροφορίες) του δότη-ξενιστή, τα στελέχη prion παίζουν επίσης πολύ σημαντικό ρόλο. Με τον όρο στελέχη εννοούνται οι διαφορετικές διαμορφώσεις των μορίων της PrP<sup>Sc</sup>, τα οποία έχουν διαφορές στις βιοχημικές τους ιδιότητες (π.χ. ηλεκτροφορητική κινητικότητα, τα πρότυπα γλυκοζυλίωσης και το προφίλ μετουσίωσης), καθώς και διαφορετικές μοριακές ιδιότητες που σχετίζονται με τις βιολογικές και τις παθολογικές διαφορές (φαινότυποι) όπως η περίοδος επώασης, η κατανομή των εγκεφαλικών βλαβών και τα κλινικά συμπτώματα. Ως εκ τούτου η αποτελεσματικότητα της μετάδοσης μεταξύ των ειδών και η διάρκεια της περιόδου επώασης καθορίζονται από το στέλεχος prion. Μερικές φορές μπορούν να παρατηρηθούν νέα στελέχη μετά τη μετάδοση της prion σε διαφορετικό ξενιστή ή στον ίδιο ξενιστή που εκφράζει πολυμορφισμούς του γονιδίου prion, (Marin-Moreno A., et al, 2017).

Όσον αφορά τα στελέχη ως παράδειγμα έχουμε τα ζώα, που το στέλεχος της κλασικής σπογγώδους εγκεφαλοπάθειας των βοοειδών (C- τύπου ΣΕΒ), που προκάλεσε μεγάλη κρίση στην ασφάλεια των τροφίμων στα τέλη της δεκαετίας του 1990, εντοπίστηκαν δύο νέα στελέχη της ΣΕΒ αργότερα. Αυτά τα στελέχη που είναι γνωστά ως άτυποι παράγοντες της ΣΕΒ, η L-type και η H-type (χαμηλή ηλεκτροφορητική κινητικότητα της PrP<sup>Sc</sup> και υψηλή ηλεκτροφορητική κινητικότητα της PrP<sup>Sc</sup>, σε σύγκριση με αυτή του τύπου C). Ακόμη και η κλασική scrapie παρουσιάζει μια τεράστια ποικιλία στελεχών και άτυπων μορφών. Τα τελευταία χρόνια, νέα στελέχη prion έχουν εντοπιστεί και σε άλλα ζώα όπως τα ελάφια και αυτή είναι η χρόνια ατροφική νόσος των ελαφοειδών (CWD- Wasting disease of deer and elk). Αυτή είναι μια ΜΣΕ που επηρεάζει αρκετά είδη ελαφοειδών σε ολόκληρη τη Βόρεια Αμερική και πρόσφατα ανιχνεύθηκαν και στην Ευρώπη, όπως τα δύο στελέχη CWD1 και CWD2, (Marin-Moreno A., et al, 2017).

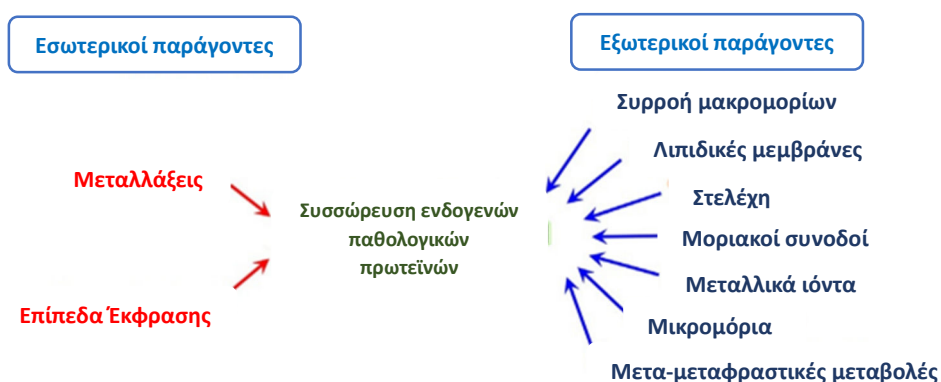
Επίσης αναφέρονται και κάποια μόρια ως συμπαράγοντες για το σχηματισμό prion και θεωρείται ότι βοηθάνε στην μετατροπή τους, καθιστώντας έτσι την κατάσταση της κακής αναδίπλωσης ενεργειακά πιο ευνοϊκή από την κανονική αναδίπλωση ή διευκολύνουν την αλληλεπίδραση της PrP<sup>Sc</sup> με την PrP<sup>C</sup>. Αλλά ο πολλαπλασιασμός των prions δεν εξαρτάται απαραίτητα από αυτούς τους

συμπαράγοντες, αλλά πιστεύεται ότι παίζουν σημαντικό ρόλο όντας απαραίτητοι στην ανάπτυξη και την εξέλιξη των ασθενειών των prions, (Whitechurch B.C., et al, 2017). Οι συμπαράγοντες που ενισχύουν την μετατροπή και τον πολλαπλασιασμό της PrP<sup>Sc</sup> ταξινομούνται σε δύο κατηγορίες, τα λιπίδια και τα πολυανιόντα. Τα λιπίδια πιθανότατα ξεκινούν την αλληλεπίδρασή τους μέσω ηλεκτροστατικής έλξης μεταξύ των ανιονικών φωσφορικών ομάδων της κεφαλής τους και των θετικά φορτισμένων αμινοξέων της PrP. Τα πολυανιόντα είναι μια άλλη κατηγορία συμπαράγοντων που περιλαμβάνει πολλούς διαφορετικούς τύπους αρνητικά φορτισμένων μορίων, όπως νουκλεϊκά οξέα και γλυκοζαμινογλυκάνες, (Whitechurch B.C., et al, 2017).

### 3.5. ΠΕΡΙ ΑΡΧΙΚΟΥ ΕΡΕΘΙΣΜΑΤΟΣ ΚΑΙ ΑΙΤΙΟΥ ΤΩΝ ΝΟΣΩΝ

#### 3.5.1. Μηχανισμοί νευροεκφυλισμού και νευροτοξικότητας

Πολλές από τις πρωτεΐνες με κακή αναδίπλωση και τα συσσωμάτωματά τους *in vivo* είναι ενδογενώς παθολογικά. Η συσσωμάτωση πρωτεϊνών είναι μια σύνθετη διαδικασία πολλαπλών σταδίων και τα συσσωμάτωματά μπορεί να διαφέρουν σημαντικά ως προς την μορφολογία, δομή, σταθερότητα, κυτταροτοξικότητα και την ικανότητα αυτοδιάδοσης. Η διαδικασία συγκέντρωσης επηρεάζεται τόσο από ενδογενείς παράγοντες (π.χ. μεταλλάξεις και τα επίπεδα έκφρασης) όσο και από εξωγενείς παράγοντες (π.χ. περικοπή πολυπεπτιδικής αλυσίδας, μακρομοριακό συνωστισμό, μεταμεταφραστικές τροποποιήσεις, καθώς και την αλληλεπίδραση με μεταλλικά ιόντα, άλλα μικρά μόρια, μεμβράνες λιπιδίων και συνοδούς), (Breydo L., et al, 2017).



**Εικόνα 11:** Μερικοί από τους εσωτερικούς και εξωτερικούς παράγοντες που επιδρούν στην κακή αναδίπλωση, στην συσώρευση και την δημιουργία ενδογενών παθολογικών πρωτεϊνών με αποτέλεσμα την νευροτοξικότητα και τον νευροεκφυλισμό, (Breydo L., et al, 2017).

#### 3.5.2. Η αλληλεπίδραση της εξωκυτταρικής και ενδοκυτταρικής τοξικότητας

Οι νευροτοξικοί μηχανισμοί μπορούν να ενεργοποιηθούν από την κακή αναδιαμόρφωση της PrP<sup>C</sup> σε διαφορετικά κυτταρικά διαμερίσματα επηρεάζοντας διαφορετικά κυτταρικά μονοπάτια προκαλώντας βλάβες όπως:

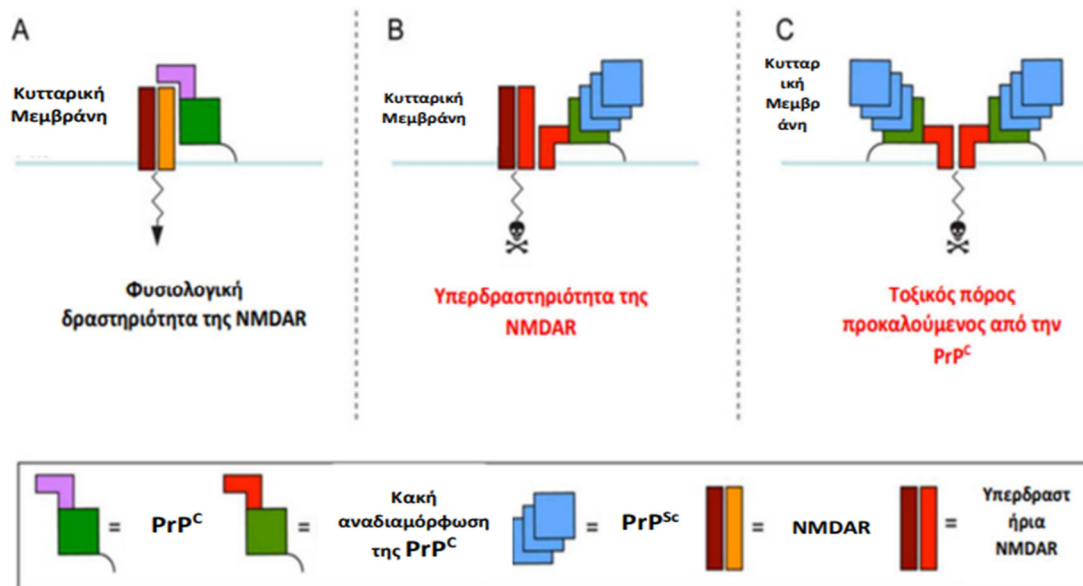
1. Την διαταραχή της μεταγωγής σήματος, που η ανώμαλη αναδιάταξη της PrP<sup>C</sup> επηρεάζει την δραστηριότητα των υποδοχέων στους νευροδιαβιβαστές, τα κανάλια ιόντων και τα συμπλέγματα σηματοδότησης με τα οποία αλληλοεπιδρά (Εικόνα 12 & 13),
2. Την βλάβη της κυτταρικής επιφάνειας και την δημιουργία τοξικών πόρων, με αποτέλεσμα την διαρροή του κυττάρου (Εικόνα 12),
3. Την διαταραχή της μεταφοράς εκκριτικών πρωτεϊνών, ως αποτέλεσμα την ενδοκυτταρική κατακράτησή τους καθώς εμποδίζεται η διακίνηση και η παράδοση των πρωτεϊνών εκτός του κυττάρου, με αποτέλεσμα στους νευρώνες δεν υπάρχει διακίνηση των συναπτικών πρωτεϊνών (Εικόνα 13),
4. Την διαταραχή της γενικής οδού της πρωτεόστασης, και μια από αυτές είναι η UPR (unfolded protein response, Απόκριση στις ξεδιπλωμένες πρωτεΐνες). Η UPR είναι ένας προστατευτικός μηχανισμός που ενεργοποιείται όταν συσσωρεύονται λανθασμένες αναδιπλώσεις πρωτεϊνών στο κύτταρο και λειτουργεί έτσι ώστε να φέρει μια ισορροπία, μειώνοντας τον αριθμό των ξεδιπλωμένων πρωτεϊνών που υπάρχουν στο κύτταρο. Ο τρόπος που το επιτυγχάνει αυτό είναι με:
  - α) μείωση του αριθμού των πρωτεϊνών που πρόκειται να διπλωθούν,
  - β) αύξηση της ικανότητας του ενδοπλασματικού δικτύου, ώστε να αναδιπλώνει περισσότερες πρωτεΐνες,
  - γ) αφαιρώντας κάποιες ξεδιπλωμένες πρωτεΐνες που χρειάζονται περισσότερο χρόνο για να διπλώσουν.

Αλλά η UPR επίσης μπορεί να είναι ένας ενεργός παράγοντας που συμβάλλει στην παθογένεια της νόσου prion και γενικά των νευροεκφυλιστικών νόσων. Αυτό αιτιολογείται με το γεγονός ότι παρόλο που η PrP<sup>Sc</sup> συσσωρεύεται στον εξωκυτταρικό ή ενδοκυτταρικό χώρο, παράλληλα υπερεκφράζεται και συσσωρεύεται και στο ενδοπλασματικό δίκτυο, με αποτέλεσμα την υπερφόρτωση του λόγω αυξημένης βιοσύνθεσης του και την υπερενεργοποίηση του UPR. Έτσι αυτό μπορεί να οδηγήσει σε προγραμματισμένο κυτταρικό θάνατο (Εικόνα 13), (Chiesa R., 2015).

Αυτοί οι μηχανισμοί είναι πιθανό να συνυπάρχουν, αλλά μπορεί και να συμβάλλουν διαφορετικά στην παθογένεια σε διαφορετικές ασθένειες prion. Καθώς η νόσος εξελίσσεται και η PrP<sup>Sc</sup> συσσωρεύεται στον εξωκυτταρικό ή ενδοκυτταρικό χώρο, μπορεί να εμπλακούν πρόσθετοι μηχανισμοί.

Η εξωκυτταρική επαγωγή της PrP<sup>C</sup> στην κυτταρική επιφάνεια από την παρουσία της ανώμαλης της μορφής της, της PrP<sup>Sc</sup>, μπορεί να είναι ο βασικός παράγοντας που μεσολαβεί στον κυτταρικό θάνατο και να προκαλεί την ταχεία κατάρρευση των νευρώνων. Έτσι καταστρέφονται τα κανάλια ιόντων ή οι δραστηριότητες της σηματοδότησης με την δημιουργία τοξικών πόρων (Εικόνα 12), (Chiesa R., 2015).

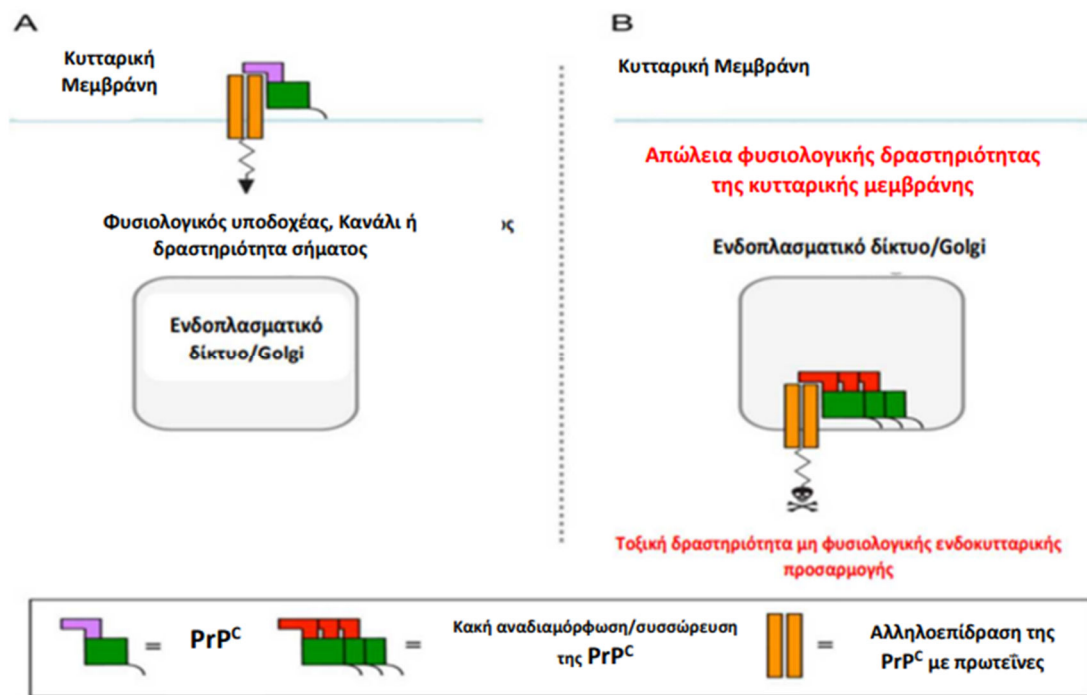




**Εικόνα 12:** Θεωρητικό μοντέλο για το πώς η κακή αναδιαμόρφωση της PrP<sup>C</sup> της κυτταρικής μεμβράνης θα μπορούσε να οδηγήσει σε νευροτοξικότητα. (A) Η PrP<sup>C</sup> αποτελείται από ένα εύκαμπτο Αμινικό(N)-άκρο (μωβ) και η σφαιρική περιοχή του Καρβοξυλικού(C)-άκρου (πράσινο) προσδεμένη στην κυτταρική μεμβράνη με την GPI (μαύρη γραμμή). Η PrP<sup>C</sup> συνδέεται με τα NMDAR (NMDA-N-methyl-D-aspartate receptor, Υποδοχέας ταχείας νευροδιαβίβασης στο κεντρικό νευρικό σύστημα), μειώνοντας τη δραστηριότητά τους. (B–C) Η αλληλεπίδραση με την εξωκυτταρική PrP<sup>Sc</sup> προκαλεί την δομική αναδιαμόρφωση του Αμινικού(N)-άκρου της PrP<sup>C</sup>. Αυτό οδηγεί σε ανώμαλη αλληλεπίδραση της PrP<sup>C</sup> με τα NMDAR και την υπερενεργοποίησή τους (B) ή/και την ανώμαλη παρεμβολή του Αμινικού(N)-άκρου της PrP<sup>C</sup> στη διπλοστοιβάδα των λιπιδίων με τη δημιουργία ενός τοξικού πόρου (C). Εκτός από τα NMDAR, η κακή αναδιαμόρφωση της PrP<sup>C</sup> στην επιφάνεια του κυττάρου μπορεί να καταστρέψει τη δραστηριότητα άλλων διαύλων ιόντων ή τα σύμπλοκα της σηματοδότησης που αλληλοεπιδρούν με την PrP<sup>C</sup>, (Chiesa R., 2015).

Στις σποραδικές και τις γενετικές ασθένειες prion ο σχηματισμός της PrP<sup>Sc</sup> δεν δημιουργεί απαραίτητα την παθογένεια, αλλά η αυθόρμητη συσσώρευση μορίων της κακής αναδιαμόρφωσης της PrP<sup>C</sup> στα οργανίδια μεταφοράς, μπορεί να είναι πιο σημαντική. Η κακή αναδιαμόρφωση της PrP<sup>C</sup> αλλά παράλληλα και η συσσώρευση της, μπορεί να απομονώσει τα κανάλια ιόντων ή τα σύμπλοκα σηματοδότησης στα ενδοκυτταρικά διαμερίσματα. Όλα αυτά έχουν σαν αποτέλεσμα την απώλεια της φυσιολογικής λειτουργίας τους στην κυτταρική μεμβράνη ή ακόμη και στην αύξηση της τοξικής δραστηριότητας ενδοκυτταρικά (Εικόνα 13), (Chiesa R., 2015).





**Εικόνα 13:** Ο ρόλος της PrP<sup>C</sup> στην ενδοκυτταρική παρεμπόδιση με αποτέλεσμα την νευρωνική δυσλειτουργία. (A) Η PrP<sup>C</sup> στην κυτταρική μεμβράνη επηρεάζει την δραστηριότητα των υποδοχέων των νευροδιαβιβαστών, των καναλιών ιόντων και των συμπλεγμάτων σηματοδότησης με τα οποία αλληλοεπιδρά. (B) Λόγω της παρεμπόδισης στα οργανίδια μεταφοράς (Ενδοπλασματικού δικτύου/Golgi), η κακή αναδιαμόρφωση της PrP<sup>C</sup> και η συσσώρευση της δεσμεύει τις εκκριτικές πρωτεΐνες στα ενδοκυτταρικά διαμερίσματα, οδηγώντας σε απώλεια της φυσιολογικής λειτουργίας της κυτταρικής μεμβράνης. Η ενδοκυτταρική κατακράτηση μπορεί επίσης να προκαλέσει την ανώμαλη λειτουργία του συμπλέγματος και να δημιουργήσει ένα τοξικό σήμα, (Chiesa R., 2015).

Αυτή η νευροτοξική οδός μπορεί να συμβάλει στην κλινική μεταβλητότητα των ασθενειών prion. Διάφορες παραλλαγές της κακής αναδιαμόρφωσης της PrP<sup>C</sup> μπορεί να παραχθούν σε διαφορετικές διαταραχές prion, οι οποίες μπορεί να έχουν διαφορετικές επιδράσεις στην λειτουργία των νευρώνων και κατ' επέκταση στην κλινική εικόνα της κάθε νόσου. Επίσης ρόλο παίζει και η τάση αυτών των μορίων της PrP<sup>C</sup> της κακής αναδιαμόρφωσης να συσσωρεύονται στα ενδοκυτταρικά οργανίδια και να παρεμβαίνουν στη μεταφορά των μορίων με τα οποία αλληλοεπιδρούν, (Chiesa R., 2015).

### 3.6. ΤΡΟΠΟΙ ΚΑΙ ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΙ ΜΟΛΥΝΣΗΣ

#### 3.6.1. Διάφοροι τρόποι μετάδοσης

Συνήθως οι prion πρωτεΐνες έχουν πρόσβαση στους ξενιστές τους μέσω περιφερειακών διαδρομών και ξεπερνούν πολλά εμπόδια για να φτάσουν στον εγκέφαλο. Ο πιο συνήθης τρόπος είναι από το στόμα και διαμέσου του γαστρεντερικού συστήματος εξαπλώνονται σε ιστούς όπως ο εγκέφαλος. Μια περιληπτική εικόνα των όλων των οδών μόλυνσης από prion βρίσκεται στον Πίνακα 5.

Οδός Μόλυνσης	Πηγή των Prions	Νόσος Prion	Ξενιστές που μολύνονται
Ενδοεγκεφαλικά	Πειραματικά	Αρκετές ΜΣΕ	Πολλά είδη ζώων
	Νευροχειρουργικό υλικό μολυσμένο με Prion, ενδοεγκεφαλικά ηλεκτρόδια και μοσχεύματα σκληρής μήνιγγας	iCJD (ιατρογενής CJD)	Άνθρωπος
Από το στόμα	Μολυσμένα τρόφιμα με Prion	Kuru, vCJD (παραλλαγή της CJD), ΣΕΒ, Μεταδοτική εγκεφαλοπάθεια των μίνκ (βιζόν)	Άνθρωπος, Αγελάδα, Μίνκ
Από τον οφθαλμό	Πειραματικά	iCJD (ιατρογενής CJD)	Άνθρωπος
	Μοσχεύματα κερατοειδούς μολυσμένα με Prion	iCJD (ιατρογενής CJD)	Άνθρωπος
Ενδοφλέβια	Πειραματικά	Αρκετές ΜΣΕ	Πολλά είδη ζώων
	Προϊόντα αίματος μολυσμένα με Prion	vCJD (παραλλαγή της CJD)	Άνθρωπος
Οριζόντια μετάδοση	Μόλυνση από το περιβάλλον	Scrapie (τρομώδης νόσος), Χρόνια ατροφική νόσος των ελαφοειδών	Πρόβατο, Αίγα, Ελαφοειδή

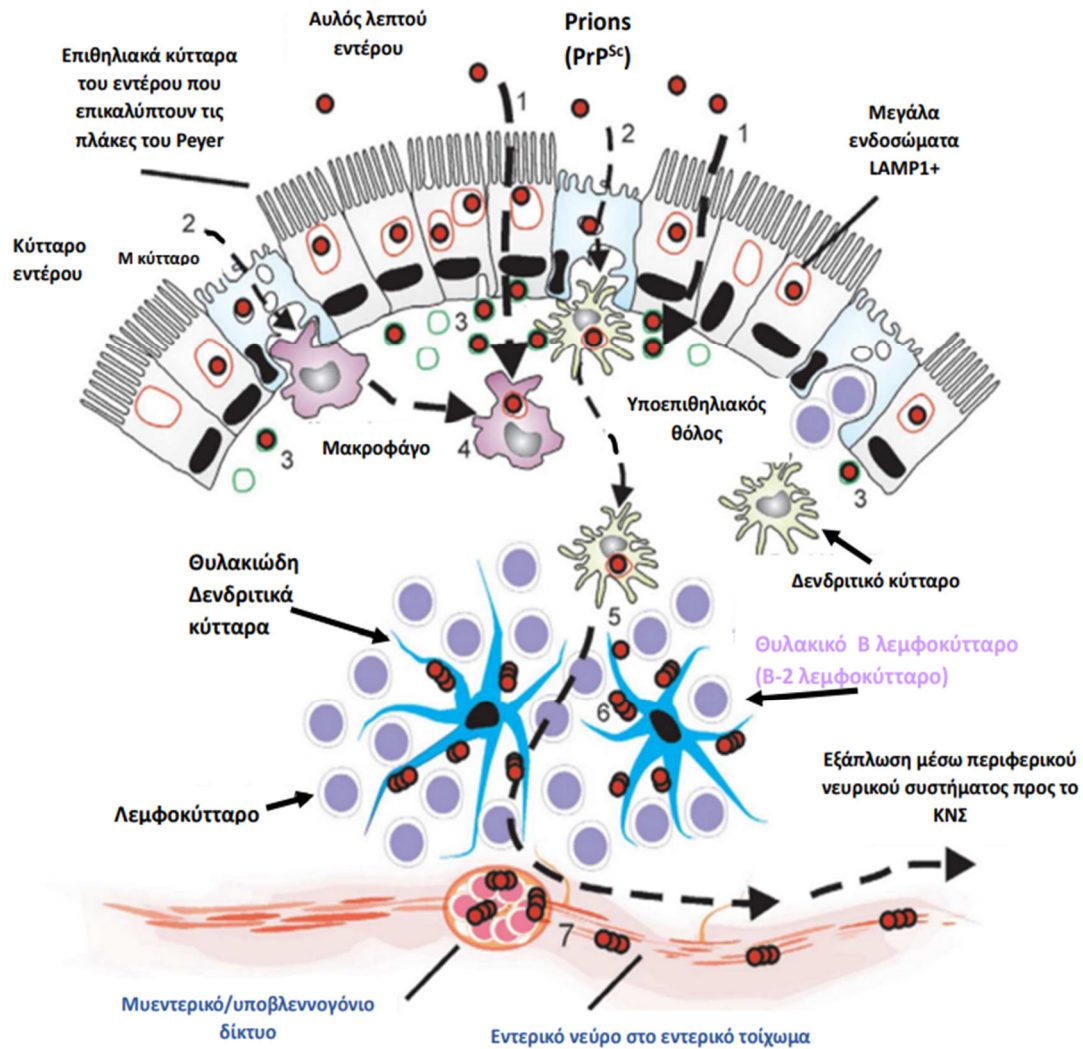
**Πίνακας 5:** Σύνοψη των οδών μόλυνσης από Prion και των αντίστοιχων ασθενειών Prion.

### 3.6.2. Η διαδρομή εισβολής από το έντερο στον εγκέφαλο


Οι ασθένειες Prion που μεταδίδονται στον εγκέφαλο μέσω του πεπτικού συστήματος (εφόσον οι prions ληφθούν δια του στόματος ως τροφή ή άλλου είδους κατάποσης που μπορεί να δικαιολογεί την λήψη της μολυσματικής prion), συνιστούν το μεγαλύτερο ποσοστό σε σχέση με τους άλλους τρόπους μετάδοσης τους στον άνθρωπο και στα ζώα.

Μετά την απορρόφηση από το γαστρεντερικό σύστημα, η συσσώρευση στον λεμφικό ιστό όπως ο σπλήνας, ο λεμφαδένας, η σκωληκοειδή απόφυση και οι πλάκες του Peyer, εξαπλώνεται και σε άλλους ιστούς (Περισσότερες λεπτομέρειες της διαδρομής των prions αναφέρονται στην Εικόνα 14). Οι πλάκες του Peyer είναι οργανωμένα λεμφικά θυλάκια (λεμφοζίδια), όπου βρίσκονται μέσα στα επιθηλιακά κύτταρα του εντέρου που ανήκουν στον λεμφικό ιστό του εντέρου. Αναγνωρίζει αντιγόνα μέσω των Μ κυττάρων που βρίσκονται στο επιθήλιο του εντέρου ως μικροπτυχωτά κύτταρα και εντοπίζονται πάνω από τα λεμφοζίδια των πλακών του Peyer. Στην συνέχεια δρομολογούνται στα θυλακιώδη δενδριτικά κύτταρα (FDCs- follicular dendritic cells) τα οποία ως ελεύθερα κύτταρα του ανοσοποιητικού αρχικά, περνάνε στον υποεπιθηλιακό χώρο του εντέρου και εντάσσονται στα λεμφικά θυλάκια όπου υπάρχουν συναθροίσεις λεμφοκυττάρων (όπως τα B-2 κύτταρα, κ.α.) τα οποία συνεργάζονται μεταξύ τους. Διαθέτουν εξαιρετικά μεγάλες επιφάνειες και αυτή η ιδιότητα τους τα επιτρέπει να συλλαμβάνουν εύκολα τις prion πρωτεΐνες. Τα FDC είναι κύτταρα που έχουν μεγάλη διάρκεια ζωής και τα prion μπορούν να παραμείνουν εκεί για μεγάλες χρονικές περιόδους, όπως μήνες ή και χρόνια. Η διέλευση από τον λεμφοειδή ιστό στον νευρικό ιστό γίνεται μέσω των

απαγωγών ινών των παρασυμπαθητικών νέρων (π.χ. του πνευμονογαστρικού νέρου) ή των συμπαθητικών νέρων (π.χ. το σπλαχνικό νεύρο). Αυτή η διασπορά της μόλυνσης από διάφορους ιστούς του πεπτικού εξαπλώνεται από την περιφέρεια αρχικά και μετά καταλήγει στον εγκέφαλο (Εικόνα 14), (Mabbott N.A., 2017).



Διαδρομή νευροεισβολής	Prions (PrP <sup>Sc</sup> )
Θέσεις αναπαραγωγής της Prion	Λεμφοκύτταρα
Δενδριτικό κύτταρο	Μακροφάγο
Μ Κύτταρο	FAE εντεροκύτταρο (FAE- Follicle-Associated Epithelium) Επιθηλιακό κύτταρο του εντέρου που επικαλύπτει τις πλάκες του Peyer
Μεγάλα ενδοσώματα της LAMP1+ (Large LAMP1+ endosomes), (LAMP1-Lysosome associated membrane protein 1), η μεμβρανική πρωτεΐνη 1 που σχετίζεται με τα λυσοσώματα, υπάρχει ενδοκυτταρικά σε	FAE-προερχόμενη Gra33 <sup>+</sup> μέσω εξωσωμάτων (FAE-derived Gra33 <sup>+</sup> exosomes), (Gra33 <sup>+</sup> - Glycoprotein A33), αυτή η διαμεμβρανική γλυκοπρωτεΐνη ανήκει στην υπεροικογένεια Ig, που

<p>ενδοσώματα, τα οποία είναι υπεύθυνα για την διαλογή ενδοκυτωμένων οργανιδίων από κυστίδια που προέρχονται από την κυτταρική μεμβράνη και την μεταφορά τους στα λυσοσώματα. Αυτά τα κυστίδια περιέχουν διάφορα οργανίδια όπως η LAMP1, είναι υπεύθυνα για τη διατήρηση της λυσοσωμικής ακεραιότητας, του pH και του καταβολισμού.</p>	<p>λειτουργεί ως υποδοχέας αντιγόνου στα B &amp; T λεμφοκύτταρα, ελέγχει την κυτταρική προσκόλληση, ενεργοποίηση και διαφοροποίηση. Προερχόμενη από τα κύτταρα FAE μέσω εξωσωμάτων (μικρά κυστίδια που αποβάλλονται από το κύτταρο διαπερνώντας την κυτταρική μεμβράνη και μεταφέρουν λιπίδια, νουκλεϊκά οξέα, πρωτεΐνες και αυξητικούς παράγοντες) και ελευθερώνεται στον υποεπιθηλιακό χώρο.</p>
<p> <b>Θυλακίωδη δένδριτικά κύτταρα (FDC-Follicular Dendritic Cell)</b></p>	

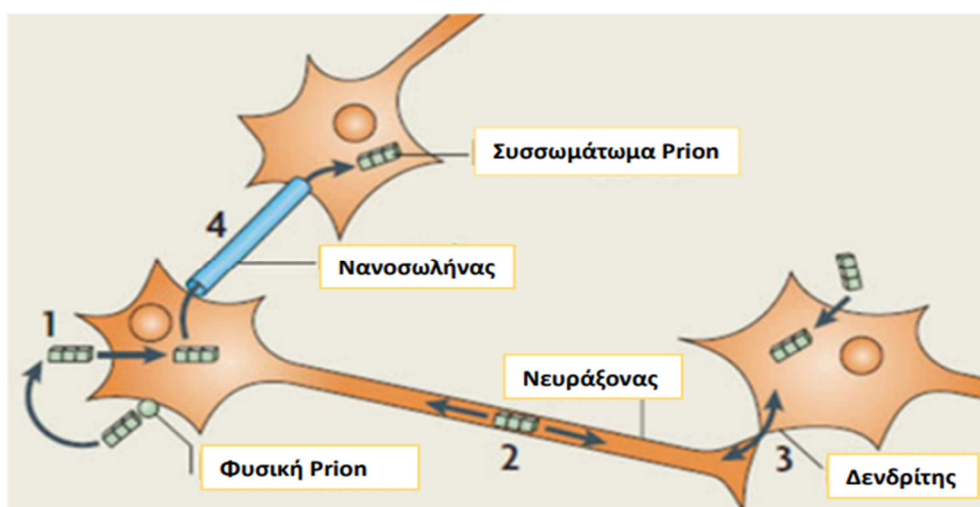
**Εικόνα 14:** Τα Prions χρησιμοποιούν έναν περίτεχνο τρόπο για την κυτταρική εξάπλωση και μόλυνση στον ξενιστή, μέσω του αυλού του εντέρου στον εγκέφαλο

- (1) Μετά την λήψη κάποιας ποσότητας prions (π.χ. μέσω τροφής) από τον αυλό του εντέρου, μεταφέρεται αυτή η ποσότητα μέσω των μεγάλων ενδοσωμάτων LAMP1+, διαπερνά τα επιθηλιακά κύτταρα του εντέρου και τις πλάκες του Peyer,
- (2) δεν παρατηρείται αντίδραση στη νόσο prion λόγω απουσίας M κυττάρων, έτσι τα prions εκμεταλλεύονται τα M κύτταρα για να μολύνουν τις πλάκες Peyer.
- (3) Στην συνέχεια οι prions απελευθερώνονται από τα εντεροκύτταρα στην περιοχή του υποεπιθηλιακού θόλου και
- (4) πιθανότατα καταβροχθίζονται από μακροφάγα.
- (5) Τα τυπικά δένδριτικά κύτταρα θεωρείται ότι προσλαμβάνουν τις prions μετά την διακυττάρωσή τους από τα M κύτταρα και τα παραδίδουν στα θυλακίωδη δένδριτικά κύτταρα (FDC) μέσα στα θυλακικά B κύτταρα (B-2 λεμφοκύτταρα).
- (6) Οι prions στη συνέχεια αντιγράφονται στην επιφάνεια των FDC.
- (7) Μόλις οι prions πολλαπλασιαστούν στις επιφάνειες των FDC, στη συνέχεια μολύνουν τα εντερικά νεύρα κοντά στις πλάκες του Peyer και εξαπλώνονται μέσω του περιφερικού νευρικού συστήματος για να εδραιώσουν την νόσο εντός του ΚΝΣ, (Mabbott N.A., 2017).

### 3.6.3. Διασπορά από κύτταρο σε κύτταρο

Στην διασπορά των ασθενειών prion, η εξάπλωση γίνεται κατά μήκος συγκεκριμένων ανατομικών οδών. Μπορεί να εξαπλωθεί από το ένα νευρώνα σε άλλους γειτονικούς νευρώνες διαμέσου συνάψεων στο σημείο που είναι συνδεδεμένοι μεταξύ τους οι νευρώνες (πχ. τους νευράξονες). Οι νανοσωλήνες που χρησιμοποιούνται ως σήραγγα και διοχετεύονται όλες οι ουσίες, είναι ένα μέσο επικοινωνίας από κύτταρο σε κύτταρο. Αυτά είναι κανάλια λεπτής μεμβράνης που καθορίζουν τη συνέχεια μεταξύ των κυττάρων. Αυτά έχουν διάμετρο 50-200 nm και διευκολύνουν την άμεση μεταφορά οργανιδίων και πρωτεϊνών από κύτταρο σε κύτταρο. Έχει βρεθεί ότι χρησιμοποιούνται από τις prions για διακυτταρική εξάπλωση. Η χρήση τους από τις prions απεικονίζεται στην Εικόνα 15, όπου χρησιμοποιούν την σήραγγα των νανοσωλήνων και την σύνδεση της σύναψης, (Beckerman M., 2015). Τα πολυκυστιδικά σωμάτια (MVBs-Multivesicular bodies) μεταφέρουν κυτταρικά συστατικά στο λυσοσωμικό διαμέρισμα για αποικοδόμηση. Μεταφέρουν επίσης υλικά

στην κυτταρική μεμβράνη, με την οποία συντήκονται και απελευθερώνουν το περιεχόμενό τους στους εξωκυτταρικούς χώρους. Τα ενδοκυτταρικά κυστίδια είναι μικρά κυστίδια που περιέχονται στα MVB και απομονώνουν υλικό που συνδέεται με την αποικοδόμηση. Αυτά τα μικρά κυστίδια που περιέχουν διάφορα μόρια όπως πρωτεΐνες, πεπτίδια, γενετικό υλικό κ.α, αναφέρονται ως εξωσώματα όταν προορίζονται για την κυτταρική μεμβράνη και την εξωκυτταρική απελευθέρωση. Τα εξωσώματα και το περιεχόμενό τους μπορούν στη συνέχεια να συλληφθούν από άλλα κύτταρα μέσω εσωτερίκευσης ή μέσω δέσμευσης υποδοχέα. Αυτό το μέσο μεταφοράς παίζει σημαντικό ρόλο στην επικοινωνία μεταξύ των κυττάρων, όπως συμβαίνει στα κύτταρα του ανοσοποιητικού συστήματος καθώς και σε άλλους τύπους κυττάρων, (Beckerman M., 2015).



**Εικόνα 15:** Εξάπλωση άμεσης επαφής από κύτταρο σε κύτταρο. Οι prions εσωτερικεύονται μέσω ενδοκυττάρωσης (βήμα 1). Μπορούν να κινηθούν αμφίδρομα μέσω ενός άξονα (βήμα 2) και κατά μήκος της συναπτικής σχισμής προς τους δενδρίτες σε ένα κύτταρο δέκτη (βήμα 3). Εναλλακτικά, μπορούν να μετακινούνται από κύτταρο σε κύτταρο μέσω νανοσωλήνων (βήμα 4), (Beckerman M., 2015).

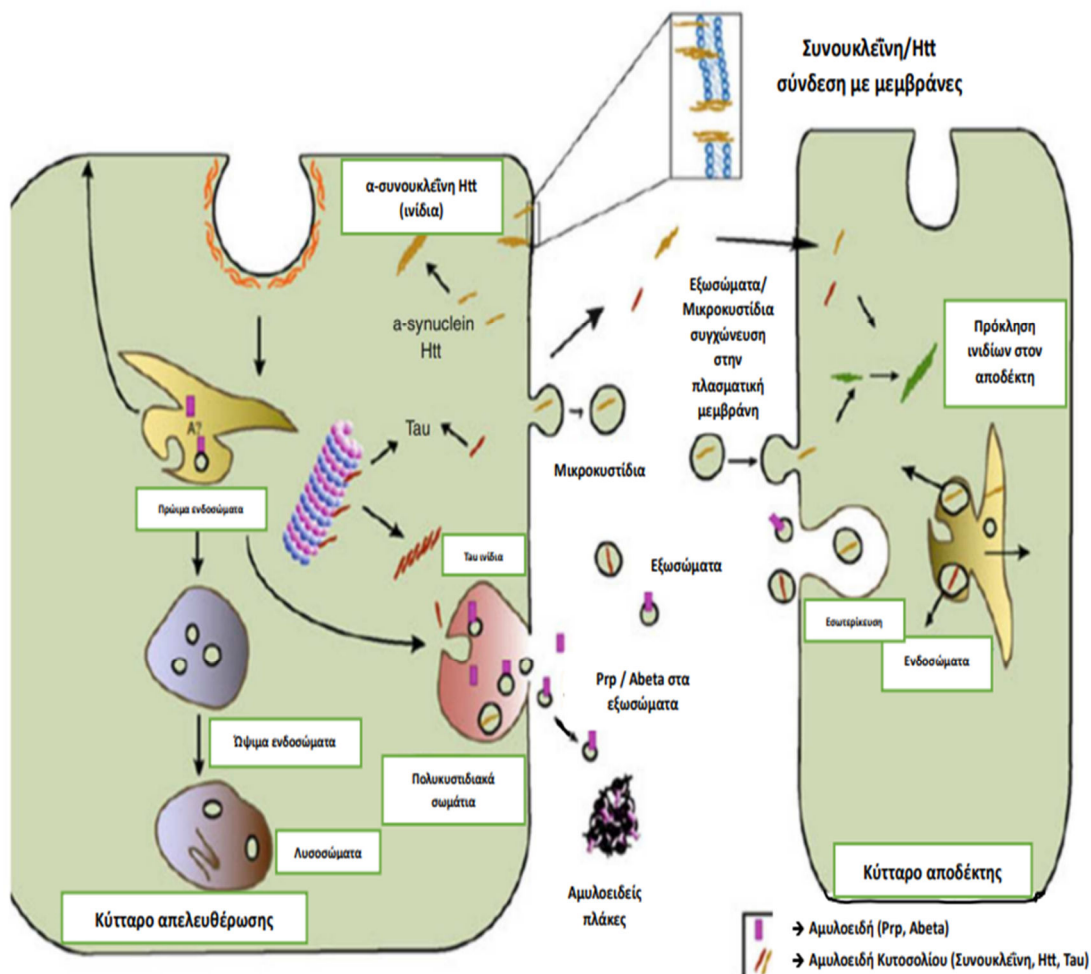
Επίσης βρέθηκε ότι τα εξωσώματα χρησιμοποιούνται από νευρώνες για να απαλλαγούν από τις ανεπιθύμητες prion, όπως την κακή αναδιαμόρφωση της PrP<sup>C</sup> και την PrP<sup>Sc</sup>, που προφανώς λειτουργούν ως ένας ακόμη εφεδρικός μηχανισμός ποιοτικού ελέγχου της πρωτεΐνης. Ωστόσο κάθε εξώσωμα που φέρει πρωτεΐνες οι οποίες προκαλούν ασθένειες, γίνεται ένας δούρειος ίππος. Αυτός ο μηχανισμός εξάπλωσης δεν περιορίζεται μόνο στις PrP prions, αλλά και όμοιες με prion που εξαπλώνονται από εξωσώματα μεσολαβητές, όπως:

- το **Αβ αμυλοειδές** (που είναι το κύριο συστατικό των αμυλοειδών πλακών που βρίσκονται στους εγκεφάλους ατόμων οι οποίοι πάσχουν από την νόσο Alzheimer),
- οι **tau πρωτεΐνες** (ο κύριος ρόλος τους είναι η διατήρηση της σταθερότητας των μικροσωληνίσκων στους νευράξονες, αλλά η παθολογική τους μορφή σχετίζεται με την νόσο του Alzheimer και την νόσο του Parkinson),
- η **α-συνουκλεΐνης** (μια πρωτεΐνη που ρυθμίζει την διακίνηση των κυστιδίων στις συνάψεις και την απελευθέρωση νευροδιαβιβαστών, αλλά η παθολογική μορφή σχετίζεται με την νόσο του Parkinson και άλλες συνουκλεινοπάθειες),

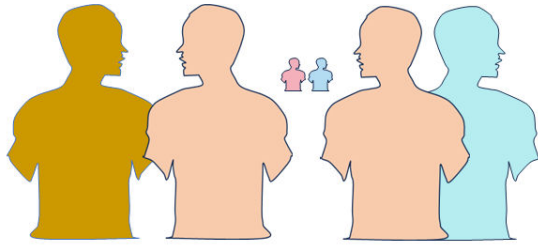


- η **Htt πρωτεΐνη** (ως πρωτεΐνη έχει νευροπροστατευτικές δράσεις, όμως η μεταλλαγμένη μορφή αυτής της πρωτεΐνης προκαλεί την νόσο του Huntington (HD) γνωστή και ως χορεία του Huntington) καθώς και άλλοι παράγοντες που προκαλούν νευροεκφυλιστικές ασθένειες.

Στην Εικόνα 16 απεικονίζεται η ενθυλάκωση και η απελευθέρωση αυτών των μορίων που προαναφέρθηκαν παραπάνω, μέσω εξωσωμάτων ή μέσω μικροκυστιδίων και διαμέσου των πόρων της μεμβράνης προσλαμβάνονται από κοντινά ή μακρινά κύτταρα, (Beckerman M., 2015).



**Εικόνα 16:** Απεικόνιση των διάφορων οδών των μορίων που προκαλούν νευροεκφυλιστικές νόσους που ομοιάζουν με prion και διασπείρονται από κύτταρο σε κύτταρο. Στην εικόνα βλέπουμε τις πιθανές διαδρομές απελευθέρωσης κατά μήκος της κυτταρικής μεμβράνης, μέσω πόρων ή εξωκυτταρικών κυστιδίων (ή αλλιώς κοκκίων) που καταλήγουν σε άλλα κύτταρα λήπτες. Μια διαδικασία που γίνεται σε όλα τα κύτταρα μεταξύ τους, καθώς και στα προσυναπτικά και μετασυναπτικά νευρικά κύτταρα για την μεταφορά και την απελευθέρωση του περιεχομένου τους, (Beckerman M., 2015).



## Κεφάλαιο 4

# ΑΣΘΕΝΕΙΕΣ PRION ΣΤΟΥΣ ΑΝΘΡΩΠΟΥΣ

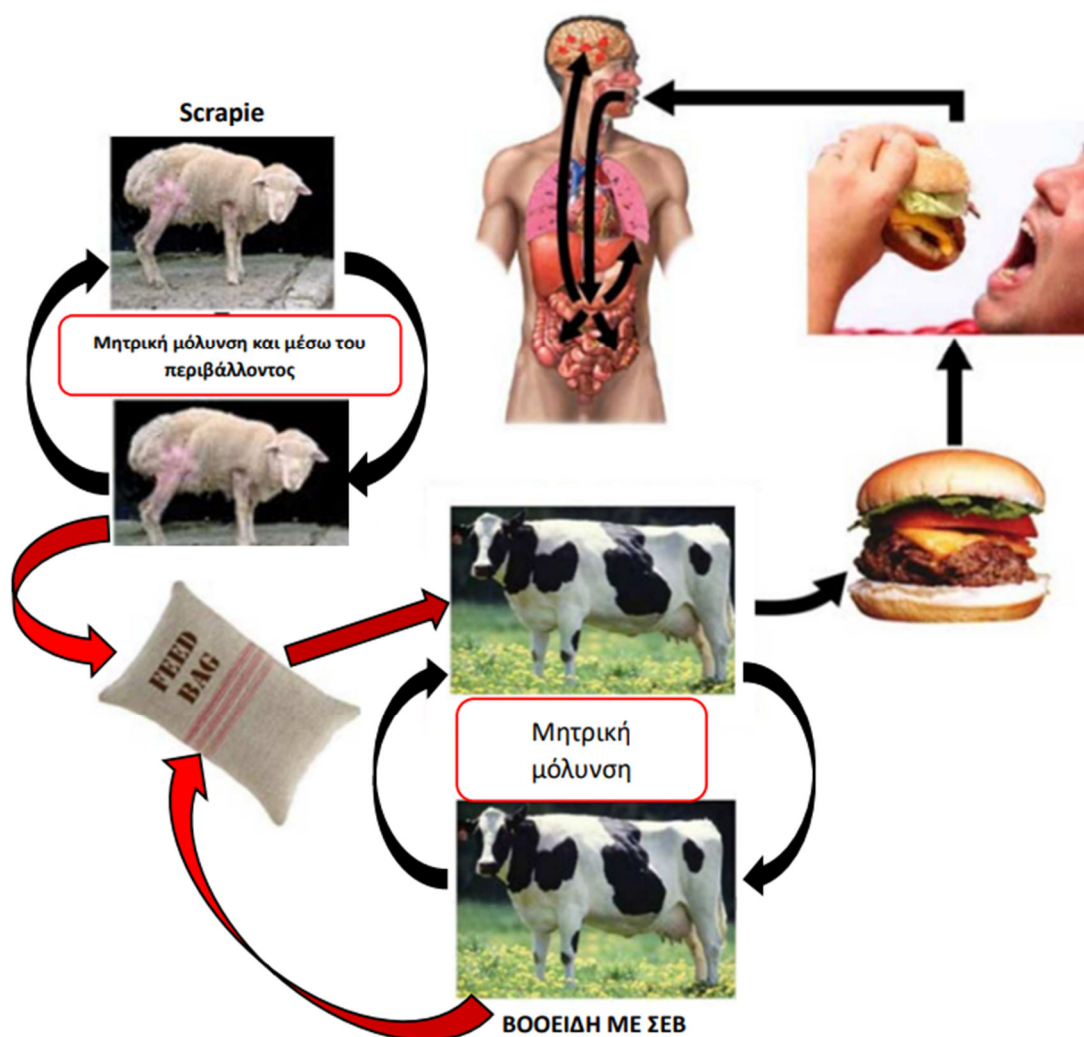
**4.1. ΙΔΙΟΠΑΘΕΙΣ ΑΣΘΕΝΕΙΕΣ PRION (ΣΠΟΡΑΔΙΚΕΣ)**

**4.2. ΟΙ ΓΕΝΕΤΙΚΕΣ ΑΣΘΕΝΕΙΕΣ PRION (ΚΛΗΡΟΝΟΜΙΚΕΣ)**

**4.3. ΕΠΙΚΤΗΤΕΣ ΑΣΘΕΝΕΙΕΣ PRION (ΜΟΛΥΣΜΑΤΙΚΕΣ)**

#### 4. ΑΣΘΕΝΕΙΕΣ PRIONS ΣΤΟΥΣ ΑΝΘΡΩΠΟΥΣ

Όπως έχουμε προαναφέρει, οι ασθένειες Prions είναι σπάνιες νευροεκφυλιστικές διαταραχές που οφείλονται στην συσσώρευση μιας ανώμαλης μορφής, της πρωτεΐνης prion ( $\text{PrP}^{\text{Sc}}$ ), η οποία προέρχεται από την λανθασμένη αναδίπλωση της φυσιολογικής κυτταρικής μορφής, της πρωτεΐνης prion ( $\text{PrP}^{\text{C}}$ ). Οι ασθένειες Prion διαφέρουν από άλλες νευροεκφυλιστικές διαταραχές στον άνθρωπο δεδομένου ότι είναι μεταδοτικές μεταξύ ατόμων ακόμη και μεταξύ ζώων και άνθρωπο. Ο μεταδοτικός παράγοντας δεν είναι ο συνηθισμένος τρόπος μόλυνσης (που γίνεται με τα βακτήρια και τους ιούς) καθώς διαφέρει από αυτά στις φυσικές, χημικές και βιολογικές του ιδιότητες. Στην εικόνα 17 απεικονίζονται η μολυσματική διαδρομή της ασθένειας prion από τα ζώα στον άνθρωπο.



*Εικόνα 17: Η μολυσματική διαδρομή της ασθένειας prion από τα ζώα στον άνθρωπο (τροποποίηση εικόνας από Γουδετσίδα Ι., 2023, συγχώνευση δύο εικόνων από Vojdani A. and Bautista J., 2012 και Basima Abdulfatah, 2011).*



Στους ανθρώπους κυρίως εμφανίζονται ως νόσος του Creutzfeldt-Jakob (CJD), που είναι η συνηθέστερη νόσος prion του ανθρώπου. Εμφανίζεται με τρεις κύριες μορφές όπως φαίνονται στον πίνακα 6 και χαρακτηρίζονται από:

- **νευροπαθολογικά συμπτώματα,**
- **σπογγείωση στις προσβεβλημένες περιοχές της φαιάς ουσίας** (που συνοδεύεται από απώλεια των νευρώνων),
- **αντιδραστική γλοιώση και συσσώρευση PrP<sup>Sc</sup> στον εγκέφαλο,** (Ritchie D.L. and Ironside J.W., 2017).

<b>Αιτιολογία</b>	<b>Ασθένεια</b>
1. Ιδιοπαθής (σποραδική)	Σποραδική νόσος Creutzfeldt-Jakob ( <b>sCJD</b> - sporadic Creutzfeldt-Jakob Disease) Σποραδική θανατηφόρα αϋπνία ( <b>sFI</b> - sporadic Fatal Insomnia) Παραλλαγή της ασθένειας prion με ευαισθησία στην δράση της πρωτεάσης ( <b>VPSPr</b> - variably protease-sensitive prionopathy)
2. Γενετική (κληρονομική)	Γενετική (ή οικογενής) CJD ( <b>gCJD</b> - genetic Creutzfeldt-Jakob disease) Σύνδρομο Gerstmann–Sträussler–Scheinker ( <b>GSS</b> - Gerstmann–Sträussler–Scheinker Syndrome) Οικογενής θανατηφόρα αϋπνία ( <b>FFI</b> - Fatal Familial Insomnia)
3. Επίκτητη (μολυσματική)	Kuru Ιατρογενής CJD ( <b>iCJD</b> - iatrogenic Creutzfeldt-Jakob Disease) Παραλλαγή της CJD ( <b>vCJD</b> - variant Creutzfeldt-Jakob Disease)

**Πίνακας 6:** Οι ανθρώπινες ασθένειες Prion οι οποίες ταξινομούνται ανάλογα το αίτιο.

#### **4.1. ΙΔΙΟΠΑΘΕΙΣ ΑΣΘΕΝΕΙΕΣ PRION (ΣΠΟΡΑΔΙΚΕΣ)**

Στις ιδιοπαθείς ασθένειες των prions ανήκουν οι:

- α) Σποραδική νόσος Creutzfeldt-Jakob (sCJD- sporadic Creutzfeldt-Jakob Disease)
- β) Σποραδική θανατηφόρα αϋπνία (sFI- sporadic Fatal Insomnia)
- γ) Παραλλαγή της ασθένειας prion με ευαισθησία στην δράση της πρωτεάσης (VPSPr- variably protease-sensitive prionopathy)

##### **a) Η σποραδική CJD (sCJD)**

Η ασθένεια της **σποραδικής CJD** (sCJD- sporadic Creutzfeldt-Jakob Disease) είναι η πιο κοινή μορφή νόσος prion των ανθρώπων. Από επιδημιολογικής άποψης έχει αναφερθεί σε πολλές χώρες. Στις ανεπτυγμένες χώρες όπου τα επιδημιολογικά συστήματα επιτήρησης είναι πιο εξελιγμένα, αναφέρουν ότι τα ποσοστά θνησιμότητας είναι περίπου 1–2 άτομα/ ανά εκατομμύριο ατόμων/ ανά έτος. Εμφανίζεται σποραδικά σε όλο τον κόσμο και προσβάλλει κυρίως μεσήλικες και ηλικιωμένους. Αν και υπάρχει ένας κοινός τυπικός κλινικοπαθολογικός φαινότυπος, υπάρχουν παραλλαγές και μερικές ασυνήθιστες εμφανίσεις, (Knight R., 2017).

Τα αίτια της sCJD είναι άγνωστα. Επί του παρόντος θεωρείται γενικά ως μια αυθόρμητη νευροεκφυλιστική νόσος, που πιθανώς οφείλεται σε κάποια τυχαία αλλαγή της αναδίπλωσης της πρωτεΐνης ή σε τυχαία μετάλλαξη του PRNP (το γονίδιο της πρωτεΐνης prion). Υπάρχει και η πιθανότητα ότι μερικές ή ακόμη και όλες οι

περιπτώσεις προκύπτουν από άγνωστη μετάδοση (ιατρογενείς ή ζωνοσογόνες), καθώς έχουν συγκεντρωθεί αρκετά δεδομένα από περιπτώσεις ασθενών σε πολλές μελέτες. Αυτά τα οποία διευκρινίστηκαν προς το παρόν και έχουν σχέση με το αίτιο της ασθένειας, είναι η ηλικία εμφάνισης, οι γενετικές μεταλλάξεις και οι χειρουργικές επεμβάσεις (κάποιες μελέτες δεν έχουν δείξει καμία συσχέτιση της ασθένειας με τις χειρουργικές επεμβάσεις), (Knight R., 2017).

Σε αντίθεση με τις κληρονομικές ή αλλιώς τις γενετικές ασθένειες prion που σχετίζονται με την μετάλλαξη της PrP και τις επίκτητες ασθένειες prion που προκαλούνται από την μόλυνση του εξωγενούς μολυσματικού PrP, η αιτιολογία των σποραδικών μορφών της νόσου prion παραμένει θέμα υπό διερεύνηση. Διάφορα σενάρια εξετάστηκαν που αφορούν την κυτταρική βιολογία και είναι:

(I) Οι σωματικές μεταλλάξεις στο γονίδιο PrP που οδηγούν στην έκφραση και την δημιουργία μιας ασταθούς παραλλαγής PrP στο μεταλλαγμένο κύτταρο.

(II) Ανεπαρκής ακρίβεια ή αστοχία της συσκευής που ελέγχει τις λανθασμένες αναδιπλώσεις των πρωτεϊνών και αυτό είναι το σύστημα ποιοτικού ελέγχου των πρωτεϊνών.

(III) Διάφορα σφάλματα στις μετα-μεταφραστικές τροποποιήσεις (PTMs- Post-translational modifications) στο ενδοπλασματικό δίκτυο κατά την φωσφορυλίωση, ή τη νιτροζυλίωση, ή την οξειδωση κτλ, τα οποία είναι ζωτικής σημασίας για τη ρύθμιση της σταθερότητας, της κατανομής και της λειτουργίας των πρωτεϊνών. Αυτά τα σφάλματα έχουν ως αποτέλεσμα την έκθεση της PrP σε ακατάλληλο περιβάλλον με πιθανότητα μεταλλαγής της στην ανώμαλη μορφή.

(IV) Η αδυναμία του κυττάρου να ελέγξει την αδιάλυτη PrP<sup>C</sup> (iPrP<sup>C</sup>- insoluble PrP<sup>C</sup>, μερικώς ανθεκτική στην πρωτεάση), η οποία θεωρείται μια ενδιάμεση μορφή μεταξύ της PrP<sup>C</sup> με την PrP<sup>Sc</sup> ή αλλιώς PrP\* (Αναφορά Κεφ. 3.3.1) ή σιωπηλή prion (θεωρείται ότι είναι μια μικρή ποσότητα της κακής αναδιαμόρφωσης της PrP<sup>C</sup>). Αυτή λοιπόν δεν προκαλεί νευροεκφυλιστική διαταραχή, πιθανώς γιατί βρίσκεται σε σιωπηλή κατάσταση.

Θεωρείται ότι Η γενεσιουργός αιτία στην μετατροπή και τον πολλαπλασιασμό της παθολογικής μορφής PrP<sup>Sc</sup> είναι:

- Η επαφή και αλληλοείδραση της παθολογικής μορφής PrP<sup>Sc</sup> με την φυσιολογική μορφή PrP<sup>C</sup> καθώς δημιουργείται μια προσωρινή ενδιάμεση μορφή,
- Η συσσώρευση μεγάλης ποσότητας της ενδιάμεσης μορφής [iPrP<sup>C</sup>- insoluble PrP<sup>C</sup>] σε βάθος χρόνου, και η αλληλεπίδραση με την PrP<sup>Sc</sup>, επιτρέπει την μετατροπή της ενδιάμεσης μορφής στην παθολογική μορφή PrP<sup>Sc</sup> και προκαλείται ένας καταρράκτης μετατροπής παθολογικών μορφών

Και στις δύο περιπτώσεις ο συντελεστής αποτυχίας αποδίδεται και στο σύστημα του ποιοτικού ελέγχου των πρωτεϊνών στο ενδοπλασματικό δίκτυο, λόγω απώλειας ελέγχου της ενδιάμεσης μορφής που έχει να κάνει και με την γήρανση των κυττάρων. Γι' αυτό και οι νευροεκφυλιστικές νόσοι εμφανίζονται σε μεγάλες ηλικίες.

Η εμφάνιση των παραμορφωμένων πρωτεϊνών στις νευροεκφυλιστικές νόσους, εντοπίζεται σε μια περιορισμένη περιοχή του εγκεφάλου για κάθε μια από αυτές (Αναφορά Κεφ. 1.2, Εικ. 1), ακόμη και σε ένα μόνο κύτταρο, από το οποίο αρχίζει η διαδικασία εξάπλωσης της ανώμαλης μορφής της PrP<sup>C</sup>. Πειραματικά έχει αποδειχθεί ότι ο πολλαπλασιασμός συμβαίνει κατά μήκος των νευρών και δια μέσου των

συνάψεων, σε κεντρομόλες και φυγόκεντρες κατευθύνσεις, (Gambetti P. and Notari S., 2013).

Τα Κλινικά χαρακτηριστικά: Η πλειονότητα των περιπτώσεων της sCJD παρουσιάζεται ως ταχεία εξελισσόμενη και πολυεστιακή εγκεφαλοπάθεια, με εμφανή χαρακτηριστικά την **άνοια**, την **παρεγκεφαλιδική αταξία** και την **μυοκλονία** (ξαφνικές σπασμωδικές κινήσεις). Αυτή η μορφή εμφανίζεται προοδευτικά στους ασθενείς και μπαίνουν σε μια κατάσταση απάθειας (αδιαφορία στον πόνο, δίψα ή την πείνα) και τελικά τον θάνατο, καθώς η διάρκεια αυτής της νόσου μπορεί να κρατήσει από μερικές εβδομάδες έως μερικούς μήνες. Κάποια μειοψηφία ατόμων παρουσιάζουν προοδευτικά μια μεμονωμένη βλάβη, που συχνά εμφανίζουν παρεγκεφαλιδική αταξία ή οπτική διαταραχή, αλλά υπάρχουν και άλλες αναφορές για δυσφασία (διαταραχή της επικοινωνίας που αφορά τη μερική απώλεια της ικανότητας κατανόησης και εκφοράς γραπτού και προφορικού λόγου), πριν προχωρήσει σε μια πιο γενική εγκεφαλοπάθεια. Υπάρχουν και άλλες παραλλαγές στα κλινικά χαρακτηριστικά κατά την ηλικία έναρξης, στη διάρκεια της νόσου και στα νευροπαθολογικά χαρακτηριστικά, (Knight R., 2017).

#### **β) Σποραδική θανατηφόρα αϋπνία (SFI)**

Η σποραδική θανατηφόρα αϋπνία (sporadic Fatal Insomnia) είναι ουσιαστικά ο φαινότυπος της θανατηφόρου οικογενούς αϋπνίας (FFI), μιας οικογενούς ασθένειας prion που οφείλεται στην **σύζευξη του μεταλλαγμένου κωδικόνιου D178N με το κωδικόνιο 129M** (κωδικόνιο του γονιδίου της φυσιολογικής ανθρώπινης PrP). Ως εκ τούτου η sFI θεωρείται η σποραδική μορφή της FFI (Αναφορά στις γενετικές ασθένειες 4.2). Η σποραδική FI διαφέρει κλινικά από την sCJD λόγω της σοβαρής και χαρακτηριστικής **αϋπνίας** μαζί με **δυσλειτουργία του αυτόνομου νευρικού συστήματος**. Σε ιστοπαθολογικά ευρήματα από δείγματα του εγκεφάλου φαίνεται η σοβαρή απώλεια νευρώνων και η αστρογλοίωση συγκεκριμένων πυρήνων του θαλάμου, ενώ η σπογγώδης εκφύλιση είναι ελάχιστη ή λείπει. Τελικά η sFI αντιπροσωπεύει μόνο το 1% όλων των σποραδικών ασθενειών prion, (Gambetti P. and Notari S., 2013).

#### **γ) Παραλλαγή της ασθένειας prion με ευαισθησία στην πρωτεάση (VPSPR)**

Μια παραλλαγή της ασθένειας prion με ευαισθησία στην δράση της πρωτεάσης (*VPSPr-variably protease-sensitive prionopathy*) περιγράφηκε για πρώτη φορά το 2008 ως priονοπάθεια με ευαισθησία στην πρωτεάση. Οι αναφερόμενες αρχικές περιπτώσεις ήταν με οικογενειακό ιστορικό άνοιας και με εναπόθεση μη φυσιολογικής πρωτεΐνης prion στον εγκέφαλο (*αυτού του είδους η πρωτεΐνη είναι λιγότερο ανθεκτική στην δράση της πρωτεάσης, σε σχέση με τις πρωτεΐνες των άλλων ασθενειών prion*). Η VPSPr δύσκολα διακρίνεται κλινικά από άλλες περιπτώσεις sCJD και από διάφορες άλλες ασθένειες που προκαλούν άνοια, όπως π.χ. η Αλτσχάιμερ. Αν και κατατάσσεται στις σποραδικές νόσους prion, ξεχωρίζει ελάχιστα από την sCJD όσον αφορά την κλινική εικόνα. Μια πειραματική μελέτη με περιπτώσεις μετάδοσης VPSPr στο Ηνωμένο Βασίλειο έδειξε ότι έχει διαφορετικές βιολογικές ιδιότητες και μικρότερη μολυσματικότητα σε σχέση με την sCJD, (Knight R., 2017).

Οι ασθενείς είναι γενικά ηλικιωμένοι και παρουσιάζουν μια σειρά από νευρολογικές ανωμαλίες, συμπεριλαμβανομένων διαταραχών κίνησης, αταξίας και γνωστικής

έκπτωσης. Η διάρκεια της κλινικής ασθένειας είναι μεγαλύτερη από ό,τι στην sCJD. Η διάγνωση της VPSPr γίνεται μόνο σε νεκρούς εγκεφάλους, με βάση τα νευροπαθολογικά ευρήματα και τα βιοχημικά χαρακτηριστικά της PrP στο εργαστήριο, (Ritchie D.L. and Ironside J.W., 2017).

#### 4.2 ΟΙ ΓΕΝΕΤΙΚΕΣ ΑΣΘΕΝΕΙΕΣ PRION (ΚΛΗΡΟΝΟΜΙΚΕΣ)

Οι γενετικές ασθένειες prion είναι κληρονομικές ασθένειες και εκτιμάται ότι αντιπροσωπεύουν περίπου το 10%-15% όλων των μορφών των ανθρώπινων ασθενειών prion. Στις γενετικές ασθένειες prion δεν υπάρχει σε κάποιες περιπτώσεις οικογενειακό ιστορικό, αλλά υπάρχουν άλλες νευρολογικές διαταραχές. Αυτό είχε ως αποτέλεσμα την λανθασμένη διάγνωση ασθενών με την νόσο prion στο παρελθόν. Οι περιπτώσεις που δεν είχαν κάποιο οικογενειακό ιστορικό με την ασθένεια prion, βασίστηκαν στην θεωρία, ότι η εμφάνιση της νόσου οφείλεται σε μια **αυθόρμητη μετάλλαξη**. Μέχρι σήμερα έχουν εντοπιστεί περισσότερες από **40 διαφορετικές παθογόνες μεταλλάξεις PRNP**. Κάποιες από αυτές τις σημειακές παθογόνες μεταλλάξεις (μεταλλάξεις που συμβαίνουν σε διάφορα σημεία του μορίου της πρωτεΐνης prion) είναι οι μεταλλάξεις στην περιοχή του **αμινικού(N)-άκρου** (με υποκατάσταση κωδικωνίου ή με εισαγωγές /διαγραφές επιπλέον οκταπεπτιδίων), οι μεταλλάξεις **του καρβοξυλικού(C)-άκρου** και οι μεταλλάξεις στους **βρόγχους** (του βρόγχου μεταξύ του φύλλου β2-α2 έλικας ή τον βρόγχο α2-α3 των ελίκων) με αποτέλεσμα την παθολογική αναδίπλωση του μορίου της prion και εμφάνιση διάφορων κλινικών φαινοτύπων.

Οι κλινικοί και παθολογικοί φαινότυποι είναι η γενετική CJD, το σύνδρομο GSS και οικογενής θανατηφόρος αυπνία, που αναφέρονται παρακάτω.

- Η γενετική (ή οικογενής) CJD (gCJD- genetic Creutzfeldt-Jakob disease) μοιάζει πολύ με τη sCJD ως προς τα κλινικά και παθολογικά χαρακτηριστικά της. Είναι μια ταχέως εξελισσόμενη νόσος που συνήθως έχουμε άμεσες ενδείξεις κινητικής δυσλειτουργίας και γνωστικής επιδείνωσης της συνειδήσεως. Χαρακτηρίζεται από συμπτώματα όπως: οι αλλαγές στην προσωπικότητα, έντονο άγχος, κατάθλιψη, απώλεια μνήμης, μειωμένη σκέψη, αϋπνία, ανωμαλίες όρασης, δυσκολία στην ομιλία, δυσκολία στην κατάποση, διαταραχή της ισορροπίας, τρόμος και αδυναμία, ξαφνικές σπασμωδικές κινήσεις.
- Το Σύνδρομο GSS (Gerstmann–Sträussler–Scheinker Syndrome) εμφανίζεται κλινικά ως προοδευτικό νωτιαίο παρεγκεφαλιδικό σύνδρομο με ποικίλα νευρολογικά σημεία (έλλειψη συντονισμού βάρδισης, συντονισμού των χεριών κ.α.) και συμπτώματα, συμπεριλαμβανομένων των πυραμιδικών σημείων (δυσλειτουργίες που σχετίζονται με την κίνηση και τους μύες στις λεπτές κινήσεις των άκρων) και της προοδευτικής γνωστικής έκπτωσης (με το πέρασ του χρόνου μειώνεται η μνήμη, η ομιλία, η κρίση και η σκέψη), αλλά η άνοια δεν είναι πάντα παρούσα. Σε ορισμένες οικογένειες ασθενών που παρουσιάζουν την νόσο, διαγνώστηκαν πρότερα με άλλες μορφές κληρονομικής αταξίας, όπως είναι η σπονδυλοπαρεγκεφαλιδική αταξία.
- Η *οικογενής θανατηφόρος αυπνία* (FFI- Fatal Familial Insomnia) χαρακτηρίζεται κλινικά από διαταραχή ύπνου και δυσαυτονομία (νόσος του αυτόνομου νευρικού συστήματος), με άλλα μεταβλητά νευρολογικά σημεία (μείωση των νοητικών ικανοτήτων, παραισθήσεις, ψευδαισθήσεις και εξασθένηση του οργανισμού) και συμπτώματα, όπως η μυοκλωνία, οι γνωστικές ανωμαλίες και τα πυραμιδικά σημεία.

Η FFI αναγνωρίστηκε κλινικά για πολλά χρόνια πριν εντοπιστεί η υποκείμενη ανωμαλία στο γονίδιο PRNP.

Οι μεταλλάξεις εισαγωγής, διαγραφής και οι μεταλλάξεις Amber στο γονίδιο PRNP, συσχετίζονται με μεταβλητούς κλινικούς φαινότυπους, ορισμένοι από τους οποίους μοιάζουν με sCJD, ενώ άλλοι μοιάζουν με GSS. Στο παρελθόν, οι ασθενείς με αυτές τις μεταλλάξεις είχαν ταξινομηθεί λανθασμένα κλινικά ως νόσος του Alzheimer ή ασθένεια Huntingdon.

Έχει αναφερθεί πρόσφατα ένας νέος κλινικοπαθολογικός φαινότυπος της γενετικής ανθρώπινης νόσου prion, που χαρακτηρίζεται από διάρροια, νευροπάθεια του αυτόνομου νευρικού συστήματος και συστηματική αμυλοείδωση PrP, (Ritchie D.L. and Ironside J.W., 2017).

### **4.3 ΕΠΙΚΤΗΤΕΣ ΑΣΘΕΝΕΙΕΣ PRION (ΜΟΛΥΣΜΑΤΙΚΕΣ)**

#### **α) Kuru**

Η ασθένεια Kuru εμφανίστηκε ως νευρολογική διαταραχή σε μορφή επιδημίας μεταξύ των ατόμων της φυλής Fore της Παπούα Νέας Γουινέας τη δεκαετία του 1950 και είχε σχέση με τον τελετουργικό κανιβαλισμό. Η Kuru ήταν υπεύθυνη για πολλούς θανάτους περισσότερο στις γυναίκες και τα παιδιά της φυλής, επειδή τρώγανε τους εγκεφαλικούς ιστούς. Η συχνότητα της Kuru μειώθηκε μετά την αποτροπή αυτού του τελετουργικού από τους δυτικούς. Οι τελευταίοι ασθενείς με κούρου πέθαναν στις αρχές του 21ου αιώνα. Αυτό απέδειξε και επιβεβαίωσε πολλές μελέτες, ότι η περίοδος επώασης του παθογόνου παράγοντα prion είναι πολύ μεγάλη. Η Kuru έχει πλέον εξαφανιστεί, (Ritchie D.L. and Ironside J.W., 2017).

#### **β) Ιατρογενής CJD (iCJD)**

Η ασθένεια της ιατρογενούς CJD (iCJD- iatrogenic Creutzfeldt-Jakob Disease) αναφέρθηκε για πρώτη φορά το 1974 σε έναν ασθενή που του έγινε μεταμόσχευση κερατοειδούς από δότη με sCJD. Έχουν αναφερθεί στη συνέχεια περισσότερες από 450 περιπτώσεις iCJD που η μετάδοση έγινε με μολυσμένα νευροχειρουργικά εργαλεία και ενδοεγκεφαλικά ηλεκτρόδια. Ωστόσο η πλειονότητα των περιπτώσεων μόλυνσης παρατηρήθηκε σε λήπτες με ανθρώπινα μοσχεύματα σκληρής μήνιγγας και της ανθρώπινης αυξητικής ορμόνης της υπόφυσης. Οι περίοδοι επώασης της prion συνήθως είναι στα 2-4 χρόνια, σε περιπτώσεις που χρησιμοποιήθηκαν νευροχειρουργικά ή ενδοεγκεφαλικά ηλεκτρόδια και πάνω από τις 3 δεκαετίες σε λήπτες με διάφορες ανθρώπινες ορμόνες της υπόφυσης. Υπάρχει ποικιλία κλινικών και παθολογικών φαινοτύπων στην ιατρογενή CJD, όπου ορισμένοι ασθενείς έχουν κλινικά χαρακτηριστικά παρόμοια με εκείνα της sCJD. Προοδευτικά παρουσιάζουν νευρολογικά σημεία της παρεγκεφαλίδας (Εξωοφθαλμικές κινήσεις, αταξική ομιλία, ασυντόνιστες κινήσεις σώματος) και ταυτόχρονα με συμπτώματα όπως διάφορες νευρολογικές ανωμαλίες και όψιμη άνοια, τα οποία είναι κοινά σε αυτούς που παρουσιάζουν iCJD και έχουν γίνει δέκτες ανθρώπινων ορμονών της υπόφυσης, (Ritchie D.L. and Ironside J.W., 2017).

### γ) Παραλλαγή της CJD (vCJD)

Η παραλλαγή της CJD (vCJD- Variant Creutzfeldt-Jakob Disease) προέκυψε κυρίως ως ζωνοσός που οφειλόταν σε διατροφική μόλυνση με μολυσματικό υλικό από βοοειδή που προσβλήθηκαν από ΣΕΒ. Η δευτερογενής μετάδοση από άνθρωπο σε άνθρωπο είχε προκληθεί λόγω της μετάγγισης αίματος και της θεραπευτικής χρήσης προϊόντος αίματος (παράγοντας VIII).

**Επιδημιολογία:** Η vCJD αρχικά ονομαζόταν «νέα παραλλαγή της CJD», αναφέρθηκε για πρώτη φορά στο Ηνωμένο Βασίλειο το 1996. Στη συνέχεια τα κρούσματα εντοπίστηκαν και σε άλλες χώρες, ιδιαίτερα στο Ηνωμένο Βασίλειο και τη Γαλλία. Τα πρόσφατα παγκόσμια στοιχεία δίνονται στον Πίνακα 7.

Ο αριθμός των εσωτερικών κρουσμάτων ΣΕΒ σε μια χώρα δεν αφορά μόνο τον ντόπιο πληθυσμό αλλά και τους επισκέπτες στο Ηνωμένο Βασίλειο που εκτέθηκαν στον κίνδυνο κατά τη διάρκεια της παραμονής τους (συνήθως πάνω από 6 μήνες). Παράλληλα υπήρξε και εξαγωγή μολυσμένου υλικού (άτομα, ζώα, μολυσμένα προϊόντα αίματος, μολυσμένες τροφές για ανθρώπους και ζώα) από το Ηνωμένο Βασίλειο σε άλλες χώρες, όπως έχει συζητηθεί που αφορά τις περιπτώσεις μόλυνσης στην Γαλλία με vCJD, (Knight R., 2017).

Η vCJD έχει επηρεάσει τις νεότερες ηλικιακές ομάδες που είναι χαρακτηριστικές για την sCJD. Στο Ηνωμένο Βασίλειο 178 περιπτώσεις με πιθανή vCJD, όπου η μέση ηλικία έναρξης της ασθένειας sCJD ήταν τα 26 έτη (εύρος: 12–74) (sCJD: 67 έτη) και η μέση ηλικία θανάτου ήταν τα 28 έτη (sCJD: 68 έτη), [NCJDRSU ιστοσελίδα/ετήσια έκθεση 2020]. Οι αναφερόμενες περιπτώσεις μόλυνσης στην Γαλλία ήταν επίσης νεότερα άτομα, οι οποίες ήταν ελάχιστα περισσότερες από τις περιπτώσεις στο ΗΒ με μέση ηλικία έναρξης τα 37 έτη (εύρος: 18–57). Είναι σημαντικό να σημειωθεί ότι η vCJD έχει επηρεάσει και τους ηλικιωμένους. Το τελευταίο γνωστό κρούσμα vCJD στο Ηνωμένο Βασίλειο αναφέρθηκε το 2016 με έναρξη το 2014, (NCJDRSU Annual Reports, 2020, Knight R., 2017).

Χώρα <sup>a</sup>	Αριθμός περιπτώσεων	Σχόλια
Ηνωμένο Βασίλειο	178	Περιλαμβάνει τρεις περιπτώσεις μετάγγισης αίματος. 1 περίπτωση ήταν PRNP-129 MV
Γαλλία	27	1: UKR
Ισπανία	5	
Δημ. της Ιρλανδίας	4	
ΗΠΑ	4	2: UKR
Ιταλία	3	
Ολλανδία	3	
Πορτογαλία	2	
Καναδάς	2	1: UKR
Σ.Αραβία	1	
Ιαπωνία	1	
Ταϊβάν	1	1: UKR

**Πίνακας 7:** Η παραλλαγή CJD και οι αναφερόμενες περιπτώσεις. Τα κρούσματα αποδίδονται σε χώρες όπου διαμένανε οι ασθενείς το χρονικό διάστημα της ασθένειας. Αυτά δεν είναι

αναγκαστικά η χώρα στην οποία εκδηλώθηκε η μόλυνση. UKR σημαίνει ότι αυτές οι περιπτώσεις ήταν γνωστές και ότι διέμειναν τουλάχιστον 6 μήνες στο Ηνωμένο Βασίλειο μεταξύ 1980 και 1996 (διαιτητική περίοδος κινδύνου ΣΕΒ στο Ηνωμένο Βασίλειο). Ωστόσο ορισμένες άλλες περιπτώσεις θεωρείται ότι έχουν εκτεθεί σε χώρα διαφορετική από τη χώρα που τους αποδίδεται η έκθεση στον μολυσματικό παράγοντα. Βέβαιες και πιθανές περιπτώσεις όπως ορίζονται με αποδεκτά κριτήρια επιτήρησης στις 25.04.17.

**Η αιτία:** Ο πιο πιθανός αιτιολογικός παράγοντας είναι οι μολυσμένες τροφές με την σπογγώδη εγκεφαλοπάθεια των βοοειδών (ΣΕΒ), όπου ξεκίνησε η ασθένεια της vCJD. Είναι ιδιαίτερα αξιοσημείωτο ότι η vCJD δεν επηρέασε ποτέ άτομα στο Ηνωμένο Βασίλειο που γεννήθηκαν μετά το 1989, ήταν και η χρονιά που θεσπίστηκαν σημαντικά μέτρα προστασίας στα τρόφιμα που προοριζόταν για κατανάλωση από ανθρώπους στο Ηνωμένο Βασίλειο.

Στα κρούσματα που εμφανίστηκαν σε άλλες χώρες, υπήρξε μεγάλη συσχέτιση όσον αφορά τις εισαγωγές μολυσμένων προϊόντων βόειου κρέατος από το Ηνωμένο Βασίλειο μεταξύ 1980 και 1996, παρά με τις αυτόχθονες περιπτώσεις ΣΕΒ. Μια προγνωστική μελέτη υπολόγισε έναν μεγάλο αριθμό περιπτώσεων με vCJD στο Ηνωμένο Βασίλειο, που βασίστηκε στα επίπεδα κατανάλωσης αλεσμένου βόειου κρέατος (προερχόμενο από την μυϊκή μάζα και τα οστά, καθώς και το κεφάλι). Από αυτές τις περιπτώσεις όλοι οι ασθενείς με vCJD γεννήθηκαν μεταξύ 1940–69 και κάποιοι μετά το 1969).

Υπήρξαν εκτιμήσεις ότι πολύ μεγάλες ποσότητες μολυσμένου υλικού με ΣΕΒ εισήλθαν σε τροφές για ανθρώπινη κατανάλωση στο Ηνωμένο Βασίλειο, αλλά ήταν σχετικά λίγες οι περιπτώσεις με vCJD. Ευτυχώς διάφορα πειραματικά στοιχεία υποστήριξαν ότι η μετάδοση μεταξύ των ειδών είναι δύσκολη, δηλαδή της μετάδοσης της ΣΕΒ στους ανθρώπους. Στις γενετικές ασθένειες prion των ανθρώπων, ο πολυμορφισμός της PRNP-129 με γονότυπο 129-MV είναι ένας σημαντικός παράγοντας (πολυμορφισμός μεθειονίνης(M)/βαλίνης(V) στο κωδικόνιο 129, του γονιδίου PRNP της prion, που είναι ο σημαντικότερος καθοριστικός παράγοντας της γενετικής προδιάθεσης). Όλες οι περιπτώσεις ασθενών vCJD μετά από γενετικό έλεγχο είχαν τον γονότυπο 129-MM (γονότυπος μεθειονίνης/μεθειονίνης (MM) στο κωδικόνιο PRNP 129), αν και μια δημοσίευση ανέφερε το πρώτο MV άτομο (μεθειονίνης/βαλίνης, MV στο κωδικόνιο PRNP 129) και ταξινομήθηκε ως πιθανό για την ασθένεια vCJD, αν και αυτός ο γονότυπος είναι πιο ανθεκτικός να παρουσιάσει την ασθένεια. Έχουν πραγματοποιηθεί αρκετές μελέτες στο Ηνωμένο Βασίλειο με ανώνυμα δείγματα. Οι τρεις μεγαλύτερες μελέτες αφορούσαν κυρίως σκωληκοειδείς αποφύσεις του εγκεφάλου. Η πρώτη μελέτη βρήκε τρεις θετικές σκωληκοειδείς αποφύσεις σε 12.674 δείγματα από ομάδες που γεννήθηκαν την περίοδο 1961-85 στις οποίες έχουν εμφανιστεί τα περισσότερα κρούσματα vCJD. Μια δεύτερη μεγαλύτερη μελέτη βρήκε 16 θετικά δείγματα σε 32.441 από δύο διαφορετικές ομάδες γεννήσεων, 1961–81 και 1941–60. Ο παγκόσμιος εκτιμώμενος επιπολασμός ήταν 493 άτομα / ανά εκατομμύριο άτομα ή 1 άτομο / ανά 2000 άτομα, (Knight R., 2017).

**Δευτερεύουσα μετάδοση:** Εάν υπάρχει πρωτογενής λοίμωξη του λεμφοειδούς ιστού από vCJD (κατανάλωση μολυσματικού υλικού) με στοιχεία υποκλινικής λοίμωξης (λοίμωξη που υφίσταται, αλλά δεν έχει εξαπλωθεί επαρκώς ώστε να εμφανίζει σαφή κλινικά συμπτώματα), υπάρχει και η πιθανότητα της δευτερογενούς μετάδοσης μέσω

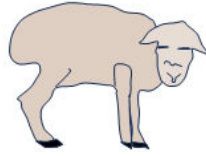
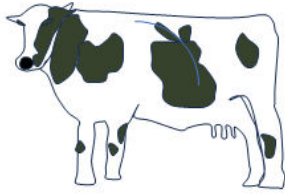
χειρουργικής επέμβασης ή με μετάγγιση αίματος από άνθρωπο σε άνθρωπο. Προς το παρόν σε μια μελέτη οδοντιατρικής χειρουργικής δεν έδειξαν κάποια στοιχεία σύνδεσης με την vCJD, αλλά έχουν αναφερθεί τέσσερις περιπτώσεις μετάδοσης της λοίμωξης με κλινική vCJD. Αυτό έγινε μέσω μετάγγισης ερυθρών αιμοσφαιρίων-3 (όλες PRNP-129 MM με το τέταρτο να είναι μια περίπτωση ασυμπτωματικής λοίμωξης σε λήπτη με PRNP-129 MV), όπως αποδείχτηκε από την εναπόθεση παθολογικής πρωτεΐνης prion στον λεμφοειδή ιστό. Υπήρξε επίσης και μία πιθανή περίπτωση ασυμπτωματικής λοίμωξης σε λήπτη με προϊόν αίματος (παράγοντας VIII), που παρασκευάζεται από πλάσμα δωρητών αίματος στο Ηνωμένο Βασίλειο. Πειράματα σε πρόβατα που μολύνθηκαν με ΣΕΒ έχουν δώσει στοιχεία για πιθανή μολυσματικότητα σε όλα τα συστατικά του αίματος και ακόμη και μετά την αφαίρεση λευκοκυττάρων.

Η μόλυνση μέσω της διατροφής που είναι η πιο πιθανή αιτία, προκύπτουν δύο πιθανές εξηγήσεις για τη σχετικά νεαρή ηλικία των περιπτώσεων vCJD: (1) πιθανόν τα νέα άτομα επειδή έχουν διαφορετικές διατροφικές συνήθειες και να τους οδήγησε σε μεγαλύτερη έκθεση, και (2) να υπάρχει μεγαλύτερη βιολογική ευαισθησία στις λοιμώξεις και στις ασθένειες που σχετίζονται με την ηλικία. Όσον αφορά την δεύτερη πιθανότητα, τα νεαρά άτομα έχουν μεγαλύτερη ποσότητα λεμφοειδούς ιστού στο έντερο και με υψηλότερη συχνότητα πιθανών σχετικών λοιμώξεων, οι οποίες μπορεί να αυξήσουν την ευαισθησία στην μόλυνση από τον μολυσματικό παράγοντα της ΣΕΒ, (Knight R., 2017).

**Κλινικά χαρακτηριστικά:** Η vCJD είναι πιο αργή στην εξέλιξη της νόσου σε σχέση από την τυπική sCJD. η μέση διάρκεια της νόσου στα περιστατικά του Ηνωμένου Βασιλείου και της Γαλλίας ήταν οι 15 μήνες. Σε όλες τις ασθένειες prion, η τελική εξέλιξη είναι ο θάνατος, χωρίς κάποια αποτελεσματική θεραπεία προς το παρόν.

Τα ψυχιατρικά χαρακτηριστικά κυριαρχούν συχνά στο αρχικό μέρος της νόσου και μπορεί να είναι και το μοναδικό χαρακτηριστικό. Ειδικό νευρολογικό γνώρισμα είναι τα επώδυνα αισθητικά συμπτώματα (πόννοι στα άκρα, αίσθηση του κρύου, μουδιάσματα κ.α.). Κατά την εξέλιξη της νόσου παρουσιάζεται η παρεγκεφαλιδική αταξία, η γνωστική εξασθένηση και οι ακούσιες κινήσεις. Επίσης μπορεί να εμφανιστούν οι επιληπτικές κρίσεις και τα οφθαλμοκινητικά προβλήματα όπως η διπλωπία, (Ritchie D.L. and Ironside J.W., 2017, Knight R., 2017).





## Κεφάλαιο 5

# ΑΣΘΕΝΕΙΕΣ PRION ΣΤΑ ΖΩΑ

**5.1 Η ΣΠΟΓΓΩΔΗΣ ΕΓΚΕΦΑΛΟΠΑΘΕΙΑ ΤΩΝ ΒΟΟΕΙΔΩΝ (ΣΕΒ)**

**5.2 ΤΡΟΜΩΔΗΣ ΝΟΣΟΣ (SCRAPIE)**

## 5. ΑΣΘΕΝΕΙΕΣ PRION ΣΤΑ ΖΩΑ

Θα αναφερθούμε σε 2 κύριες νόσους, την σπογγώδη εγκεφαλοπάθεια των βοοειδών (5.1) και την τρομώδη νόσο (scrapie) (5.2). Τα ζώα που προσβάλλονται από τις ασθένειες prion (Πίνακας 8), είναι οι αγελάδες, τα πρόβατα, οι αίγες, τα ελαφοειδή, τα μίνκ, τα οικόσιτα αιλουροειδή (γάτες, τίγρης), τα ζώα του ζωολογικών κήπων ή αυτά που βρίσκονται σε αιχμαλωσία (άγρια μεγάλα αιλουροειδή, άγρια μεγάλα μηρυκαστικά και τα πρωτεύοντα) και οι καμήλες.

ΜΣΕ Ζώων	Ξενιστής
Κλασική τρομώδης νόσος (Classical Scrapie, CS)	Πρόβατα, Αίγες, Άγριο Πρόβατο - Ovis musimon (mouflon)
Άτυπη Τρομώδης νόσος (Atypical Scrapie, AS)	Πρόβατα, Αίγες
Σπογγώδης εγκεφαλοπάθεια βοοειδών (Bovine Spongiform Encephalopathy, <b>BSE</b> ), η Κλασική ΣΕΒ (Classic BSE, <b>C-BSE</b> ) και οι άτυπες ΣΕΒ ( <b>H-BSE &amp; L-BSE</b> ).	Βοοειδή
Μεταδοτική εγκεφαλοπάθεια των μίνκ (Transmissible mink encephalopathy, <b>TME</b> )	Μίνκ (βιζόν εκτρεφόμενα)
Χρόνια ατροφική νόσος των ελαφοειδών (Wasting disease of deer and elk, <b>CWD</b> )	Τάρανδοι, Ελάφια
Σπογγώδης εγκεφαλοπάθεια των άγριων μηρυκαστικών ( <b>Transmissible spongiform encephalopathy of captive wild ruminants</b> ) ή/και Σπογγώδης εγκεφαλοπάθεια εξωτικών οπληφόρων ( <b>Exotic Ungulate Encephalopathy</b> ) που είναι ίδια μορφή με την Σπογγώδη Εγκεφαλοπάθεια των Βοοειδών στις Αγελάδες.	Άγρια μηρυκαστικά των ζωολογικών πάρκων π.χ. Βίσονες, Στρενίικερως, όρυξ και άλλα οπληφόρα είδη ζωολογικών κήπων
Σπογγώδης εγκεφαλοπάθεια αιλουροειδών (Feline Spongiform Encephalopathy, <b>FSE</b> )	Οικόσιτα αιλουροειδή καθώς και μεγάλα αιλουροειδή ζωολογικών κήπων
Σπογγώδη Εγκεφαλοπάθεια της Καμήλας (Camel Spongiform Encephalopathy, <b>CSE</b> )	Καμήλες

**Πίνακας 8.** Αναφορά όλων των γνωστών ΜΣΕ στα ζώα.

Τα εκτρεφόμενα βοοειδή ή εκτρεφόμενα μεγάλα μηρυκαστικά, είναι οι αγελάδες και η νόσος prion αναφέρεται ως σπογγώδης εγκεφαλοπάθεια των βοοειδών. Ενώ τα εκτρεφόμενα μικρά μηρυκαστικά όπως τα πρόβατα και οι αίγες, η νόσος prion ονομάζεται scrapie ή τρομώδης νόσος. Τα ζώα που μας αφορούν κυρίως (αγελάδα, πρόβατα και αίγες), έχουν σχέση με την δημόσια υγεία, επειδή καταναλώνουμε τα προϊόντα τους (γάλα, κρέας), καθώς και η χρήση άλλων ζωικών υποπροϊόντων (δέρμα, κ.α.). Τα ζώα που μας αφορούν λιγότερο και εκτρέφονται σε μικρότερη παγκόσμια κλίμακα, είναι τα ελαφοειδή που χρησιμοποιούνται για το κρέας και το δέρμα τους, καθώς και τα μίνκ για την γούνα τους.

### 5.1 Η ΣΠΟΓΓΩΔΗΣ ΕΓΚΕΦΑΛΟΠΑΘΕΙΑ ΤΩΝ ΒΟΟΕΙΔΩΝ (ΣΕΒ)

#### 5.1.1 Εισαγωγικά στοιχεία

Τον Δεκέμβριο του 1984 ένας αγρότης στο Ηνωμένο Βασίλειο κάλεσε έναν κτηνίατρο για να εξετάσει μια αγελάδα που συμπεριφερόταν ασυνήθιστα και έτσι ξεκίνησε η ιστορία της σπογγώδους εγκεφαλοπάθειας των βοοειδών (ΣΕΒ). Μερικές εβδομάδες αργότερα η αγελάδα πέθανε. Στο ίδιο κοπάδι αργότερα στις αρχές του 1985

οι πιο πολλές αγελάδες ανέπτυξαν παρόμοια κλινικά συμπτώματα. Στη συνέχεια ξεκίνησε η έξαρση της ΣΕΒ, (Zanusso G. and Monaco S., 2013).

Έτσι η ΣΕΒ αναγνωρίστηκε επίσημα το 1986 από το Ηνωμένο Βασίλειο και ταξινομήθηκε ως δυνητικά θανατηφόρος ζωνόσος που μεταδίδεται μέσω των μολυσμένων τροφών. Αν και η προέλευση της ΣΕΒ παραμένει αβέβαιη, πιστεύεται ότι τα βοοειδή που τρέφονταν από παρασκευασμένους ζωικούς ιστούς μολυσμένους με prion, ήταν η πηγή της διάδοσής prion σε πληθυσμούς των βοοειδών. Η ΣΕΒ ως ζωνόσος αποτελεί έναν πολύ σοβαρό κίνδυνο για την υγεία του ανθρώπου και των ζώων, καθώς ανακαλύφθηκε ότι υπάρχει παθογόνος σχέση μεταξύ της ΣΕΒ και μιας νέας θανατηφόρου νευροεκφυλιστικής διαταραχής στους ανθρώπους, που ονομάζεται **παραλλαγή της νόσου Creutzfeldt-Jakob (vCJD)**, (Orge L., et al., 2021).

### 5.1.2 Επιδημιολογία της ΣΕΒ

Η ΣΕΒ από το 1986 και μετά, εξαπλώθηκε από το Ηνωμένο Βασίλειο σε τουλάχιστον 28 άλλες χώρες και κυρίως στην Ευρώπη. Κάποια σποραδικά κρούσματα ανευρέθηκαν επίσης στην Ασία (Ιαπωνία), τη Μέση Ανατολή (Ισραήλ) και τη Βόρεια Αμερική. Από το 1986 μέχρι το 2017, περισσότερα από 112.000.000 ζώα έχουν εξεταστεί στην Ευρώπη και περισσότερα από 184.500 κρούσματα ΣΕΒ έχουν επιβεβαιωθεί στο Ηνωμένο Βασίλειο, 5.500 στην Ευρώπη και 60 στον υπόλοιπο κόσμο (Βραζιλία, Καναδάς, Ισραήλ και Ιαπωνία). Ο Παγκόσμιος Οργανισμός για την Υγεία των Ζώων (OIE - World Organization for Animal Health) το 2015 ανέφερε μόνο 5 περιπτώσεις ΣΕΒ παγκοσμίως, 3 στην Ευρώπη, 1 στη Νορβηγία και 1 στον Καναδά. Το 2016 μόνο 2 περιπτώσεις, 1 στη Γαλλία και 1 στην Ισπανία και για το 2017 μόνο ένα κρούσμα στην Ιρλανδία.

Στην συνέχεια αποδείχθηκε ότι η κατανάλωση κρέατος και οστεάλευρων που προερχόταν από τα μηρυκαστικά (MBM- Meat and Bone Meal) και χρησιμοποιήθηκε ως πηγή τροφής για τα ζώα, ήταν ο αιτιολογικός παράγοντας για τη διάδοσή της prion στους πληθυσμούς των βοοειδών. Βρήκανε ότι το MBM εκτός από μυϊκό ιστό και οστεάλευρα, περιείχε και ιστούς του κεντρικού νευρικού συστήματος (εγκέφαλο και νωτιαίο μυελό) καθώς και άλλους ιστούς (λεμφοειδή ιστό κ.τ.λ.) που είναι γνωστό ότι περιείχαν την μολυσματική πρωτεΐνη prion (PrP<sup>Sc</sup>). Η άμεση απαγόρευση χορήγησης τροφής MBM που έγινε το 1988 σε μηρυκαστικά, ήταν το πρώτο αποτελεσματικό μέτρο που εφαρμόστηκε στο Ηνωμένο Βασίλειο έως την κορύφωση της επιδημίας το 1992. Εκείνη την περίοδο καταγράφηκαν 37.000 επιβεβαιωμένα περιστατικά σε βοοειδή και από την χρονική στιγμή που το μέτρο που εφαρμόστηκε, η επιδημία άρχισε να μειώνεται. Για να μειώσουν τον κίνδυνο το 1989, επιβλήθηκε ένα νέο μέτρο που αφορούσε την αφαίρεση όλων των ζωικών υποπροϊόντων (εγκέφαλος, νωτιαίος μυελός, κ.α.) από την αλυσίδα τροφίμων για τους ανθρώπους και από τις ζωοτροφές. Υπήρξε μεγάλη ανησυχία για τον κίνδυνο έκθεσης του ανθρώπου στη ΣΕΒ μέσω μολυσμένων τροφίμων, εφόσον εντοπίστηκαν τα πρώτα κρούσματα της ασθένειας vCJD στο Ηνωμένο Βασίλειο.

### 5.1.3 Παθογένεση-Τύποι της ΣΕΒ στα βοοειδή

Την περίοδο της επιδημιολογικής παρατήρησης που εμφανίστηκε η vCJD, οι μοριακές και οι βιολογικές μελέτες στους διάφορους τύπους στελεχών της ΣΕΒ και της

vCJD, έδωσαν στοιχεία ότι οι ασθένειες του ανθρώπου και των ζώων είχαν τον ίδιο μολυσματικό παράγοντα, την prion. Η ΣΕΒ αναγνωρίστηκε ως ζωνόσος και ένας σημαντικός κίνδυνος για την υγεία των ανθρώπων και των ζώων. Έτσι η Ευρωπαϊκή Κοινότητα εφάρμοσε μια διαδικασία αξιολόγησης, την εκτίμηση κινδύνου (Risk assessment) ως το καταλληλότερο εργαλείο για την επιβολή του κατεπείγοντος, για τον σχεδιασμό πιο αποτελεσματικών μέτρων προφύλαξης, με στόχο την προστασία της δημόσιας υγείας, μέσω ειδικών κανόνων για την πρόληψη, τον έλεγχο και την εκρίζωση της νόσου στα βοοειδή, (Corona C., et al., 2017).

Σήμερα, μπορούμε να ξεχωρίσουμε τις μορφές της ΣΕΒ στα ζώα ως κάτωθι:

- ο τυπικός ή κλασικός τύπος της ΣΕΒ (C-BSE, Classic- Bovine Spongiform Encephalopathy), που ανήκει στην **επίκτητη μορφή**.
- η άτυπη μορφή της ΣΕΒ, η H-BSE (High-Bovine Spongiform Encephalopathy), που ανήκει στις **σποραδικές μορφές**.
- η άτυπη μορφή της ΣΕΒ, η L-BSE (Low-Bovine Spongiform Encephalopathy), που ανήκει στις **σποραδικές μορφές**.

Αρχικά (για 2 δεκαετίες περίπου) θεωρούνταν ότι η ασθένεια προκλήθηκε από τη μετάδοση ενός μόνο στελέχους prion, που είναι ο τυπικός ή κλασικός τύπος της ΣΕΒ (C-BSE, Classic- Bovine Spongiform Encephalopathy), που ανήκει στην **επίκτητη μορφή**. Το 2004 ανακαλύφθηκαν δύο τύποι ΣΕΒ (**σποραδικές μορφές**), που διακρίνονταν για τα νευροπαθολογικά φαινοτυπικά χαρακτηριστικά της νόσου, οι οποίοι ανιχνεύθηκαν στην Ιταλία και τη Γαλλία. Αυτές οι άτυπες μορφές κατηγοριοποιήθηκαν με βάση την μικρή και μεγάλη μοριακή τους μάζα, των παραλλαγμένων στελεχών της πρωτεΐνης prion στην ηλεκτροφορητική κινητικότητα σε Western blot. Ο τύπος με την μεγάλη μοριακή μάζα της ΣΕΒ (H-BSE, High-Bovine Spongiform Encephalopathy) και ο τύπος με την μικρή μοριακή μάζα της ΣΕΒ (L-BSE, Low-Bovine Spongiform Encephalopathy). Οι μορφές της ΣΕΒ τύπου C, H και L εμφανίζουν μεταξύ τους διακριτές μοριακές ιδιότητες στην διαμόρφωση του παραλλαγμένου στελέχους της πρωτεΐνης prion. Επί του παρόντος δεν υπάρχουν ολοκληρωμένες πληροφορίες σχετικά με την προέλευση των άτυπων μορφών της ΣΕΒ (σποραδικές έναντι επίκτητων) και τα δεδομένα σχετικά με την παθογένεια και των δύο άτυπων μορφών είναι πολύ περιορισμένα σε σύγκριση με τον κλασικό τύπο της ΣΕΒ (C-BSE), (Corona C., et al., 2017). Μεταξύ του 2001–2019, αναφέρθηκαν συνολικά 64 κρούσματα H-BSE και 69 κρούσματα L-BSE σε χώρες της Ευρωπαϊκής Ένωσης (ΕΕ) και εκτός της ΕΕ, ενώ στις Ηνωμένες Πολιτείες, το Ηνωμένο Βασίλειο, την Ιρλανδία και την Πορτογαλία αναφέρθηκαν 190.469 κρούσματα με C-BSE, (Orge L., et al., 2021). Σε μελέτες που έγιναν σχετικά με την μετάδοση των στελεχών, παρατηρήσανε ότι τα βοοειδή που εκτέθηκαν σε άτυπες ΣΕΒ είτε τύπου H είτε τύπου L, είχαν διάρκεια νόσου σημαντικά μικρότερη από τη ΣΕΒ τύπου C, ενώ η περίοδος επώασης της H και L ήταν μεγαλύτερη. Σε πειραματικές μελέτες με διαγονιδιακά ποντίκια (Tgbov-transgenic bovinized mice) που προσβλήθηκαν πειραματικά με ΣΕΒ τύπου H, L και C, έδειξαν τις διαφορές των στελεχών όσον αφορά την επώαση της μολυσματικής prion. Αυτά που είχαν τον τύπο L-BSE, έδειξαν μικρότερη περίοδο επώασης σε σύγκριση με αυτά που εκτέθηκαν στον τύπο C. Αντίθετα τα ποντίκια που προσβλήθηκαν με τον τύπο H-BSE έδειξαν τη μεγαλύτερη περίοδο επώασης, ευρήματα που αποδεικνύουν την εμφάνιση διαφορετικών στελεχών του παράγοντα ΣΕΒ, (Zanusso G. and Monaco

S., 2013). Η κλασική μορφή της ΣΕΒ έχει μακρά περίοδο επώασης περίπου 2,5 έως 8 έτη και η εκδήλωση της ασθένειας αρχίζει περίπου στην ηλικία 4 έως 5 ετών, που τα ζώα είναι ενήλικα. Ενώ οι άτυπες μορφές ανιχνεύονται κυρίως σε βοοειδή ηλικίας 8 ετών και άνω, (Corona C., et al., 2017).

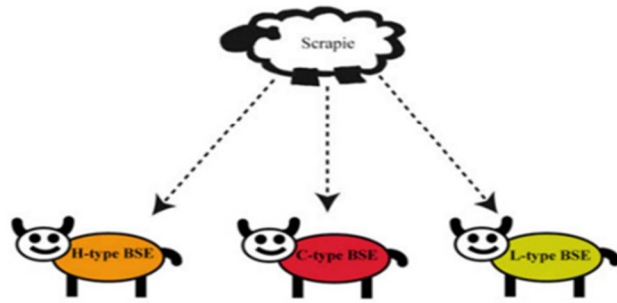
Όσον αφορά την ευαισθησία στην μόλυνση, έχει διαπιστωθεί ότι σχετίζεται και με την **ηλικία**. Στα νεαρά μοσχάρια το τοίχωμα του εντερικού σωλήνα έχει υψηλότερη απορροφητικότητα από τα ενήλικα και έτσι είναι περισσότερο επιρρεπής στη μόλυνση από prion (υπολογίστηκε ότι είναι δέκα φορές πιο ευαίσθητα από τα ενήλικα βοοειδή). Σε μελέτες υπολόγισαν το μέγιστο της ευαισθησίας, καθώς αυτό φθάνει στην ηλικία των 0.5 – 1.5 έτη και στην συνέχεια μειώνεται σταθερά όσο περνάνε τα χρόνια γύρω στο 10% της μέγιστης της τιμής, (ΥΠΑΑΤ, 2009).

#### **5.1.4 Η προέλευση της ΣΕΒ:**

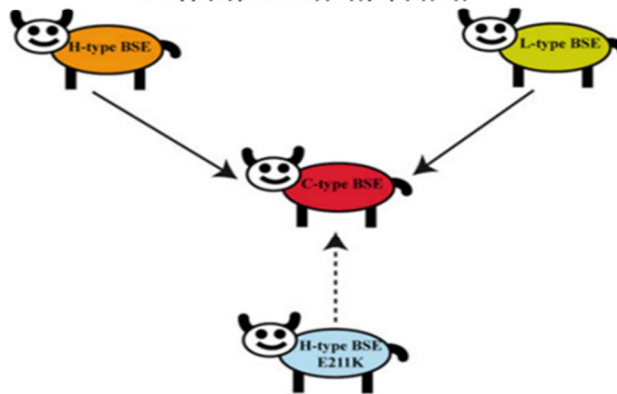
Αρχικά η ΣΕΒ αναγνωρίστηκε ως ζωνόσος και ότι τα μολυσμένα MBM (Meat and Bone Meal) που προέρχονται από ιστούς προβάτων ήταν η αρχή της σπογγώδους εγκεφαλοπάθειας των βοοειδών. Πολλές μελέτες αργότερα καταδείξανε ότι τα βοοειδή είναι ευαίσθητα στη μόλυνση από την τρομώδη νόσο των προβάτων, η οποία προκαλεί την κλασική μορφή της ΣΕΒ (C-BSE), (Εικόνα 18Α) και κατ' επέκταση την vCJD των ανθρώπων. Αυτή η νόσος όταν εισήλθε στην τροφική αλυσίδα, απέδειξε ότι διέσχισε το φράγμα μεταξύ των ειδών (προβάτων→βοοειδών και βοοειδών→ανθρώπων). Κάποιες άλλες μελέτες ανέφεραν ότι πιθανόν λόγω των αυθόρμητων μεταλλάξεων, αυξήθηκαν οι σποραδικές μορφές της ΣΕΒ (H-BSE & L-BSE) τα τελευταία χρόνια (Εικόνα 18Β), και δημιουργήθηκε η υπόνοια ότι οι άτυπες ΣΕΒ συνδέονται με τις σποραδικές ασθένειες prion (sCJD) των ανθρώπων. Όταν έγινε λήψη από εγκεφάλους νεκρών βοοειδών, ανευρέθηκε ευρεία κατανομή της μη φυσιολογικής πρωτεΐνης prion, όπου απομονώθηκε το στέλεχος τύπου H-BSE. Στο στέλεχος αυτό υπάρχει μια παθογόνος μετάλλαξη E211K (μετάλλαξη βλαστικής σειράς E211K του γονιδίου PRNP), η οποία έχει αναφερθεί σε βοοειδή με ΣΕΒ τύπου H (H-BSE), αλλά η βιολογική σχέση αυτού του ευρήματος είναι ακόμα αβέβαιη (Εικόνα 18C), (Sae-Young Won, et al., 2020, Zanusso G. and Monaco S., 2013).

### Υπόθεση της προέλευσης της κλασικής τύπου ΣΕΒ (C-type BSE)

A. Η προέλευση της κλασικής μορφής και των άτυπων μορφών από την τρομώδη νόσο των προβάτων (Scrapie)



B. Η προέλευση της κλασικής μορφής ΣΕΒ από την αυθόρμητη μετάλλαξη της μορφής της ΣΕΒ



C. Παθογόνος μετάλλαξη της PRNP που προκαλεί η H-τύπου ΣΕΒ (H-type BSE)

*Εικόνα 18: Η υπόθεση προέλευσης της κλασικής ΣΕΒ (C-type BSE), (Zanusso G. and Monaco S., 2013).*

#### 5.1.5 Κλινικά συμπτώματα

Τα κλινικά συμπτώματα χωρίζονται στα **ειδικά** και **μη ειδικά**.

##### Ειδικά κλινικά συμπτώματα:

Τέτοιου είδους συμπτώματα παρουσιάζουν η κλασική και οι άτυπες μορφές της ΣΕΒ.

- Ο κλινικός φαινότυπος της **κλασικής ΣΕΒ** αναφέρεται ότι πλήττει σε μεγαλύτερο βαθμό τα βοοειδή και χαρακτηρίζεται αρχικά από αλλαγή της συμπεριφοράς, με νευρικότητα ή ανησυχία, ακολουθούμενη από αλλαγές στις αισθήσεις με υπεραντιδραστικότητα σε εξωτερικά ερεθίσματα, αυθόρμητη ή προκαλούμενη ξαφνική αντίδραση, υπερευαισθησία σε εξωτερικά ερεθίσματα και σημάδια κινητικά όπως τρόμος, υπερμετρία, αταξία και κατάκλιση.
- Ο κλινικός φαινότυπος των **άτυπων μορφών** της ΣΕΒ δεν ορίζεται με σαφήνεια και τα διαθέσιμα δεδομένα σχετικά με τα κλινικά χαρακτηριστικά των άτυπων ΣΕΒ έχουν ληφθεί από μελέτες με πειραματική μετάδοση σε ζώα. Ο κλινικός φαινότυπος της ΣΕΒ **τύπου L**, που είναι επίσης γνωστή και ως αμυλοειδωτική σπογγώδης εγκεφαλοπάθεια των βοοειδών (BASE- bovine amyloidotic spongiform encephalopathy) χαρακτηρίζεται από άνοια, υπερευαισθησία στα ερεθίσματα του προσώπου και απώλεια βάρους, ακολουθούμενη από δεσμιδώσεις (διαταραχές του κινητικού μυϊκού

συστήματος που υποδηλώνουν τόσο κεντρικές όσο και περιφερικές νευρολογικές βλάβες) και αμυοτροφία (νευροπάθεια βραχιονίου πλέγματος των μυών) και παρεγκεφαλιδική αταξία. Αντίθετα, η **ΣΕΒ τύπου Η** χαρακτηρίζεται από απώλεια βάρους, επιδείνωση της κατάστασης του σώματος, με σκυμμένη κεφαλή, υψηλή ευαισθησία σε ακουστικά και οπτικά ερεθίσματα και ελαφρά αταξία του οπίσθιου άκρου. Ως εκ τούτου οι αλλαγές συμπεριφοράς του σώματος υπερισχύουν σε διάφορα σημεία σε αντίθεση με την κλασική ΣΕΒ, (Zanusso G. and Monaco S., 2013).

#### **Μη ειδικά κλινικά συμπτώματα:**

Τέτοιου είδους συμπτώματα ανήκουν στα πρόδρομα κλινικά συμπτώματα και σχετίζονται βασικά με τη συμπεριφορά. Η έγκαιρη κλινική διάγνωση βασίζεται μόνο μετά από καλή κλινική παρακολούθηση, καλή γνώση της φυσιολογικής συμπεριφοράς του ζώου καθώς και καλή γνώση των συμπτωμάτων της ασθένειας. Η μετάβαση από τα αρχικά συμπτώματα της νόσου που ακολουθείται από σοβαρή κλινική νόσο, μπορεί να κυμαίνεται από εβδομάδες μέχρι μήνες. Τα κλινικά συμπτώματα ομαδοποιούνται σε τρεις κατηγορίες: I) στις μεταβολές της συμπεριφοράς, II) στις ανωμαλίες στάσης και βάδισης και III) στις διαταραχές της αισθητικότητας.

**Μεταβολές της συμπεριφοράς:** Ύπαρξη ολικής ή μερικής απροθυμίας κίνησης, τριγμός των οδόντων, συνεχές γλύψιμο των ρωθώνων, υπερκινητικότητα και συσπάσεις των αυτιών, ανησυχία και φόβο, έντονη επιθετικότητα, μυϊκός τρόμος (ιδιαίτερα της κεφαλής), εξωτερικοί σπασμοί των μυών, λακτίσματα στο κενό ιδιαίτερα όταν αρμέγονται, κνησμός και πίεση της κεφαλής σε αντικείμενα.

**Ανωμαλίες στάσης και βάδισης:** Αφύσικη θέση και στάση κεφαλής, ανώμαλη στάση σώματος, απώλεια στους συντονισμούς των κινήσεων (αρχικά στα οπίσθια άκρα), δυσκολία ανέγερσης από θέση ανάπαυσης (λήψη στάσης καθήμενου σκύλου με τα οπίσθια άκρα κάτω από το σώμα και τα πρόσθια άκρα σε έκταση όπως φαίνεται στην εικόνα 18), οσφυϊκή κύφωση, κύρτωση, τοποθέτηση των οπίσθιων άκρων μπροστά κάτω από τη κοιλιά και κατάκλιση στα τελευταία στάδια της νόσου.



**Εικόνα 18:** Στάση 'καθήμενου σκύλου' (*dog sitting position*) σε αγελάδα προσβεβλημένη με ΣΕΒ, (ΥΠΑΑΤ, 2009).

**Διαταραχές της αισθητικότητας:** Ευερεθιστότητα ακόμα και σε ελάχιστη ενόχληση ή θόρυβο ή την μετακίνηση ανθρώπων, ευερεθιστότητα στο φως και στην επαφή κατά το άγγιγμα.

**Επιπλέον συμπτώματα:** Άλλα συμπτώματα μπορούν να είναι η απώλεια του βάρους, η μειωμένη γαλακτοπαραγωγή, η τύφλωση και οι δερματικές αλλοιώσεις (συνήθως λόγω της συνεχούς κατάκλισης). Η διάρκειας κλινικής νόσου ποικίλει από δύο εβδομάδες μέχρι ένα έτος. Στις περισσότερες περιπτώσεις η ευθανασία είναι αναγκαία, στο διάστημα των λίγων μηνών που θα εμφανιστούν τα κλινικά συμπτώματα, (ΥΠΑΑΤ, 2009).

### 5.1.6 Σχέση με τη Δημόσια Υγεία

Η ΣΕΒ ως νόσος των βοοειδών συνδέεται με την παραλαγή της Creutzfeldt-Jakob (vCJD) που είναι ανθρώπινη νόσος prion, λόγω της κατανάλωση προϊόντων κρέατος που προέρχονται από μολυσμένα βοοειδή. Τα υλικά υψηλού κινδύνου από μολυσμένα βοοειδή, είναι οι ιστοί που περιέχουν τον μολυσματικό παράγοντα και έχουν την δυνατότητα να μεταδώσουν τη νόσο. Στα προσβεβλημένα ζώα ο μολυσματικός παράγοντας είναι συγκεντρωμένος σε ιστούς όπως ο εγκέφαλος και ο νωτιαίος μυελός. Τα υλικά ειδικού κινδύνου (specified risk material-SRM) σύμφωνα με τον Καν (ΕΚ) αρ. 999/2001 «για τη θέσπιση κανόνων πρόληψης, καταπολέμησης και εξάλειψης ορισμένων Μεταδοτικών Σπογγωδών Εγκεφαλοπαθειών» είναι:

- ▶ το **κρανίο** (εκτός από την κάτω γνάθο), στο οποίο συμπεριλαμβάνονται ο **εγκέφαλος** και οι **οφθαλμοί**.
- ▶ ο **νωτιαίος μυελός** σε ζώα ηλικίας άνω των 12 μηνών.
- ▶ η **σπονδυλική στήλη** εκτός από τους σπονδύλους της ουράς, τις ακανθώδεις αποφύσεις των αυχενικών, θωρακικών και των οσφυϊκών σπονδύλων με τη μέση ακρολοφία και τις πτέρυγες του ιερού. Επίσης συμπεριλαμβάνονται τα **γάγγλια της ραχιαίας ρίζας** σε ζώα ηλικίας άνω των 30 μηνών.
- ▶ οι **αμυγδαλές**, τα **έντερα** από το δωδεκαδάκτυλο έως το ορθό και το μεσεντέριο αφαιρούνται από όλα ζώα, οποιασδήποτε ηλικίας.

Η απομάκρυνση των υλικών υψηλού κινδύνου είναι το πιο αποτελεσματικό μέτρο προφύλαξης και διεθνώς αναγνωρισμένο και αφορά την δημόσια υγεία για την αποφυγή μετάδοσης της ΣΕΒ, (ΥΠΑΑΤ, 2009).

## 5.2. Η ΤΡΟΜΩΔΗΣ ΝΟΣΟΣ (SCRAPIE)

### 5.2.1 Εισαγωγικά στοιχεία

Η τρομώδης νόσος ή scrapie ανήκει στην ομάδα των Μεταδοτικών Σπογγωδών Εγκεφαλοπαθειών (ΜΣΕ) ή Prion νόσοι, που τα κοινά χαρακτηριστικά τους είναι η προσβολή του ΚΝΣ. Η **κλασική τρομώδης νόσος (CS-classical scrapie)** είναι από τις παλαιότερες μεταδοτικές σπογγώδης εγκεφαλοπάθειες (ΜΣΕ) στα ζώα που προσβάλλει που είναι τα **πρόβατα** και τις **αίγες**. Χρησιμοποιήθηκε ως πρότυπο μοντέλο για τη μελέτη της παθογένειας των διάφορων νευροπαθολογικών μεταβολών που παρατηρήθηκαν στις ΜΣΕ. Το 1998 μια διαφορετική μορφή τρομώδους νόσου που εντοπίστηκε στη Νορβηγία, ονομάστηκε **Nor98 ή άτυπη τρομώδης νόσος (AS-atypical scrapie)**. Οι δύο μορφές της τρομώδους νόσου διαφέρουν ως προς την επιδημιολογία, τους παθολογικούς γενότυπους της PRNP, την κλινική εικόνα και το προφίλ των αλλοιώσεων (κλινοπαθολογικοί φαινότυποι), τον τύπο και την κατανομή της PrP<sup>Sc</sup> με τα πρότυπα γλυκοζυλίωσης στην western blot, (Orge L., et al., 2021).



Η άτυπη τρομώδης νόσος έχει αναγνωριστεί σε όλη την Ευρώπη, κυρίως μέσω ενεργής επιτήρησης ασυμπτωματικών προβάτων. Τα πρώτα στοιχεία για την άτυπη τρομώδη νόσο στα πρόβατα χρονολογούνται από το 1972. Η άτυπη τρομώδης νόσος εμφανίζεται συνήθως σε μεγάλης ηλικίας πρόβατα με γονότυπους Prnp (ARR/ARR) που θεωρούνται ανθεκτικοί στην κλασική τρομώδη νόσο. Και οι δύο μορφές της κλασικής και της άτυπης τρομώδους νόσου μπορεί να ανευρεθούν στο ίδιο μολυσμένο ζώο. Έτσι υπάρχει η πιθανότητα να περιλαμβάνονται όλα τα μείγματα των στελεχών και όχι ένα μεμονωμένο στέλεχος όταν υφίστανται μολύνσεις από ΜΣΕ, (Mathiason C.K., 2017). Μέχρι σήμερα, δεν υπάρχουν επιστημονικές αποδείξεις ότι η scrapie των προβάτων μεταδίδεται άμεσα στον άνθρωπο, μέσω των prions, από την κατανάλωση μολυσμένου ιστού τους.. Αντίθετα έμμεσα μπορεί να είναι μεταδοτική στον άνθρωπο, μόνο και εφόσον καταναλώσει μολυσμένους ιστούς από βοοειδή με ΣΕΒ που έχουν μολυνθεί από πρόβατα μολυσμένα με ΜΣΕ. Η scrapie έχει μεγάλο χρόνο επώασης και το τυπικό παθολογοανατομικό εύρημά της είναι η κενοτοπίωση των νευρώνων (σπογγώδης όψη) και η αντιδραστική αστροκύττωση του Κ.Ν.Σ. και όλες έχουν θανατηφόρα κατάληξη, (ΥΠΑΑΤ, 2013).

### 5.2.2 Μετάδοση και παθογένεια στα πρόβατα και τις αίγες

Στα πρόβατα, πηγή μόλυνσης αποτελούν οι εμβρυϊκοί υμένες και ο πλακούντας. Πιστεύεται ότι η μόλυνση μεταδίδεται κατά την περίοδο των τοκετών μέχρι τον απογαλακτισμό από τις μολυσμένες προβατίνες στα αρνιά, και γίνεται μέσω των εμβρυϊκών υγρών και του πλακούντα. Η νόσος μπορεί να μεταδοθεί στον ίδιο χώρο που τα ζώα έχουν επαφή μεταξύ τους και ειδικότερα όταν γίνονται οι τοκετοί σε περιορισμένους χώρους.

Η αρχική έκθεση στην τρομώδη νόσο γίνεται μέσω τους μητρικής/κάθετης μετάδοσης κατά την περίοδο τους εγκυμοσύνης και των τοκετών. Έτσι τα μολυσμένα ζώα (πρόβατα και αίγες) που είναι φορείς τους κλασικής τρομώδους νόσου, είναι υπεύθυνα για την εξάπλωση τους νόσου και μπορούν να την μεταδώσουν στον περιβάλλοντα χώρο μέσω του **αίματος**, του **πλακούντα**, του **αμνιακού υγρού**, του **σάλιου**, του **γάλακτος**, καθώς και του πρωτογάλακτος σε άλλα ζώα. Μια μελέτη έδειξε ότι κατά τη διάρκεια του κλινικού και του προκλινικού σταδίου τους νόσου, υπήρξε ενδομήτρια έκθεση του εμβρύου στην τρομώδη νόσο, (Mathiason C.K., 2017).

Επιπλέον έχει αποδειχθεί ότι ο παράγοντας τους τρομώδους νόσου παραμένει μολυσματικός ακόμη και μετά από χρόνια στο περιβάλλον. Κάποια δεδομένα έδειξαν ότι **η μολυσματικότητα στον περιβάλλοντα χώρο μπορεί να υπάρχει για χρόνια**. Κάποια πειραματικά αποτελέσματα από δείγμα που λήφθηκαν από τον περιβάλλοντα χώρο μιας εκτροφής, έδειξαν ότι η απελευθερωμένη PrP<sup>Sc</sup> στο περιβάλλον αυτό, μπορεί να δεσμευτεί με μεταλλικά στοιχεία του εδάφους και να καταποθούν αργότερα κατά την βόσκηση, (Fast C. And Groschup M.H., 2013).

Η φυσική οδός μόλυνσης είναι ο **γαστρεντερικός σωλήνας** και η μόλυνση στα υγιή ζώα γίνεται μέσω της κατάποσης ή της λήξης μολυσμένων υλικών στους χώρους του τοκετού. Όλα τα ζώα μιας εκτροφής είναι εκτεθειμένα στον μολυσματικό παράγοντα, αλλά τα νεογέννητα είναι πιο επιρρεπή στη μόλυνση λόγω υψηλής απορροφητικότητας του γαστρεντερικού τους συστήματος, ενώ τα ενήλικα είναι λιγότερο επιρρεπή. Παρόλο που η Τρομώδης νόσος είναι μολυσματική ασθένεια η μεταδοτικότητα της

είναι χαμηλή. Ο χρόνος επώασης είναι πάντα μεγαλύτερος του έτους και κάποιες φορές ξεπερνάει την παραγωγική διάρκεια της ζωής των ζώων. Τους περισσότερες περιπτώσεις, η νόσος εμφανίζεται σε ζώα ηλικίας 2 έως 5 ετών. Μια άλλη πηγή μόλυνσης τους, είναι ζώα που βρίσκονται στο στάδιο της επώασης της νόσου και αυτά που δεν εμφανίζουν κλινικά συμπτώματα, (Mathiason C.K., 2017, ΥΠΑΑΤ, 2013).

### 5.2.3 Κατανομή της τρομώδους νόσου σε ιστούς προβάτων

Στη φυσική επίκτητη τρομώδη νόσο σύμφωνα με τα στοιχεία, η κύρια οδός εισόδου του μολυσματικού παράγοντα είναι μέσω των **λεμφικού συστήματος** που σχετίζεται με το **έντερο** (GALTs- gut-associated lymphoid tissues). Στην συνέχεια ακολουθεί η **εξάπλωση** του στο κεντρικό νευρικό σύστημα με κεντρομόλα μεταφορά κατά μήκος του περιφερικού νευρικού συστήματος. Πολλά στοιχεία αποδεικνύουν ότι κατά τη λοίμωξη της τρομώδους νόσου, οι μολυσματικές ριγιον ανεβαίνουν από το έντερο στον θωρακικό νωτιαίο μυελό και στον προμήκη μυελό κατά μήκος των σπλαχνικών και πνευμονογαστρικών νεύρων. Από αυτές τους περιοχές αρχικά η μόλυνση διαδίδεται από το κρανίο μέχρι την ουρά μέσα στο ΚΝΣ, ακολουθεί η φυγόκεντρη εξάπλωση στα αισθητήρια γάγγλια του πνευμονογαστρικού και σπλαχνικού κυκλώματος. Στην συνέχεια η φυγόκεντρη μεταφορά από τον εγκέφαλο τους περιφερικούς ιστούς φαίνεται να γίνεται κατά μήκος του περιφερικού νευρικού συστήματος (ΠΝΣ). Το λεμφικό σύστημα παίζει σημαντικό ρόλο στη διάδοση του παράγοντα ριγιον και έχει αποδειχθεί ότι η PrP<sup>Sc</sup> μολύνει τους περιφερειακούς ιστούς, τον πλακούντα, τους σκελετικούς μύες, το πάγκρεας, τους νεφρούς, το ήπαρ, τα επινεφρίδια, την καρδιά, την ουροδόχο κύστη, τους πνεύμονες, τους μαστικούς αδένες και το δέρμα. Αυτές τους οι διαδρομές δείχνουν ότι ο μολυσματικός παράγοντας μπορεί να πολλαπλασιαστεί σχεδόν σε όλα τα περιφερειακά όργανα. Η κατανομή του παράγοντα τους τρομώδους νόσου στους ιστούς μπορεί να επηρεαστεί από διάφορους παράγοντες: **τους γενετικούς, τη δόση και το στέλεχος** του ξενιστή. Για παράδειγμα πρόβατα που επιλέγονται με ανθεκτικούς γονότυπους Prnp (Κατηγορίας NSP Type 1 & NSP Type 2, αναλυτική αναφορά στο Κεφ. 5.2.5 και Πίνακα 9), αναπτύσσουν φυσική τρομώδη νόσο με μεγαλύτερες περιόδους επώασης και λιγότερη ή ποικίλη διάδοση των PrP<sup>Sc</sup> στο ΚΝΣ και τους ιστούς του ΠΝΣ, ενώ σε αυτά που έχουν ευαίσθητους γονότυπους συμβαίνει το αντίθετο, (Κατηγορίας NSP Type 3, 4 & 5, αναλυτική αναφορά στο Κεφ. 5.2.5 και Πίνακες 9 & 10), (Mathiason C.K., 2017).

### 5.2.4 Συμπτώματα της νόσου στα πρόβατα και αίγες

Τα κλινικά συμπτώματα τους νόσου σπάνια εμφανίζονται σε μικρές ηλικίες (κάτω του έτους) και έχουν μεγάλη ποικιλομορφία. Επειδή τα ζώα δεν έχουν τυπικά συμπτώματα της νόσου, υπάρχει καθυστέρηση στη διάγνωση. Σε αρκετές περιπτώσεις η διάρκεια παραγωγικής ζωής των ζώων είναι τόσο μικρή, που δεν προλαβαίνουν να εμφανίσουν κλινικά συμπτώματα.

Η κλασική και η άτυπη τρομώδης νόσος διακρίνονται μετά από προσεκτική παρατήρηση με διαφορετικά ειδικά κλινικά συμπτώματα. Στα ειδικά κλινικά συμπτώματα της κλασικής μορφής παρατηρούμε την καμπυλωτή στάση, την διαταραχή των κινήσεων των άκρων (αταξία πίσω άκρου ή πρόσθιου άκρου),

γρατσουνιές και απώλεια μαλλιού. Η κλασική τρομώδης νόσος ανεξαρτήτως φύλου, εμφανίζεται στα πρόβατα σε ηλικία μεταξύ 2 και 5 ετών και στις αίγες σε ηλικία μεγαλύτερη των 6 ετών. Στα ειδικά κλινικά συμπτώματα τους άτυπης μορφής παρατηρείται η κανονική στάση του ζώου, περιστροφικές κινήσεις, χωρίς γρατσουνιές, αταξία, με τρόπο τους κεφαλής και καμία απώλεια μαλλιού, (Mathiason C.K., 2017). Τα γενικά κλινικά συμπτώματα ποικίλουν, τους η απώλεια βάρους με ή χωρίς τρόπο και απώλεια συντονισμού των κινήσεων. Τα **κύρια συμπτώματα** είναι:

- **Αλλαγές στη συμπεριφορά των ζώων.** Τα ζώα μπορεί να είναι νευρικά και να τρομάζουν εύκολα τους ξαφνικούς θορύβους ή ακόμα και στην παρουσία του κτηνοτρόφου. Κάποια ζώα χαρακτηρίζονται από απάθεια, μειωμένη αντίδραση στο περιβάλλον, απροθυμία ανέγερσης και τρίξιμο δοντιών. Τα προσβεβλημένα ζώα δεν μπορούν να ακολουθήσουν το κοπάδι τους μετακινήσεις του. Η εκδήλωση της ασθένειας προκαλεί στο ζώο κνησμό και προσπαθεί να ανακουφιστεί ξύνοντας τη περιοχή της οσφύς με τα δόντια και τη περιοχή του τραχήλου (σβέρκο) με τα πίσω πόδια, καθώς και πάνω σε αντικείμενα του στάβλου (λόγω του έντονου ξυσίματος προέρχεται και ο όρος *scrapie*). Το αποτέλεσμα είναι η απώλεια του μαλλιού τους στις περιοχές αυτές του σώματος.
- **Αλλαγές στη στάση και τη βάδιση.** Τα προσβεβλημένα ζώα αποκτούν παράξενη στάση σώματος και δυσκολία ανέγερσης (αδυναμία να σταθούν στα πίσω πόδια), απώλεια συντονισμού των κινήσεων τους ανυψώνοντας υπερβολικά τα πόδια τους σαν άλογο που καλπάζει. Το τρεμούλιασμα τους κεφαλής είναι συχνό στα ασθενή ζώα (προέλευση της ονομασίας τρομώδης νόσος).
- **Αλλαγές στη θρεπτική κατάσταση** του ζώου, τα οποία παρουσιάζουν σταδιακή μείωση του σωματικού τους βάρους και καταλήγουν μέσα σε ένα διάστημα 1- 6 μηνών. Η νοσηρότητα σε μία εκτροφή κυμαίνεται από 2% έως 10% ή και περισσότερο, (ΥΠΙΑΑΤ, 2013).



*Εικόνα 19: Α) Πρόβατο με απώλεια μαλλιού, Β) Πρόβατο με αστάθεια στα πίσω άκρα, (ΥΠΙΑΑΤ, 2013).*

### 5.2.5 Γενετική επίδραση

Η Scrapie ως λοιμώδης νόσος καθορίζεται από γενετικούς παράγοντες. Έχει αποδειχτεί με πειράματα ότι υπάρχουν διαφορετικές μορφές της πρωτεΐνης prion

(πολυμορφισμοί του γονιδίου prnp της πρωτεΐνης prion, κατ' επέκταση και μετάφραση πολλών μορφών της πρωτεΐνης). Μερικές από αυτές είναι πιο ευαίσθητες στην μετατροπή της δομής από την φυσιολογική στην παθολογική ισομορφή, ενώ άλλες είναι ιδιαίτερα ανθεκτικές. Η πρωτεΐνη prion αποτελείται από 256 αμινοξέα ενώ τα τέσσερα σημαντικά κωδικόνια είναι στις θέσεις 171, 154, 136, 141. Έτσι έχουμε την παρουσία του αμινοξέος Αργινίνη (R) στο κωδικόνιο 171 της πρωτεΐνης prion που υποδηλώνει ανθεκτικότητα, ενώ η παρουσία των αμινοξέων γλουταμίνη (Q) και ιστιδίνη (H) στο ίδιο κωδικόνιο έχει ως αποτέλεσμα την υψηλή ευαισθησία στη νόσο. Η παρουσία του αμινοξέος βαλίνη (V) στο κωδικόνιο 136 μπορεί να έχει ως αποτέλεσμα την υψηλή ευαισθησία σε δομικές αλλαγές της πρωτεΐνης prion. Στον παρακάτω πίνακα φαίνονται τα διάφορα αμινοξέα που έχουν ανιχνευθεί στα κωδικόνια 136, 154, 171.

Κωδικόνιο	Αμινοξύ	Κωδικός Αμινοξέος
136	Βαλίνη	V <sub>136</sub>
	Αλανίνη	A <sub>136</sub>
154	Αργινίνη	R <sub>154</sub>
	Ιστιδίνη	H <sub>154</sub>
171	Αργινίνη	R <sub>171</sub>
	Ιστιδίνη	I <sub>171</sub>
	Γλουταμίνη	Q <sub>171</sub>

**Πίνακας 9:** Τα διάφορα αμινοξέα που υπάρχουν στα αντίστοιχα κωδικόνια για την κατασκευή της πρωτεΐνης, (ΥΠΑΑΤ, 2013).

Μεταγενέστερες μελέτες αναφέρουν ότι ο γονότυπος του εμβρύου επηρεάζει την μετανάστευση και συσσώρευση της παθολογικής ισομορφής της πρωτεΐνης prion στον πλακούντα της μολυσμένης προβατίνας. Όταν μια προβατίνα που έχει γονότυπο QQ (171) και κυοφορεί ένα έμβρυο που έχει γονότυπο QQ (171), συσσωρεύει μεγάλο όγκο της παθολογικής ισομορφής της prion πρωτεΐνης στον πλακούντα. Αυτό έχει σαν αποτέλεσμα να αποβάλλονται μεγάλες ποσότητες της prion πρωτεΐνης κατά τον τοκετό και έτσι μολύνεται ο περιβάλλον χώρος. Τα έμβρυα που έχουν γονότυπο RR (171) ή QR (171), η πρωτεΐνη Prion δεν συσσωρεύεται σε τόσο μεγάλο βαθμό στον πλακούντα και τα εμβρυικά υγρά. Αυτό σημαίνει ότι η χρήση κριαριού που έχει γονότυπο RR (171) προφυλάσσει στο να μην αποβληθεί η παθολογική ισομορφή της Prion πρωτεΐνης από την προβατίνα κατά τον τοκετό.

Η αποκλειστική χρήση κριαριών με τον παραπάνω γονότυπο, δημιουργεί σε πολλούς ερευνητές την ανησυχία ότι επηρεάζονται και άλλα χαρακτηριστικά, όπως η απόδοση σε κρέας, η ποιότητα του σφαγίου των παραγομένων αρνιών καθώς και η ποσότητα στην παραγωγή γάλακτος ανάλογα με την φυλή των ζώων. Είναι ένας προβληματισμός των ερευνητών, κατά πόσο θα μπορούσαν να συνδυάσουν την γενετική επιλογή όσον αφορά την ανθεκτικότητα στην Τρομώδη Νόσο ταυτόχρονα με τα άλλα παραγωγικά χαρακτηριστικά των γεννητόρων, (Argyriadou A., et al., 2020, ΥΠΑΑΤ, 2013).

Η τρομώδης νόσος στις **αίγες** έχει μελετηθεί λιγότερο. Ένας αριθμός πολυμορφισμών φαίνεται να σχετίζεται με την ευαισθησία και την αντοχή στην τρομώδη νόσο των

αιγών. Αν και κανένα δεν προσφέρει πλήρη ευαισθησία ή ανοχή, ο γονότυπος K222, 146S/D και 211Q στο γονίδιο PRNP έχουν συσχετιστεί με την ενίσχυση της ανοχής στις ασθένειες prion και προτιμώνται στα προγράμματα επιλεκτικής αναπαραγωγής στις αίγες, (Argyriadou A., et al., 2020, Mathiason C.K., 2017).

Στον παρακάτω πίνακα φαίνεται η ταξινόμηση των γονότυπων του γονιδίου PRNP της prion πρωτεΐνης του προβάτου σύμφωνα με το Εθνικό Πρόγραμμα Ελέγχου της Τρομάδους Νόσου του Ηνωμένου Βασιλείου εφαρμόζεται και στην Ευρωπαϊκή Ένωση, καθώς και παγκοσμίως, (EFSA, 2022, ΥΠΑΑΤ, 2013).

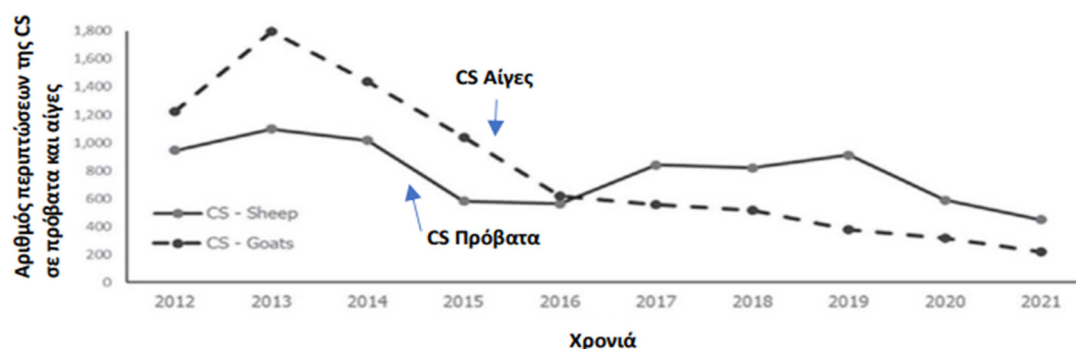
Γονοτυπική κατάταξη	Γονότυπος	Βαθμός ανθεκτικότητας/ ευαισθησίας
Κατηγορία NSP Type 1	ARR/ARR	Πρόβατα γενετικά ανθεκτικά στη Scrapie
Κατηγορία NSP Type 2	ARR/AHQ ARR/ARH ARR/ARQ	Πρόβατα γενετικά ανθεκτικά στη Scrapie. Τα θηλυκά δεν απομακρύνονται και ζευγαρώνουν με κριάρια (NSP 1 για απόκτηση απογόνων ανθεκτικών γονοτύπων).
Κατηγορία NSP Type 3 ARQ/ARQ =====	ARQ/ARQ =====	Πρόβατα γενετικά με ελάχιστη ανθεκτικότητα στη Scrapie . Πρέπει να απομακρύνονται σε ένα πρόγραμμα επιλογής ζώων αναπαραγωγής
ΑΛΛΟΙ	ARH/ARQ AHQ/AHQ AHQ/ARH AHQ/ARQ ARH/ARH	
Κατηγορία NSP Type 4	ARR/VRQ	Πρόβατα γενετικά ευαίσθητα στη Scrapie. Πρέπει να απομακρύνονται σε ένα πρόγραμμα επιλογής ζώων αναπαραγωγής, αλλά κατ' εξαίρεση και με πολύ προσοχή μπορούν να χρησιμοποιηθούν <u>μόνο</u> σε ένα αναπαραγωγικό πρόγραμμα <u>σπανίων φυλών</u> .
Κατηγορία NSP Type 5	VRQ/VRQ VRQ/ARQ VRQ/ARH VRQ/AHQ	Πρόβατα γενετικά πολύ ευαίσθητα στη Scrapie και πρέπει να θανατώνονται.

**Πίνακας 10:** Γονοτυπική κατάταξη σύμφωνα με το Εθνικό Πρόγραμμα Ελέγχου της Τρομάδους Νόσου του Ηνωμένου Βασιλείου (NSP- National Scrapie Plan) και τις τρεις βαθμίδες των ομάδων αναφοράς, (EFSA, 2022, ΥΠΑΑΤ, 2013).

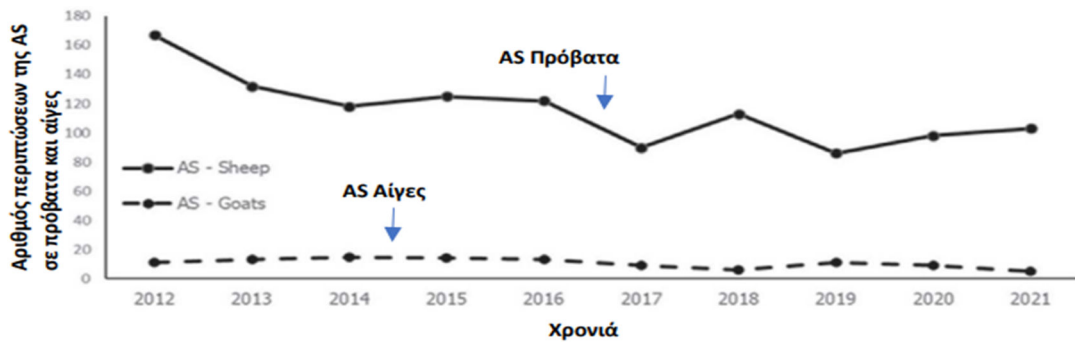
## 5.2.6 Επιδημιολογία

Με την εφαρμογή προγραμμάτων ενεργητικής επιτήρησης των ΜΣΕ για τα αιγοπρόβατα στην ΕΕ το 2003, ελήφθησαν για πρώτη φορά επιδημιολογικά δεδομένα. Έτσι η διάδοση της κλασικής και της άτυπης τρομώδους νόσου έδειξαν διάφορα πρότυπα με αποτέλεσμα να υπάρξει πολύ μεγάλη διαφοροποίηση στην κλασική τρομώδη νόσο σε αντίθεση με την άτυπη μορφή, (Fast C. and Groschup M.H., 2013). Στην εικόνα 20, παρουσιάζεται σε αριθμούς η εξέλιξη των κρουσμάτων που σχετίζονται με την τρομώδη νόσο στα τελευταία 10 χρόνια που ανιχνεύθηκαν στην ΕΕ των 27 και του Ηνωμένου Βασιλείου. Τα κρούσματα παρουσιάζονται για κάθε είδος και τύπο περίπτωσης. Όταν οι έλεγχοι φτάσανε στην κορύφωση τους το 2006 στην ΕΕ για την κλασική μορφή (CS) της τρομώδους νόσου στα πρόβατα, αναφέρθηκαν 3.142 κρούσματα. Τα κρούσματα της μειώθηκαν σε 1.416 το 2011 και σε 554 το 2016. Μια αύξηση παρατηρήθηκε το 2017 με 839 κρούσματα σε CS, καθώς επίσης παρατηρήθηκε και μια παρόμοια αύξηση το 2018 με 820 κρούσματα σε πρόβατα. Νέα αύξηση με 911 κρούσματα παρατηρήθηκε το 2019, κυρίως σε κοπάδια στην Ελλάδα, την Ιταλία και την Ισπανία. Μείωση σε 589 κρούσματα της CS αναφέρθηκε στην ΕΕ των 27 και στο Ηνωμένο Βασίλειο το 2020, κυρίως ως αποτέλεσμα της μείωσης των κρουσμάτων στην Ελλάδα, την Ισπανία, την Ιταλία και τη Ρουμανία. Μια περαιτέρω μείωση είναι σαφής το 2021 σε 448 περιπτώσεις, κυρίως λόγω του χαμηλότερου αριθμού κρουσμάτων CS στην Ελλάδα (-58%), τη Ρουμανία (-34,6%) και την Ισπανία (-24,6%). Αυτά τα ποσοστά είναι πιθανό να σχετίζονται με τη μείωση των ελέγχων σε κοπάδια που ήταν μολυσμένα με ΜΣΕ, λόγω του μικρότερου αριθμού κοπαδιών τα οποία ήταν σε καθεστώς ελέγχων όταν μπήκαν υπό περιορισμό και υπήρχε εντατική επιτήρηση τους (Πρόγραμμα ενεργητικής και παθητικής επιτήρησης των ΜΣΕ των μικρών μηρυκαστικών, που μπαίνουν σε Ειδικό καθεστώς τα κοπάδια/μονάδες παραγωγών για να ελέγχονται για την scrapie. Τα μολυσμένα ενήλικα θανατώνονται ή μετά από γονοτύπηση των αρνιών ηλικίας 1-3 μηνών που είναι κατηγορίας 3-5 πάνε για υποχρεωτική σφαγή ή θανατώνονται, παρατηρήσεις στον πίνακα 10). Έτσι φάνηκε ότι υπήρξε μείωση του αριθμού των κρουσμάτων στην Ελλάδα, με 14 λιγότερα πρωτογενή κρούσματα το 2021. Στις αίγες παρατηρήθηκε μια φθίνουσα τάση στον απόλυτο αριθμό κρουσμάτων CS και συνεχίστηκε το 2021, (EFSA, 2022).

(α) Κλασική τρομώδης νόσος

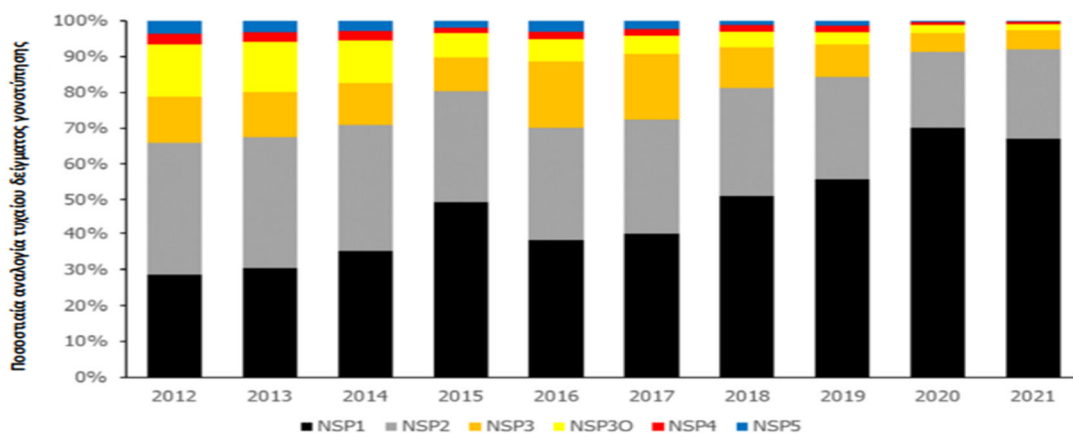


(β) Άτυπη τρομώδης νόσος



**Εικόνα 20:** Αριθμός των αναφερόμενων κρουσμάτων της τρομώδους νόσου σε αιγοπρόβατα στην ΕΕ και στο ΗΒ ανά τύπο κρούσματος την περίοδο 2012–2021 στις τρομώδεις νόσους (α) Κλασική μορφή (CS) και (β) Άτυπη μορφή (AS), (EFSA, 2022).

Λαμβάνοντας υπόψη, τα τελευταία 10 χρόνια, τα στοιχεία μιας τυχαίας γονοτύπησης στην ΕΕ (εξαιρουμένης της Κύπρου), το ποσοστό των προβάτων στην ομάδα του ανθεκτικού γονότυπου (NSP1 κατηγορίας 1, μαύρο χρώμα στις ράβδους της Εικόνας 21) μετατοπίστηκε από 28,6% του συνολικού αριθμού των προβάτων το 2011 (στα οποία συνεισέφεραν 23 Κράτη Μέλη) σε 66,8% το 2021 (στο οποίο συνεισέφεραν οκτώ Κράτη Μέλη), (EFSA, 2022).



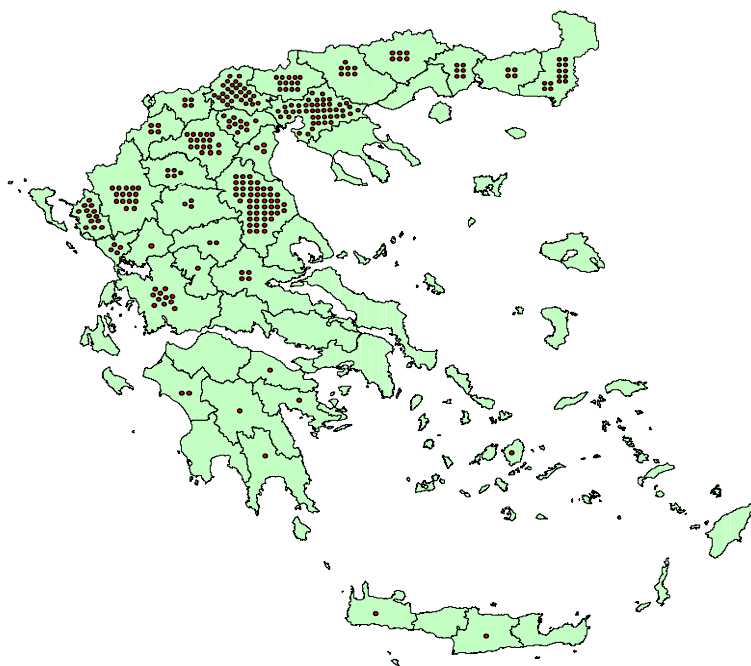
**Εικόνα 21:** Κατανομή συχνότητας των έξι ομάδων γονότυπου του Εθνικού Σχεδίου για την Τρομώδη νόσο (NSP) σε πρόβατα που λήφθηκαν τυχαία δείγματα γονότυπου στην ΕΕ την περίοδο 2012–2021 σύμφωνα με τον Κανονισμό (ΕΚ) 999/2001, Παράρτημα III, Κεφάλαιο Α, Μέρος II, σημείο 8 έως τέλος του 2017 και Παράρτημα VII, στο Κεφάλαιο Γ, στο Μέρος I, σημείο 8 από το 2018, (EFSA, 2022).

Στην Ελλάδα ο πληθυσμός των προβάτων ανέρχεται περίπου στα 9,5 εκατομμύρια, λίγα είναι γνωστά σχετικά με την κατανομή των αλληλόμορφων PrP σε υγιή διασταυρωμένα πρόβατα. Η τρομώδης νόσος διαγνώστηκε για πρώτη φορά το 1986, όπου βρέθηκαν ορισμένοι πολυμορφισμοί σε υγιή πρόβατα και σε πρόβατα που έχουν προσβληθεί από την τρομώδη νόσο. Επίσης σε άλλη μελέτη την περίοδο 2003–2005 έχουν περιγράψει τα αλληλόμορφα και τις διάφορες συχνότητες του γονότυπου των υγιών προβάτων από 13 σπάνιες φυλές. Επίσης από τα υγιή και τα προσβεβλημένα



από τρομώδη νόσο πρόβατα, κυριαρχούσε ο γονότυπος ARQ/ARQ στις τρεις ομάδες των προβάτων που ελέγχθηκαν. Η Ελλάδα είναι η χώρα της ΕΕ με τη δεύτερη υψηλότερη συχνότητα των θετικών κρουσμάτων στην τρομώδη νόσο μετά την Κύπρο, (Boukouvala E., et al., 2018).

Από το 2008 μέχρι και το 2012, στη χώρα μας εντοπίστηκαν περίπου 300 θετικά κοπάδια με Τρομώδη Νόσο, μέσα από το πρόγραμμα ενεργητικής και παθητικής επιτήρησης των ΜΣΕ των μικρών μηρυκαστικών. Η γεωγραφική κατανομή των θετικών ως προς την Τρομώδη Νόσο εκτροφών κατά την περίοδο 2008-2012 φαίνεται στον ακόλουθο χάρτη (Εικόνα 22). Μέχρι και σήμερα τα κρούσματα παραμένουν περίπου στα ίδια επίπεδα, (ΥΠΑΑΤ, 2013).

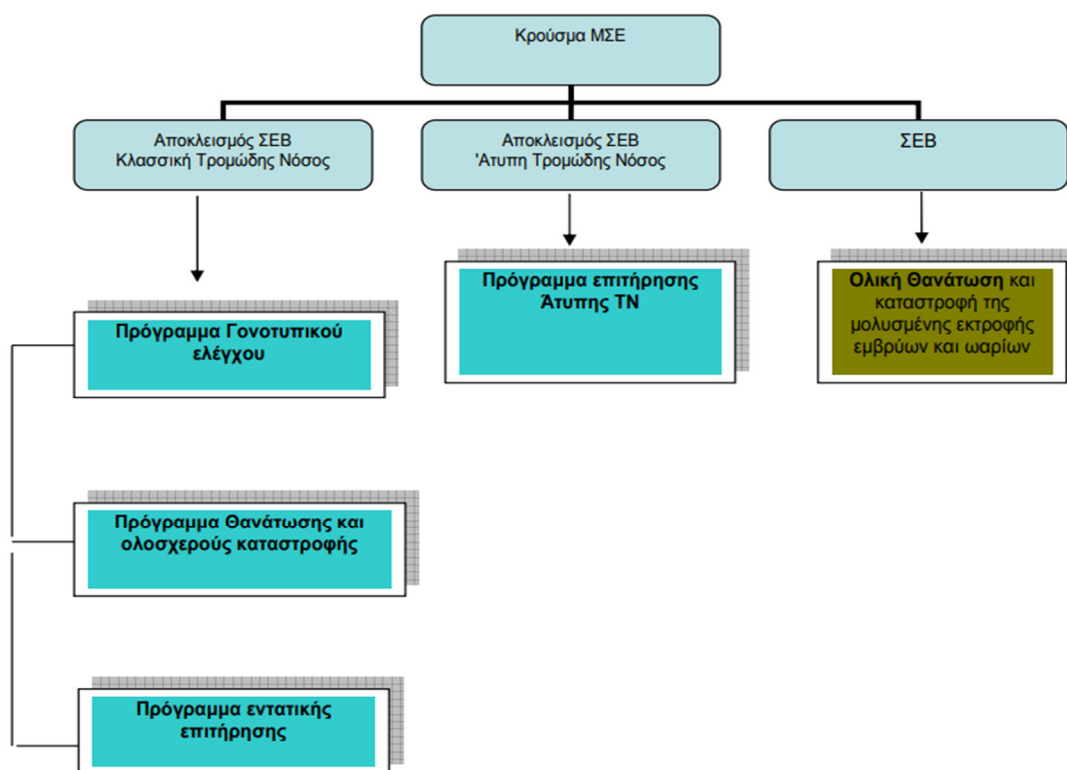


*Εικόνα 22: Γεωγραφική κατανομή των θετικών ως προς την Τρομώδη Νόσο εκτροφών, (ΥΠΑΑΤ, 2013).*

Στην Ελλάδα εφαρμόζεται το σύστημα επιτήρησης ΜΣΕ των μικρών Μηρυκαστικών (Πρόγραμμα Επιτήρησης, Ελέγχου και Εξάλειψης των Μεταδοτικών Σπογγιόμορφων Εγκεφαλοπαθειών, Κανονισμούς (ΕΚ) αρ. 999/2001, (ΕΚ) αρ. 163/2009, (ΕΚ) αρ. 220/2009 της Ευρωπαϊκής Ένωσης). Στο πρόγραμμα περιλαμβάνεται η ενεργητική επιτήρηση (έλεγχος των υγιών ζώων, που προορίζονται για ανθρώπινη κατανάλωση ή νεκρών ζώων, ανεξάρτητα από την αιτία θανάτου) και η παθητική επιτήρηση (δήλωση όλων των ζώων για τα οποία υπάρχει υποψία ότι έχουν προσβληθεί από ΜΣΕ). Επίσης μέσα σε αυτό το σύστημα εφαρμόζεται και το προγράμματα αναπαραγωγής (σύμφωνα με την Ευρωπαϊκή οδηγία) για την αύξηση της γενετικής αντοχής (πρόγραμμα γονοτυπικού ελέγχου). Στα πλαίσια αυτού του προγράμματος αυξημένης επιτήρησης για την πρόληψη, καταπολέμηση και εξάλειψη των μεταδοτικών σπογγιόμορφων εγκεφαλοπαθειών, διενεργείται επιδημιολογική έρευνα για το γενετικό προσδιορισμό των προβάτων σε εκτροφές με κρούσματα τρομώδους νόσου. Μετά την έκδοση των αποτελεσμάτων του γονοτυπικού ελέγχου, θανατώνονται και καταστρέφονται με αποτέφρωση όλα τα πρόβατα με γονοτύπους



(κατηγορίες 4 και 5, αναφορά Πίνακας 10) που έχουν συσχετιστεί με υψηλή ευαισθησία στη νόσο. Ταυτόχρονα, διατηρούνται για παραγωγή και αναπαραγωγή τα πρόβατα με πολύ ανθεκτικό γονότυπο (κατηγορίες 1 και 2, αναφορά Πίνακας 10). Τα υπόλοιπα πρόβατα, που ανήκουν σε ενδιάμεσες κατηγορίες ευαισθησίας (κατηγορία 3, αναφορά Πίνακας 9), μπορούν να διατηρηθούν για αναπαραγωγή στην εκτροφή το πολύ για πέντε χρόνια ή σε περίπτωση που δίνεται γάλα για ανθρώπινη κατανάλωση το πολύ για 18 μήνες και μετά θανατώνονται και καταστρέφονται με αποτέφρωση. Το τελευταίο εφαρμόζεται και στην περίπτωση των εκτροφών αιγών, στις οποίες διαπιστώνονται κρούσματα τρομώδους νόσου. Για ανθρώπινη κατανάλωση μπορεί να δοθεί μόνο το κρέας προβάτων κατηγορίας 1 και 2, με την προϋπόθεση ότι ο εργαστηριακός έλεγχος για την τρομώδη νόσο είναι αρνητικός (Κανονισμοί: 999/2001, 189/2011), (Εικόνα 23), (ΥΠΑΑΤ, 2021, ΥΠΑΑΤ, 2013).



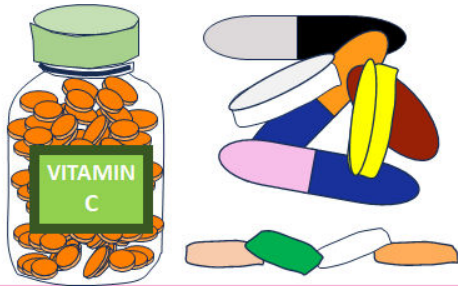
**Εικόνα 23:** Σχηματική παρουσίαση μέτρων που προβλέπονται από την τρέχουσα νομοθεσία για τις ΜΣΕ στα μικρά μηρυκαστικά, (ΥΠΑΑΤ, 2013).

Η εφαρμογή των προγραμμάτων αυτών συνοδεύτηκε με αυξημένη ανησυχία για την πιθανή αρνητική επίδραση της επιλογής για την αύξηση του ανθεκτικού γονότυπου σε παραγωγικά χαρακτηριστικά των προβάτων με οικονομική σημασία. Έτσι, διερευνάται η επίδραση των γονοτύπων του γονιδίου PRNP στην γαλακτοπαραγωγή, στην κρεοπαραγωγή, στην εριοπαραγωγή και στην αναπαραγωγική ικανότητα, αλλά και στην ανθεκτικότητα των ζώων στις μολύνσεις από γαστρεντερικά νηματώδη παράσιτα και στην μόλυνση από *Salmonella* spp. Σύμφωνα με τα αποτελέσματα μιας μελέτης που έγινε σε πρόβατα της φυλής Χίου, είναι δυνατή η εφαρμογή ενός προγράμματος γενετικής επιλογής για την αύξηση της ανθεκτικότητας στην τρομώδη νόσο, χωρίς να επηρεαστούν τα παραγωγικά και αναπαραγωγικά χαρακτηριστικά τους, (Argyriadiou A., et al., 2020).

### 5.2.7 Σχέση με τη Δημόσια Υγεία

Πρόσφατες επιδημιολογικές μελέτες υποστηρίζουν ότι δεν υπάρχει ο φόβος, ώστε η τρομώδης νόσος των προβάτων να μεταδοθεί σε ανθρώπους. Καθώς μέχρι και τώρα δεν υπάρχουν στοιχεία αυξημένου κινδύνου για τον ανθρώπινο πληθυσμό. Υπάρχουν πολλά αντικρουόμενα αποτελέσματα σε διάφορες πειραματικές μελέτες ως προς το ενδεχόμενο για ζωνοσογόνο κίνδυνο της τρομώδους νόσου. Ορισμένες μελέτες απέτυχαν να αποδείξουν με πειράματα, στην προσπάθεια τους να μεταδώσουν την τρομώδη νόσο σε πρωτεύοντα (μακάκους) και σε διαγονιδιακά ποντίκια που υπερέκφραζαν την ανθρώπινη πρωτεΐνη prion. Σε άλλες πειραματικές μελέτες, έγινε χρήση στελεχών της κλασικής και άτυπης μορφής της τρομώδους νόσου του προβάτου, σε μαϊμούδες της οικογένειας callithricidae, σε διαγονιδιακά ποντίκια ή σε μακάκους. Τα πιθανά αχνά θετικά αποτελέσματα δώσανε την αφορμή να ξαναμελετηθούν αυτές οι περιπτώσεις, αλλά υπό προϋποθέσεις. Οι μακάκοι που χρησιμοποιήθηκαν ως ένα εξαιρετικό μοντέλο για τη νόσο των ανθρώπινων prions, αποδείχθηκε ότι έχουν ευαισθησία στη μόλυνση από ένα στέλεχος της κλασικής μορφής της τρομώδους νόσου μετά από μια 10ετή επώαση (σιωπηλή φάση της νόσου). Όλα τα παραπάνω ευρήματα απαιτούν πρόσθετες μελέτες για την αξιολόγηση του κινδύνου των φυσικών στελεχών της τρομώδους νόσου, και την πιθανότητα να απειλούν την ανθρώπινη δημόσια υγεία, (Mathiason C.K., 2017).

Δεν υπάρχουν μέχρι στιγμής επαρκείς επιστημονικές ενδείξεις ότι άνθρωποι που χειρίζονται μολυσμένα ζώα ή καταναλώνουν το κρέας ή το γάλα από μολυσμένα ζώα να διατρέχουν κίνδυνο για μετάδοση της νόσου. Παρόλα αυτά η απομάκρυνση των υλικών ειδικού κινδύνου κρίνεται απαραίτητη (Κανονισμός (ΕΚ) αρ. 999/2001, 189/2011, ΥΠΑΑΤ, 2013). Τέτοια υλικά είναι: (α) το **κρανίο** συμπεριλαμβανομένου του **εγκεφάλου** και των **οφθαλμών**, οι **αμυγδαλές** και ο **νοτιαίος μυελός** ζώων ηλικίας άνω των 12 μηνών ή των οποίων δύο μόνιμοι κοπτήρες που έχουν ανατείλει από τα ούλα. (β) η **σπλήνα** και ο **ειλεός** ζώων οποιασδήποτε ηλικίας. Τα υλικά ειδικού κινδύνου αμέσως μετά την αφαίρεση τους, χειρίζονται ως απόβλητα σύμφωνα με τις διατάξεις του Κανονισμού (ΕΚ) αρ. 1069/2009, (ΥΠΑΑΤ, 2013).



## Κεφάλαιο 6

# ΘΕΡΑΠΕΥΤΙΚΕΣ ΠΡΟΣΕΓΓΙΣΕΙΣ

**6.1 Θεραπεία**

**6.2 Ερευνητικά Φάρμακα - Χημειοθεραπευτική Προσέγγιση**

**6.3 Ανοσοθεραπείες**

**6.4 Θεραπεία με Βλαστοκύτταρα**

**6.5 Σκέψεις**

## ΚΕΦΑΛΑΙΟ 6: ΘΕΡΑΠΕΥΤΙΚΕΣ ΠΡΟΣΕΓΓΙΣΕΙΣ

### 6.1 ΘΕΡΑΠΕΙΑ

Η θεραπεία για τις ασθένειες prion είναι μια πρόκληση για τους επιστήμονες που εργάζονται στον τομέα τα τελευταία 25 έτη. Αυτή η προσπάθεια διακρίνεται από αποτυχίες όσον αφορά σε κλινικές δοκιμές και προκλινικές έρευνες. Πράγματι, δεν υπάρχουν ακόμη θεραπείες ικανές να σταματήσουν ή τουλάχιστον να τροποποιήσουν αποτελεσματικά την πορεία των ανθρώπινων ασθενειών από Prion (PrDs- Prion Diseases). Οι ασθενείς με PrDs έχουν εξαιρετικά κακή πρόγνωση, και ο μέσος όρος των θανάτων υπολογίζεται εντός του ενός έτους από την έναρξη των συμπτωμάτων. Το πρόβλημα είναι πολύπλοκο και τα προβλήματα είναι σύνθετα που συνήθως δεν ανταποκρίνονται σε απλές λύσεις. Ευτυχώς το τοπίο των φαρμάκων και διάφορων άλλων μορφών θεραπείας έχει γίνει πιο ξεκάθαρο καθώς το ενδιαφέρον για την ανάπτυξη πιθανών θεραπειών για τις ασθένειες Prion έχει αυξηθεί σημαντικά την τελευταία δεκαετία.

Οι μελέτες για τις ασθένειες Prion που έχουν κοινά νευροεκφυλιστικά χαρακτηριστικά και με άλλες ασθένειες που σχετίζονται με τα αμυλοειδή, όπως η νόσος του Alzheimer (AD), η νόσος του Huntington (HD) και η νόσος του Parkinson (PD), άνοιξαν ένα κοινό μέτωπο όσον αφορά την θεραπεία τους.

### 6.2 ΕΡΕΥΝΗΤΙΚΑ ΦΑΡΜΑΚΑ - ΧΗΜΕΙΟΘΕΡΑΠΕΥΤΙΚΗ ΠΡΟΣΕΓΓΙΣΗ

Από το 1971, έχει χρησιμοποιηθεί πληθώρα φαρμάκων για θεραπευτική χρήση σε ανθρώπους με ασθένειες prion. Οι διάφορες τροποποιήσεις στις θεραπείες που έγιναν στον τομέα της έρευνας ποικίλουν με την πάροδο των ετών και έχουν επηρεαστεί σε μεγάλο βαθμό από τον διαρκή εμπλουτισμό της γνώσης στο πεδίο αυτών των ασθενειών. Ένα τεράστιος κατάλογος από ενώσεις έχουν δοκιμαστεί για την δράση τους κατά της prion πρωτεΐνης και όμως από αυτές που έχουν επίδραση *in vitro*, πολύ λίγες παρουσιάζουν επίδραση *in vivo*, ειδικά εάν χορηγηθούν στα τελευταία στάδια της νόσου. Αυτός ο κατάλογος των χημικών ενώσεων που έχουν ελεγχθεί και δοκιμαστεί *in vitro* και *in vivo* περιλαμβάνουν διάφορα σκευάσματα ή δραστικές ουσίες όπως τα αντιϊκά, τα ανθελονοσιακά, τα αντιμυκητιακά, οι τροποποιητές βιολογικής απόκρισης, τα αντικαταθλιπτικά, τα αντισπασμωδικά και τα αντιοξειδωτικά, τα οποία χρησιμοποιήθηκαν σε πρώιμα στάδια της νόσου ή ως προληπτικές θεραπείες ή ακόμη και σε μεταγενέστερα στάδια της νόσου (Πίνακας 11).

Σκευάσματα - Δραστικές ουσίες	In vitro	In vivo (αρχικό στάδιο)	In vivo (προχωρημένο στάδιο)	Σχόλια
<b>Θειωμένες γλυκάνες</b>				
Πολυθειική πεντοσάνη (PPS)	+	+	+	Μιμητικό ηπαρίνης. Αναστέλλει τον σχηματισμό PrP <sup>Sc</sup> στην κυτταρική καλλιέργεια, αλλά μπορεί να διεγείρει τη μετατροπή χωρίς κύτταρα. Η ενδοκοιλιακή έγχυση παρατείνει την επώαση σε ποντίκια. Το PPS + Fe-TSP έχει περισσότερα από αθροιστικά αποτελέσματα σε ζωικά μοντέλα. Χρησιμοποιείται σε ανθρώπους αλλά δεν παρατηρείται σημαντική αλλαγή στην παθολογία. (Sim V.L., 2012, Gandini A. and Bolognesi M.L., 2017, Chen C. and Dong X., 2021).
Θειωμένες κυκλοδεξτρίνες	+			Κάθαρση της PrP <sup>Sc</sup> σε κυτταρική καλλιέργεια. (Sim V.L., 2012)
Θειϊκή δεξτράνη	+	+	-	Παρατείνει την επώαση μετά τον ενδοκυτταρικό ενοφθαλμισμό εάν χορηγηθεί εντός 2 ωρών (χάμστερ). (Sim V.L., 2012)
Θειϊκή ηπαράνη και μιμητικά (HM2606, CR36)	+	+	-	Αναστέλλει το σχηματισμό PrP <sup>Sc</sup> στην κυτταρική καλλιέργεια, αλλά μπορεί να διεγείρει τη μετατροπή χωρίς κύτταρα. (Sim V.L., 2012)
Fucoidan	+	+		Μη τοξική. Στοματική χορήγηση. Εξαρτάται από το στέλεχος. (Sim V.L., 2012)
<b>Άλλα Πολυανιονικά</b>				
Φωσφοροθειϊκά ολιγονουκλεοτίδια	+	+		Προληπτικό σε ποντίκια, πιθανώς μέσω δέσμευσης αμινικού(N)-άκρου της PrP <sup>C</sup> . (Sim V.L., 2012).
Ετεροπολυανιονικά-23	+	+	-	(Sim V.L., 2012)
RNA απαμερή	+	-	-	(Sim V.L., 2012)
Coraxone	+	+	-	(Sim V.L., 2012)
<b>Σουλφονωμένες χρωστικές και παρόμοιες ενώσεις</b>				
Κόκκινο του Κονγκό	+	+	-	Μόνο μέτρια προληπτικά αποτελέσματα in vivo. Οι υποανασταλτικές συγκεντρώσεις διεγείρουν την PrP <sup>Sc</sup> σε μετατροπή χωρίς κύτταρα. Πιθανόν τερατογόνο ή/και καρκινογόνο. (Sim V.L., 2012, Chen C. and Dong X., 2021)
Σουραμίνη	+	+		Μόνο μέτρια προληπτικά αποτελέσματα in vivo. (Sim V.L., 2012)
Κουρκουμίνη	+	+	+	Χαμηλή αποτελεσματική δόση 100 dpi σε ενδοεγκεφαλικά εμβολιασμένα ποντίκια. (Sim V.L., 2012, Chen C. and Dong X., 2021)
<b>Αυτοσυναρμολογούμενα πεπτίδια Rada</b>				
Πεπτίδια RADA	+			Αυξάνουν την περίοδο επώασης όταν αναμιγνύονται με εμβόλια. (Sim V.L., 2012)
<b>Κυκλικές τετραπυρρόλες</b>				
PcTS, DPG <sub>2</sub> -Fe <sup>3+</sup> , TMPP-Fe <sup>3+</sup>	+	+	-	Η αντι-prion δραστηριότητά πιθανόν να οφείλεται στην αλληλεπίδραση με το N-άκρο της PrP. Αναστέλλουν τη συσσώρευση της PrP <sup>Sc</sup> in vitro και αυξάνουν σημαντικά

				τους χρόνους επιβίωσης in vivo όταν χορηγούνται χωρίς στη νόσο. (Sim V.L., 2012)
Fe (III)-TMPyP	+	+		Παρατεταμένος χρόνος επιβίωσης σε ενδοπεριτοναϊκή χορήγηση σε ποντίκια. (Sim V.L., 2012, Chen C. and Dong X., 2021)
In-TSP	+			(Sim V.L., 2012)
Fe-TAP, Fe-TSP	+	+	+	Fe-TSP & PPS έχουν περισσότερα από πρόσθετα αποτελέσματα in vivo. (Sim V.L., 2012)
<b>Τετρακυκλικές ενώσεις</b>				
Τετρακυκλίνη, δοξυκυκλίνη	+	+	+	Η Δοξυκυκλίνη (Αντιβιοτικό) χρησιμοποιείται σε δοκιμές με ανθρώπους. Μειώνει την αντίσταση της PrP <sup>Sc</sup> στην πρωτεΐνωση-K. Αναστέλλει τον σχηματισμό PrP <sup>Sc</sup> και αποσταθεροποιεί τα συσσωματώματα αμυλοειδούς. Επιμηκύνει την επιβίωση στους ασθενείς. (Sim V.L., 2012, Gandini A. and Bolognesi M.L., 2017, Chen C. and Dong X., 2021).
Δοξορουβικίνη	+			Παρατείνει την επώαση όταν αναμιγνύεται με εμβόλιο. (Sim V.L., 2012).
<b>Άλλες Ετεροκυκλικές Ενώσεις</b>				
Κινακρίνη	+	+	-	Ανθελονοσιακό. Διασχίζει τον αιματοεγκεφαλικό φραγμό. Αυξάνει την ποσότητα της PrP <sup>Sc</sup> στον σπλήνα. Αποτελέσματα δοκιμών PRION-1 σε ανθρώπους, με αρνητικά αποτελέσματα σε δοκιμές στις ΗΠΑ. (Sim V.L., 2012, Gandini A. and Bolognesi M.L., 2017, Teruya K. and Doh-ura K., 2017, Chen C. and Dong X., 2021)
Κινακρίνη + δεσιπραμίνη = κινπραμίνη	+	+	-	Η κινπραμίνη δοκιμάστηκε έναντι της ScN2a και εμφάνισε αντι-prion δράση υψηλότερη, 5 φορές από την κινακρίνη και 10 φορές από τη δεσιπραμίνη μόνης τους. (Sim V.L., 2012, Gandini A. and Bolognesi M.L., 2017)
Κινακρίνη με την σιμβαστατίνη	+	+	-	Κινακρίνη με την σιμβαστατίνη μαζί είναι καλύτερα από την κινακρίνη μόνη της στα κύτταρα. (Sim V.L., 2012)
Κινακρίνη + rPrP-Q218K	+	+		Ο συνδυασμός αυτός ενισχύει την αναστολή στα κύτταρα. (Sim V.L., 2012)
Χλωροπρομαζίνη	+	+		Αντιψυχωσικό. Αναστολή σχηματισμού PrP <sup>Sc</sup> σε μολυσμένα κύτταρα νευροβλαστώματος με τρομώδη νόσο (ScN2a). Στον συνδυασμό χλωροπρομαζίνης + κινακρίνης δεν υπήρξε κλινική βελτίωση. (Sim V.L., 2012, Gandini A. and Bolognesi M.L., 2017)
Χλωροπρομαζίνη + κινακρίνη + Φαιντοϊνη		+		Χλωροπρομαζίνη + κινακρίνη + Φαιντοϊνη (Αντιψυχωσικό + Ανθελονοσιακό + Αντισπασμωδικό). Δεν βρέθηκε κλινική βελτίωση. (Gandini A. and Bolognesi M.L., 2017)
Φαιντοϊνη και τοπιραμάτη	-	+	+	Δεν αναφέρθηκαν σημαντικές επιδράσεις στην πορεία της νόσου ή στο χρόνο επιβίωσης. (Gandini A. and Bolognesi M.L., 2017)
Τριμιπραμίνη, φλουφαιναζίνη	+	+	-	Διασχίζει τον αιματοεγκεφαλικό φραγμό. Παράταση της επώασης/μείωση της παθολογίας σε ποντίκια όταν χορηγείται προκλινικά. (Sim V.L., 2012)
Κλομιπραμίνη και Βενλαφαζίνη		+		Η κλομιπραμίνη (TCA), σε συνδυασμό με την βενλαφαζίνη. Δεν παρατηρήθηκαν κλινικές βελτιώσεις. (Gandini A. and Bolognesi M.L., 2017)
Κινίνη και βικινολίνη	+	+	-	Αυτός ο συνδυασμός χρησιμοποιήθηκε σε ενδοκοιλιακή εισαγωγή σωληνίσκου στα ποντίκια και μείωσε μερικώς την παθολογία στο ημισφαίριο.

				(Sim V.L., 2012)
2,5-διαμινο-1,4-βενζοκινόνη και 4-αμινο-7-χλωροκινολίνη	+			2,5-diamino-1,4-benzoquinone + 4-amino-7-chloroquinoline. Δομικά όπως η κινακρίνη. Ενώσεις αντι-ριον που ήταν αποτελεσματικά εναντίον στον σχηματισμό ινιδίων ριον αλλά και στο οξειδωτικό στρες σε μοντέλα κυττάρων με PrDs. (Gandini A. and Bolognesi M.L., 2017)
Λιποϊκό οξύ και 9-αμινο-6-χλωρο-2-μεθοξυακριδίνη	+	+		Ο συνδυασμός του αντιοξειδωτικού λιποϊκού οξέος με τη δομικά όμοια με την κινακρίνη, την 9-αμινο-6-χλωρο-2-μεθοξυακριδίνη. (Gandini A. and Bolognesi M.L., 2017)
Μεφλοκίνη	+	-	-	(Sim V.L., 2012)
CompB	+	+	+	(Teruya K. and Doh-ura K., 2017)
Anle138b	+	+		(Chen C. and Dong X., 2021)
Guanabenz (GA)	+	+		(Chen C. and Dong X., 2021)
<b>Ινδολο-3-γλυοξυλαμίδες</b>				
Ινδολο-3-γλυοξυλαμίδες	+			Εγκεκριμένο για ανθρώπινη χρήση σε άλλα κλινικά σύνδρομα. (Sim V.L., 2012)
<b>2-Αμινοθειαζόλες</b>				
2-Αμινοθειαζόλες (2-AMTs)	+	+		Εγκεκριμένο για ανθρώπινη χρήση σε άλλα κλινικά σύνδρομα. (Sim V.L., 2012, Chen C. and Dong X., 2021)
<b>Πεπτίδια</b>				
Περιοχές Kringle του πλασμινογόνου	+			Τα πεπτιδικά θραύσματα που βρίσκονται εντός των περιοχών kringle του πλασμινογόνου δρουν ως αναστολείς και συνδέονται επιλεκτικά με την PrP <sup>Sc</sup> . (Sim V.L., 2012)
C-1 θραύσμα PrP		+		Οι πεπτιδικοί αναστολείς είναι η αυθόρμητη απόκριση στο C-τελικό θραύσμα της PrP (θραύσμα C1). Τα διαγονιδιακά ποντίκια που παράγουν περισσότερο θραύσμα C1 έχουν παρατεταμένες περιόδους επώασης και λιγότερη παραγωγή PrP <sup>Sc</sup> . (Sim V.L., 2012)
<b>Απόκρυψη επιτόπων</b>				
Μεχλωραιθαμίνη	+			Αλκυλωτικό αντικαρκινικό φάρμακο, εμποδίζει τη μετατροπή in vitro. (Sim V.L., 2012)
<b>Παράγοντες που μειώνουν την χοληστερόλη</b>				
Στατίνες	+	+	+	Μέλη της οικογένειας των στατινών (Σιμβαστατίνη, Λοβαστατίνη, Σκουαλεστατίνη, ατορβαστατίνη, πραβαστατίνη, κ.α.). Παρεμβαίνουν στο σχηματισμό PrP <sup>Sc</sup> αλλάζοντας την κατανομή είτε της PrP <sup>C</sup> ή της PrP <sup>Sc</sup> μέσω μεταβολής του μεταβολισμού της χοληστερόλης εμποδίζοντας την σύνθεση της ή διαταράσσουν τις μεμβράνες των λιπιδικών σχεδίων. (Sim V.L., 2012, Carroll J.A. and Chesebro Bruce, 2019, Ananda Sampaio Lamenha Falcão de Melo, et al., 2021)
Αμιοδαρόνη, προγεστερόνη	+			(Sim V.L., 2012)
Αναστολείς αναγωγής 7- δεϋδροχοληστερόλης και αναγωγής 24- δεϋδροχοληστερόλης	+	-	-	Καμία επίδραση ακόμη και αν χορηγηθεί πριν από τον εμβολιασμό. (Sim V.L., 2012)
<b>Αντιβιοτικά πολυενίου</b>				

Αμφοτερική B, MS-8209	+	+	+	Αντιβιοτικό/αντιμυκητικό. Οι θεραπείες στους ανθρώπους είναι αναποτελεσματικές. (Sim V.L., 2012, Gandini A. and Bolognesi M.L., 2017)
Μεπαρτρική	+	+	-	(Sim V.L., 2012)
Φιλιπίνη	+			(Sim V.L., 2012)
<b>Χαλκός/Μαγγάνιο/Χηλικοί παράγοντες</b>				
D(-) πενικιλλαμίνη	+	+		(Sim V.L., 2012)
Κλιοκινόλη		+		Αντιμυκητικό και αντιπρωτοζωικό φάρμακο. Δομικά όπως η κινακρίνη, η επίδραση μπορεί να είναι αντιοξειδωτική. (Sim V.L., 2012, Gandini A. and Bolognesi M.L., 2017)
Χαλκός	#	+	-	Μπορεί να προάγει ή να αναστείλει την μετατροπή της διαμόρφωσης PrP. (Sim V.L., 2012)
Χρυσοϊδίνη	+			Ο μηχανισμός μπορεί να μην σχετίζεται με χηλικές ιδιότητες. (Sim V.L., 2012)
Na(2)CaCDTA		+	-	50% μείωση του Μαγγανίου (Mn) στον εγκέφαλο, σχετίζεται με παρατεταμένο χρόνο επώασης και μειωμένα επίπεδα PrP <sup>Sc</sup> . (Sim V.L., 2012)
7-χλωροκινόλη και (8HQ) 8-υδροξυκινόλη	+			Το ετεροαρωματικό PRM 7-chloroquinoline μαζί με το 8-hydroxyquinoline (8HQ) ως χηλικός παράγοντας μετάλλου. Εμποδίζουν τον σχηματισμό PrP <sup>Sc</sup> μέσω αναστολής της επαγόμενης από μέταλλα συσσωμάτωσης prion και έχουν αντιοξειδωτική δράση (ROS). (Gandini A. and Bolognesi M.L., 2017)
<b>Αντιϊκά</b>				
Αμανταδίνη, ιντερφερόνη, βιδαραβίνη, ακυκλοβίρη, ριφαμπικίνη, αραβινοσίδη κυτοσίνη, αδενοσίνη αραβινοσίδης, ισοπρινοσίνη, μεθισαζόνη, φωσφονοοξικό οξύ, βιραζόλη, μεθισοπρινόλη, β-προπιολακτόνη, θειαμφενικόλη		+	+	Οι ασθενείς με CJD θα έχουν μέτρια προσωρινή βελτίωση εάν αντιμετωπιστούν έγκαιρα στην πορεία. Οι μελέτες σε ποντίκια απέτυχαν να δείξουν αποτέλεσμα. (Sim V.L., 2012, Gandini A. and Bolognesi M.L., 2017)
<b>Πολυσακχαρίτης K συνδεδεμένος με πρωτεΐνες</b>				
PSK (Krestin)	+	+		Χρησιμοποιείται κλινικά σε ανθρώπινες ασθένειες που προκαλούνται από το ανοσοποιητικό. Παρατείνει την επιβίωση με μία υποδόρια δόση. Αναπτύσσονται εξουδετερωτικά αντισώματα. (Sim V.L., 2012)
<b>Στόχευση βοηθητικών μορίων (chaperons) και μονοπατιών</b>				
Αναστολείς MEK (SL327), πρωτεάση-κυστίνης (E64d), φωσφολιπάση, p53 (Pifitriin-alpha)	+			(Sim V.L., 2012)
Αναστολείς τυροσινικής κινάσης (STI571, imatinib mesylate), αναστολή του CSF-1 R (υποδοχέας τυροσινικής κινάσης)	+	+	-	Καθυστερεί τη νευροεισβολή, πιθανόν μέσω αυξημένης κάθαρσης. (Sim V.L., 2012)



Πλασμινογόνο, στοχευμένο με Πολυ-L-Λυσίνη	+	+		Παρατείνει τις περιόδους επώασης σε υψηλές συγκεντρώσεις. (Sim V.L., 2012)
<b>Σταθεροποιητικό oligομερές της PrP<sup>Sc</sup></b>				
Παράγωγα θειενυλοπυριμιδίνης		+		Σταθεροποιεί τα πολυμερή PrP <sup>Sc</sup> . Παρατείνει τις περιόδους επώασης όταν αναμιγνύεται με εμβόλιο. (Sim V.L., 2012)
<b>Θερανοστικά* αντι-prion μικρά μόρια</b>				
BTA-1, BSB *		+	+	Συνδυασμός του BTA-1 με το BSB. Ανιχνεύουν αμυλοειδείς ή όμοιες με αμυλοειδείς πλάκες. Πρόληψη του μη φυσιολογικού σχηματισμού PrP σε κυτταρικά και ζωικά μοντέλα PrDs με αντιπριονική δράση και των δύο ενώσεων στα ScN2a κύτταρα. (Gandini A. and Bolognesi M.L., 2017)
Στυρυλκινολίνη G8 *	+			Η (E)-6-μεθυλ- 40-αμινο-2-στυρυλκινολίνη ή αλλιώς (G8). Το πρώτο μικρό μόριο που προτάθηκε ιδιαίτερα ως θερανοστικός παράγοντας, ικανό να διαγνώσει, να παρέχει θεραπεία και να παρακολουθεί την ανταπόκριση στη θεραπεία σε AD και PrDs. Με χαμηλή νευροτοξικότητα και με μια αξιοσημείωτη δραστηριότητα σε δύο κυτταρικά μοντέλα που βασίζονται στις PrDs (κύτταρα ScN2a και ScGT1). (Gandini A. and Bolognesi M.L., 2017)
<b>Νευροπροστασία</b>				
Λίθο, τρεαλόζη, FK506,ταμοξιφαίνη, imatinib mesylate, Ραπαμκίνη, p62/SQSTM1	+	+		Επιδρούν στην αυτοφαγία και καθυστερούν την εμφάνιση της PrP <sup>Sc</sup> στον σπλήνα. (Sim V.L., 2012, Chen C. and Dong X., 2021)
Οι κατιονικές πολυαμίνες	+	+		Επιδρούν στην αυτοφαγία και ενισχύουν την κάθαρση της PrP <sup>Sc</sup> και μειώνουν την τοξικότητα. (Sim V.L., 2012)
				Η διακίνηση κυστιδίων/Χοληστερίνης επιδρά στην αυτοφαγία και στη αυξημένη κάθαρση της PrP <sup>Sc</sup> . (Sim V.L., 2012)
Αναστολείς φλεγμονωδών (NLRP3)				Αναστολή της ενεργοποίησης της κασπάσης-1, ως πιθανή αποτελεσματική θεραπευτική μέθοδος σε ασθενείς prion, μπορεί να αυξήσει την αυτοφαγική ικανότητα του κυττάρου. (Ananda Sampaio Lamenha Falcão de Melo, et al., 2021)
Πρωτεΐνες θερμικού σοκ				Μπορούν να προστατεύσουν τους νευρώνες από τη πρωτεοτοξικότητα. (Sim V.L., 2012)
FK506 (Τακρόλιμος)		+	+	Στόχος η μείωση του στρες στο ενδοπλασματικό δίκτυο και η ομοίωση ασβεστίου. Μειώνει τα κλινικά σημεία, παρατείνει την επιβίωση σε ποντίκια. (Sim V.L., 2012)
Μηλεϊνική φλουπιρτίνη	+		+	Δοκιμασμένη σε ανθρώπινες δοκιμές, υπήρξε κάποια βελτίωση στη γνωστική λειτουργία. Μπορεί να είναι νευροπροστατευτικό μέσω της αυξορύθμισης του bcl-2 και της ομαλοποίησης των επιπέδων γλουταθειόνης. Μη οπιοειδές αναλγητικό, κεντρικής δράσης, το οποίο έχει αποδειχθεί ότι εμφανίζει κυτταροπροστατευτική δράση και ότι μειώνει τη νευροτοξικότητα που σχετίζεται με PrD.

				(Sim V.L., 2012, Gandini A. and Bolognesi M.L., 2017, Teruya K. and Doh-ura K., 2017, Chen C. and Dong X., 2021)
Κανναβιδιόλη	+	+	-	Καμία εμφανής αλληλεπίδραση με PrP <sup>C</sup> ή PrP <sup>Sc</sup> . Μπορεί να είναι προστατευτικό μέσω της αναστολής της μετανάστευσης μικρογλοιακών κυττάρων που προκαλείται από την PrP <sup>Sc</sup> ή του ανταγωνισμού του υποδοχέα NMDA. (Sim V.L., 2012)
Κλιοκινόλη		+		Μειώνει τα κλινικά σημεία στα τρωκτικά. Φαίνεται ότι μειώνει την υπεροξειδωση των λιπιδίων. (Sim V.L., 2012)
Τοκοφερόλη (Vit. E)	+			Γνωστή ως αντιοξειδωτικό. Η επίδραση της εξαρτάται εν μέρει από τον στόχο της ραπαμυκίνης στα θηλαστικά (mTOR) μονοπάτι. (Sim V.L., 2012)
7-χλωροκινολίνη και (8HQ) 8-υδροξυκινολίνη				Εμποδίζουν τον σχηματισμό PrP <sup>Sc</sup> μέσω αναστολής της επαγόμενης από μέταλλα συσσωμάτωσης prion και έχουν αντιοξειδωτική δράση (ROS). (Gandini A. and Bolognesi M.L., 2017)
Λιποϊκό οξύ και 9-αμινο-6-χλωρο-2-μεθοξυακριδίνη	+	+		Σχόλια αναφέρονται και στις ετεροκυκλικές ενώσεις. (Gandini A. and Bolognesi M.L., 2017)
2,5-διαμινο-1,4-βενζοκινόνη και 4-αμινο-7-χλωροκινολίνη	+			Σχόλια αναφέρονται και στις ετεροκυκλικές ενώσεις. (Gandini A. and Bolognesi M.L., 2017)
Χημειοθεραπευτικές ουσίες προστασίας της μικρογλοίας	+	+		Διχλωροξικό (DCA), Διμεθυλοφουμαρικός εστέρας (DMF), Μετοφομίνη, Θειαζολιδινεδιόνες, FMHM, Sorbinil, Zopolrestat, Αναστολείς προσταγλαδίνης (ινδομεθακίνη, δαφνόνη). (Ananda Samprao Lamenha Falcão de Melo, et al., 2021)
Ριφαμικίνη (Rif) και το παράγωγό της Ριφαμικίνης κινόνης (RifQ)				Μείωση έκκρισης φλεγμονωδών κυτοκινών (TNF-α, IL-6) και το ξέσπασμα του οξειδωτικού στρες σε μικρογλοιακά κύτταρα. (Acuna L., et al., 2019)
Επιδράσεις φυσικών εκχυλισμάτων κατά της νόσου των prion **	+	+	+	Φυσικά εκχυλίσματα όπως: η ρεσβερατρόλη, η κουρκουμίνη, η μελατονίνη, το γαλλικό οξύ, το Ginkgo biloba, η καψαΐκίνη, η βερβερίνη, η καπερόλη, η κερσετίνη. (Servello A., et al., 2020, Chen C. and Dong X., 2021)
<b>Άλλες χημειοθεραπευτικές ουσίες</b>				
ASOs		+	+	Αντιπληροφοριακά ολιγονουκλεοτίδια που καταστέλνουν την φυσική PrP και επεκτείνουν την επιβίωση σε μολυσμένα με prion ποντίκια. (Vallabh Minikel E., et al., 2020)

**Πίνακας 11:** Συνοπτική ανασκόπηση των χημειοθεραπευτικών προσεγγίσεων για την πρόληψη και τη θεραπεία των ΜΣΕ όπου αναφέρονται περιληπτικά.

Επεξήγηση Συμβόλων Πίνακα:

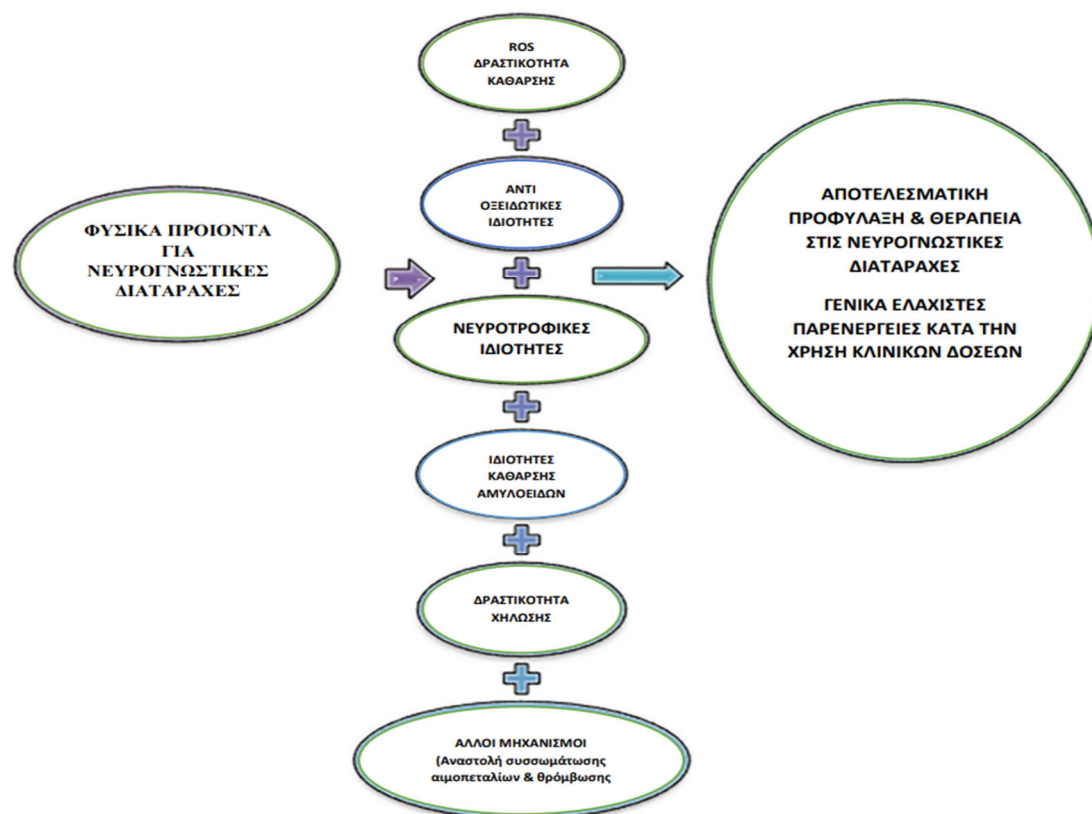
*In vitro:* το σύμβολο (+) δείχνει ότι αποδείχθηκε αποτέλεσμα.

*In vivo:* το σύμβολο (+) δείχνει ότι αποδείχθηκε αποτέλεσμα, το σύμβολο (-) δείχνει ότι δεν υπάρχει αποτέλεσμα.

#: Επάγει τη μετατροπή *in vitro*.

\* Θεραπευτικά (therapeutic): Μεμονωμένα μόρια με παράλληλες θεραπευτικές και διαγνωστικές ιδιότητες.

\*\* Ιδιότητες των φυσικών εκχυλισμάτων στην εικόνα 24.



**Εικόνα 24:** Τα φυσικά προϊόντα στις νευρογνωστικές διαταραχές που οι νευροπροστατευτικές επιδράσεις τους αποδίδονται σε μεγάλο βαθμό στις ικανότητές τους να δεσμεύουν τις ελεύθερες ρίζες. Επιπλέον μπορούν να χηλώσουν μέταλλα, να αναστείλουν τον σχηματισμό βήτα αμυλοειδούς και να ενισχύσουν την κάθαρσή του. Προκαλούν ελάχιστες ή μειωμένου βαθμού ανεπιθύμητες ενέργειες, (Servello A., et al., 2020, Chen C. and Dong X., 2021).

Σύμφωνα με τον παραπάνω πίνακα παρατηρούμε ότι μερικά φάρμακα (δραστικές ουσίες) συνεχίζουν να χρησιμοποιούνται ακόμη στις έρευνες *in vitro* και *in vivo* μεμονωμένα ή σε συνδυασμούς με άλλα φάρμακα. Κάποια από αυτά είναι η Πολυθεϊκή πεντοσάνη (PPS, μιμητικό ηπαρίνης), τα αντιβιοτικά (Τετρακυκλίνη, δοξυκυκλίνη), το ανθελονοσιακό κινακρίνη σε συνδυασμό με άλλες ουσίες, οι στατίνες (μείωση παραγωγής χοληστερόλης), τα αντικά, τα θερανοστικά και κάποιες ουσίες που επιδρούν στην νευροπροστασία. Προφανώς γιατί ακόμη συνεχίζουν να δίνουν ελπίδες όχι μόνο για την θεραπεία, αλλά και για την καθυστέρηση της εξέλιξης των νευροεκφυλιστικών νόσων.

### 6.3 ΑΝΟΣΟΘΕΡΑΠΕΙΕΣ ΓΙΑ ΤΗ ΘΕΡΑΠΕΙΑ ΑΣΘΕΝΕΙΩΝ PRION

Η ανοσοθεραπεία γνωστή για την πολύ καλή ειδικότητα της και για τις λίγες παρενέργειές της. Θεωρείται ως καλή στρατηγική μέθοδος και δίνει ελπίδα για πολλές ανίατες ασθένειες των ανθρώπων, όπως οι νευροεκφυλιστικές διαταραχές. Σε σύγκριση με άλλες νευροεκφυλιστικές ασθένειες, η εφαρμογή της ανοσοθεραπείας στη νόσο prion έχει μοναδικά πλεονεκτήματα. Πρώτον, η ανώμαλη μορφή της PrP<sup>c</sup> είναι ένας σταθερός παράγοντας που προκαλεί την νόσο, γεγονός που την καθιστά έγκυρο

θεραπευτικό στόχο. Δεύτερον, η PrP είναι μια πρωτεΐνη που εντοπίζεται στην επιφάνεια του κυττάρου και η μετατροπή της PrP<sup>C</sup> σε PrP<sup>Sc</sup> λαμβάνει χώρα στην κυτταρική επιφάνεια ή κατά μήκος της ενδοκυτταρικής οδού, η οποία είναι εύκολα προσβάσιμη σε θεραπευτικούς παράγοντες, (Ma Y. and Ma J., 2020).

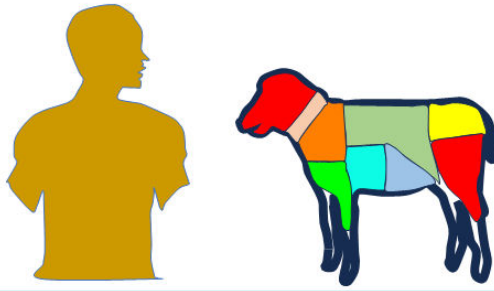
#### **6.4 ΘΕΡΑΠΕΙΑ ΜΕ ΒΛΑΣΤΟΚΥΤΤΑΡΑ**

Η πρόοδος στη θεραπεία με βλαστοκύτταρα έχει λάβει μεγάλη δημοσιότητα τα τελευταία χρόνια. Η επιστήμη δίνει ελπίδες για την αντιμετώπιση με πιθανές θεραπείες βλαστοκυττάρων σε νευροεκφυλιστικές ασθένειες, αλλά βρίσκεται στα αρχικά της στάδια και απαιτούνται εξειδικευμένες γνώσεις και εργαλεία να έχουν πρόσβαση στον χειρισμό των μηχανισμών που ελέγχουν τον πολλαπλασιασμό των βλαστοκυττάρων, τη διαφοροποίηση σε συγκεκριμένα κύτταρα και τη βέλτιστη λειτουργική αποκατάσταση που προσφέρουν τα βλαστοκύτταρα. Με την προσδοκία των ασθενών για θεραπεία, πιθανότατα θα αναζητήσουν μη ορθόδοξες και μη ασφαλείς πηγές θεραπείας για τις οποίες το διαδίκτυο παρέχει μια πληθώρα σελίδων που υπόσχονται αποτελεσματικές θεραπείες με βλαστοκύτταρα σε διάφορες χώρες. Η χορήγηση βλαστοκυττάρων με ανεξέλεγκτο τρόπο και χωρίς μακροχρόνια παρακολούθηση από ιατρικά πρωτόκολλα που δίνουν ορθολογικά επιστημονικά συμπεράσματα παραμένει ένα ζήτημα. Επιπλέον, οι ηθικές ανησυχίες δημιουργήσανε προβλήματα όσον αφορά τη συλλογή και τη χρήση ανθρώπινου εμβρυϊκού ιστού ως πηγή βλαστοκυττάρων για μεταμόσχευση. Ωστόσο η χρήση άλλων πηγών ως βλαστοκύτταρα και τα αυστηρά ελεγχόμενα πρωτόκολλα μπορούν να δώσουν προβάδισμα στην θεραπεία της αντικατάστασης νευρώνων.

#### **6.5 ΣΚΕΨΕΙΣ ΕΠΙ ΤΩΝ ΘΕΡΑΠΕΙΩΝ**

Οι ασθένειες prion των ανθρώπων ως νευροεκφυλιστικές διαταραχές θεωρούνται ότι είναι μέχρι στιγμής θανατηφόρες. Περίπου 7.000–14.000 άτομα πεθαίνουν από ασθένειες prion παγκοσμίως κάθε χρόνο με βάση το ποσοστό θνησιμότητας της sCJD (1–2 άτομα/ετησίως/ανά εκατομμύριο άτομα). Επιπλέον, η εμφάνιση νέων ασθενειών prion στους ανθρώπους όπως η vCJD, έχει προκαλέσει μεγάλη ανησυχία για τη δημόσια υγεία και έχει απειλήσει την παγκόσμια ασφάλεια υγείας. Ενδέχεται να εμφανιστούν νέα στελέχη prion σε ζώα, όπως στα πρόβατα και στις αίγες, και η συνεχής εξάπλωση των ασθενειών prion σε ελάφια, άλλα κατοικίδια ή εκτρεφόμενα ζώα και στους ανθρώπους θα πρέπει να αξιολογείται προσεκτικά. Επομένως, απαιτούνται ασφαλείς και αποτελεσματικοί προληπτικοί ή/και θεραπευτικοί παράγοντες για τις ασθένειες prion των ανθρώπων ή/και των ζώων.

ς



## Κεφάλαιο 7

### ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ – ΜΕΘΟΔΟΙ ΔΙΑΓΝΩΣΗΣ

**7.1. Διαγνωστικές Κλινικές Δοκιμές σε Ασθενείς Prion των Ανθρώπων**

**7.2. Διαγνωστικές Δοκιμές σε Βοοειδή και Αιγοπρόβατα**

## ΚΕΦΑΛΑΙΟ 7: ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ – ΜΕΘΟΔΟΙ ΔΙΑΓΝΩΣΗΣ

### 7.1. ΔΙΑΓΝΩΣΤΙΚΕΣ ΚΛΙΝΙΚΕΣ ΔΟΚΙΜΕΣ ΣΕ ΑΣΘΕΝΕΙΕΣ PRION ΤΩΝ ΑΝΘΡΩΠΩΝ

Σύμφωνα με τα διεθνή διαγνωστικά κριτήρια που συστήνονται σχετικά με τις ανθρώπινες ασθένειες prion είναι τα κλινικά χαρακτηριστικά, η διάρκεια της ασθένειας, τα αποτελέσματα των κλινικών ερευνών, η ανάλυση του γονιδίου PRNP και η νευροπαθολογία, τα οποία βοηθούν στην ταξινόμηση των ύποπτων περιπτώσεων ως «ενδεχόμενες», «πιθανές» ή «βέβαιες». Μια «σίγουρη» διάγνωση απαιτεί νευροπαθολογική επιβεβαίωση.

Οι συμβατικές διαγνωστικές κλινικές εξετάσεις περιλαμβάνουν:

**1. Η Ηλεκτροεγκεφαλογραφία (EEG- Electroencephalography, μέθοδος καταγραφής της αυθόρμητης ηλεκτρικής δραστηριότητας του εγκεφάλου):** περιοδικά τριφασικά κύματα στα 2/3 των περιπτώσεων sCJD, (τα τριφασικά κύματα είναι μη φυσιολογικές κυματομορφές του ηλεκτροεγκεφαλογραφήματος που παρατηρούνται σε πολλές κλινικές καταστάσεις, κάποιες από αυτές είναι η εγκεφαλοπάθεια και οι εγκεφαλικές δομικές βλάβες).

**2. Η μαγνητική τομογραφία εγκεφάλου (MRI- Magnetic Resonance Imaging, τεχνολογία διαγνωστικής απεικόνισης που παράγει τρισδιάστατες ανατομικές εικόνες του εγκεφάλου με λεπτομέρεια):**

➤ **Αυξημένο σήμα σε αλληλουχίες τύπου T2** (εικόνες με αντίθεση και φωτεινότητα που καθορίζονται κυρίως από τις ιδιότητες T2 του ιστού):

- στα βασικά γάγγλια (τα βασικά γάγγλια αποτελούν τον πυρήνα του εξωπυραμιδικού συστήματος του εγκεφάλου και ρυθμίζουν την κινητική δραστηριότητα) και
- στον φλοιό του εγκεφάλου όταν υπάρχει ασθένεια με sCJD.

➤ **Αυξημένο σήμα σε αλληλουχίες T2/FLAIR** (FLAIR- Fluid-attenuated inversion recovery, μια ακολουθία μαγνητικής τομογραφίας με ανάκτηση αναστροφής που είναι ρυθμισμένη σε μηδενικά υγρά) στον οπίσθιο θάλαμο του εγκεφάλου και στον μεσεγκέφαλο όταν υπάρχει ασθένεια με vCJD (λεγόμενο ως «πνευμονικό σημάδι», αναφέρεται σε αμφοτερόπλευρες υπερεντάσεις FLAIR που αφορούν τους πυρήνες του θαλάμου στον εγκέφαλο).

**3. Η ανάλυση πρωτεϊνών ως βιοδείκτες** στο εγκεφαλονωτιαίο υγρό (ENY), όπου γίνεται οσφυονωτιαία παρακέντηση στην οσφυϊκή περιοχή της πλάτης και γίνεται η δειγματοληψία του εγκεφαλονωτιαίου υγρού:

➤ Σε αυξημένα επίπεδα των πρωτεϊνών που δείχνουν την νόσο σε sCJD, όπως:

- τις πρωτεΐνες 14.3.3, οι οποίες υπάρχουν στους νευρώνες ενδοκυτταρικά, στην κυτταρική μεμβράνη και ιδιαίτερα στις συνάψεις τους σε διάφορες ισομορφές. Συμμετέχουν σε ένα μεγάλο εύρος φυσιολογικών βιολογικών διεργασιών, άλλα εμπλέκονται και σε διάφορες νευρολογικές διαταραχές. Χρησιμοποιούνται ως αξιόπιστος και σταθερός βιοδείκτης, αλλά μόνο σε ορισμένες ισομορφές, που όταν αυξάνονται υποδηλώνουν την συμμετοχή τους σε παθολογικές νευρολογικές νόσους (περιλαμβάνεται στα διαγνωστικά κριτήρια του Παγκόσμιου Οργανισμού Υγείας),
- τις πρωτεΐνες S100, που διατελούν αρκετές φυσιολογικές λειτουργίες στις βιολογικές διεργασίες, ιδιαίτερες είναι αυτές όπως η ομοιόσταση του ασβεστίου που λειτουργούν στην δέσμευση του  $Ca^{2+}$  στους νευρώνες, οι ενζυμικές

δραστηριότητες και η φλεγμονώδης απόκριση. Χρησιμοποιούνται ως βιοδείκτης νευρικής βλάβης, με την ανίχνευση της πρωτεΐνης ως συνέπεια της διαρροής της από κατεστραμμένα κύτταρα.

- Σε κανονικά επίπεδα πρωτεϊνών 14.3.3 με αυξημένα επίπεδα φωσφορυλιωμένης tau που δείχνουν την νόσο σε vCJD.

**4. Θετικό αποτέλεσμα με RT-QuIC** (Real-time quaking-induced conversion) για την ανίχνευση με ανακίνηση σε πραγματικό χρόνο μικρών ποσοτήτων της παθολογικής πρωτεΐνης PrP<sup>Sc</sup> στο ENY ή σε άλλους ιστούς. Στην RT-QuIC γίνεται η ανακίνηση ενός μείγματος της φυσιολογική μορφής της PrP<sup>C</sup> με την παθολογική PrP<sup>Sc</sup> και στην συνέχεια πυροδοτείται μια αλυσιδωτή αντίδραση που προκαλεί τον πολλαπλασιασμό των πρωτεϊνών και τον σχηματισμό συσσωματωμάτων ινιδίων της PrP<sup>Sc</sup>. Με αυτόν τον τρόπο γίνεται η ανίχνευση αυτών των συσσωματωμάτων σε πραγματικό χρόνο με τη χρήση φθορίζουσας χρωστικής.

**5. Προθανάτια βιοψία εγκεφάλου,** (Ritchie D.L. and Ironside J.W., 2017).

### 7.1.1. Η διάγνωση της Σποραδικής CJD

Η sCJD είναι μια σπάνια ασθένεια και είναι ουσιαστικά μη ειδική και η διαφορική της διάγνωση είναι πολύ εκτεταμένη. Μέσα στο πλαίσιο των εξετάσεων που απαιτούνται είναι οι αιματολογικές, η εγκεφαλική απεικόνιση και η ανάλυση ENY. Στην sCJD, επίσης οι εξετάσεις αίματος και η αξονική τομογραφία του εγκεφάλου (CT) είναι γενικά φυσιολογικές, (CT- Computed Tomography, η αξονική τομογραφία είναι μια διαγνωστική διαδικασία απεικόνισης που χρησιμοποιεί ειδικές μετρήσεις ακτίνων X για την παραγωγή οριζόντιων ή αξονικών εικόνων που συχνά ονομάζονται φέτες του εγκεφάλου. Οι αξονικές τομογραφίες παρέχουν λεπτομερείς πληροφορίες σχετικά με τον εγκεφαλικό ιστό και τις δομές του εγκεφάλου).

Οι κυτταρολογικές εξετάσεις στο ENY πρέπει να είναι φυσιολογικές (μέτρηση πολυμορφοπύρηνων, λεμφοκυττάρων και μονοπύρηνων για τον αποκλεισμό διάφορων λοιμώξεων, όπως για παράδειγμα εγκεφαλίτιδας) και η ολική πρωτεΐνη να είναι σχετικά μέτρια αυξημένη.

Υπάρχουν χρήσιμα τεστ επιβεβαίωσης:

- το ΗΕΓ δείχνει χαρακτηριστικά πρότυπα περιοδικών εκκενώσεων (καταγραφές ηλεκτροεγκεφαλογραφήματος οι οποίες είναι ενδεικτικές σε οξεία ή υποξεία εγκεφαλική δυσλειτουργία, π.χ. στην περίπτωση της επιληψίας),
- το τεστ πρωτεΐνης 14-3-3 στο ENY, και το τεστ επίσης της εγκεφαλικής μαγνητικής τομογραφίας (δείχνει αυξημένο σήμα στον κερκοφόρο χιτώνα/φακοειδή πυρήνα του εγκεφάλου και επίσης πολυεστιακές περιοχές αλλοίωσης του φλοιού).
- Το καλύτερο σε αξιολόγηση είναι η RT-QuIC του ENY, με ευαισθησία 87% και ειδικότητα 100% για τη sCJD.
- Δεν υπάρχουν μέχρι σήμερα αξιόπιστες εξετάσεις αίματος ή ούρων για την sCJD, αν και οι αιματολογικές εξετάσεις που αναπτύχθηκαν για την vCJD έδειξαν περιστασιακά πολύ καλά αποτελέσματα για την sCJD.
- Η βιοψία του εγκεφάλου παραμένει η καλύτερη λύση για επιβεβαίωση της ασθένειας σε ασθενείς με την νόσο prion, αλλά είναι επικίνδυνη επειδή η δειγματοληψία πρέπει να γίνει μέσω χειρουργικής επέμβασης. Επίσης μπορεί να γίνει δειγματοληψία μέσω ρινικής κοιλότητας από τους οσφρητικούς νευρώνες και

να αναλυθούν τα δείγματα για την παρουσία της παθολογικής πρωτεΐνης prion, (Knight R., 2017).

### 7.1.2. Η διάγνωση της Παραλλαγής CJD

Η vCJD είναι μια εξαιρετικά σπάνια ασθένεια και η μόνη εξέταση που μπορεί να επιβεβαιώσει την ασθένεια, είναι η νευροπαθολογική εξέταση που απαιτεί είτε βιοψία εγκεφάλου σε ζωντανό ασθενή, είτε αυτοψία σε νεκρό εγκέφαλο. Η βιοψία εγκεφάλου παραμένει η πιο οριστική κλινική δοκιμή σε ασθενείς με νόσο prion και μπορεί να επιβεβαιώσει την νόσο, αλλά είναι επικίνδυνη επειδή η δειγματοληψία πρέπει να γίνει μέσω χειρουργικής επέμβασης.

Για τον προγνωστικό έλεγχο μπορεί να γίνει η λήψη ιστού των αμυγδαλών μέσω βιοψίας, για να επιβεβαιωθεί η πιθανή παρουσία της παθολογικής prion, η οποία είναι πολύ ειδική κλινική δοκιμή. Λόγω της συμμετοχής του λεμφοειδούς ιστού στην vCJD, δεν είναι απαραίτητο αν κάποιος ήδη ασθενεί με την νόσο prion, αλλά για την πιθανή φάση της προκλινικής λοίμωξης (επάσσης του παθογόνου) και την εξέλιξη της νόσου. Η εξέταση του ENY είναι πολύ σημαντική διάγνωση, για να επιβεβαιώσει την νόσο ή να αποκλείσει άλλες εγκεφαλικές νόσους. Όπως και στην sCJD, τα αποτελέσματα της εξέτασης του ENY είναι είτε φυσιολογικά είτε παθολογικά, συνήθως χωρίς πλειοκυττάρωση (λεμφοκυτταρική σε εγκεφαλίτιδες) και μόνο μέτρια αύξηση της συνολικής πρωτεΐνης. Η δοκιμή του ENY για τις 14-3-3 πρωτεΐνες είναι λιγότερο ευαίσθητη για τις vCJD σε αντίθεση με την sCJD, και είναι θετική μόνο στο 50% περίπου των περιπτώσεων. Η αυξημένη tau στο ENY, ειδικά η φωσφορυλιωμένη tau, είναι πιο ευαίσθητη από την 14-3-3 πρωτεΐνη για την vCJD, αλλά αυτή η αύξηση μπορεί να παρατηρηθεί και σε ορισμένες άλλες νευροεκφυλιστικές ασθένειες, μειώνοντας έτσι την ειδικότητά της.

Η RT-QuIC του ENY, έχει αποδειχθεί αρνητική σε περιπτώσεις vCJD. Επομένως δεν είναι διαγνωστικά χρήσιμη, αλλά είναι ενδεχομένως χρήσιμη στη διαφοροποίηση των περιπτώσεων της sCJD με την vCJD.

Υπάρχει μια αναφορά ότι ένα τεστ ούρων έδειξε ευαισθησία και ειδικότητα για την vCJD, που βασίζεται στην τεχνική της PMCA (Protein misfolding cyclic amplification, η κυκλική ενίσχυση της κακής αναδίπλωσης των πρωτεϊνών, είναι μια τεχνική ενίσχυσης, που μοιάζει με την PCR και εκμεταλλεύεται τη διαδικασία αντιγραφής για να επιταχύνει τη μετατροπή της PrP<sup>C</sup> σε PrP<sup>Sc</sup>, αλλά δεν περιλαμβάνει νουκλεοτίδια). Αυτό το αποτέλεσμα της μελέτης είναι ενδιαφέρον, αλλά σχετίζεται με έναν μικρό αριθμό δειγμάτων που δοκιμάστηκαν σε μία μόνο μελέτη.

Παρόλο που δεν είναι αξιόπιστες οι εξετάσεις αίματος στην sCJD, έχει σημειωθεί σημαντική πρόοδος για την vCJD. Επίσης έχουν αναφερθεί δύο σημαντικές πιο ευαίσθητες δοκιμές που και οι δύο βασίζονται στην PMCA.

Η μαγνητική τομογραφία εγκεφάλου είναι μια ακόμη διαγνωστική τεχνική που μπορεί να δώσει πολλά επιβεβαιωτικά αποτελέσματα (αναλυτική αναφορά στο 7.1, στην 3 παρ.)

Το ΗΕΓ μπορεί να είναι φυσιολογικό στα αρχικά στάδια την vCJD, αλλά με την εξέλιξη της νόσου παρατηρείται απώλεια φυσιολογικών ρυθμών στην καταγραφή της ηλεκτρικής δραστηριότητας του εγκεφάλου και μερικοί ασθενείς παρουσιάζουν περιοδικά σύμπλοκα ταχέων και βραδέων κυμάτων, (Knight R., 2017).

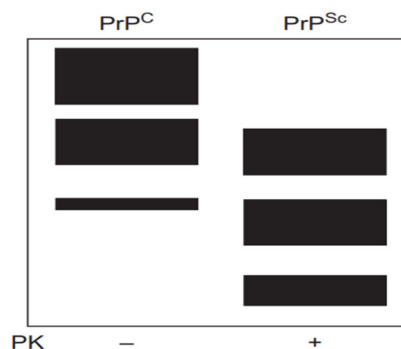


### 7.1.3. Μικροσκοπική παθολογική διάγνωση

Τα χαρακτηριστικά νευροπαθολογικά χαρακτηριστικά στον εγκέφαλο σε όλες τις μορφές γενικά, περιλαμβάνουν την σπογγώδη μεταβολή στις προσβεβλημένες περιοχές της φαιάς ουσίας, με αντιδραστική αστροκυττάρωση και μικρογλοιακό πολλαπλασιασμό, με συσσώρευση της PrP<sup>Sc</sup> σε διάφορα μοτίβα και σχηματισμό αμυλοειδούς πλάκας σε κάποιες περιπτώσεις. Αυτά τα χαρακτηριστικά που παρουσιάζονται, ποικίλλουν ως προς τη φύση, την κατανομή τους και τη βαρύτητα της κάθε μορφής της νόσου prion, (Ritchie D.L. and Ironside J.W., 2017).

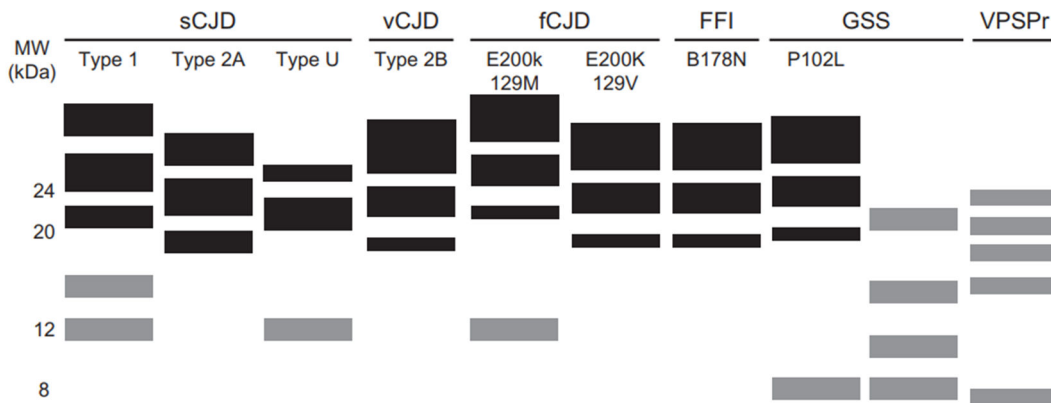
### 7.1.4. Η μέθοδος ανοσοαποτύπωσης (western blot)

Η μέθοδος ανοσοαποτύπωσης χρησιμοποιείται για την ανίχνευση της PrP<sup>Sc</sup> σε ιστούς του ΚΝΣ αλλά και σε άλλους ιστούς για τον χαρακτηρισμό ή τον τύπο των ανθεκτικών στην πρωτεάση θραυσμάτων που δημιουργούνται με βάση το μοριακό τους βάρος και την κατάσταση γλυκοζυλίωσης. Η ανάλυση Western blot της πρωτεΐνης prion χαρακτηρίζεται από τρεις ζώνες και αντιστοιχεί σε τρεις γλυκομορφές: δι-, μονο- και μη γλυκοζυλιωμένη. Μετά την κατεργασία της με πρωτεϊνάση-K (PK), η ηλεκτροφορητική μορφή των τριών ζωνών μετατοπίζεται σε χαμηλότερο φαινομενικό μοριακό βάρος λόγω της διάσπασης του αμινικού(N)-άκρου. Οι PrP<sup>Sc</sup> ανθεκτικές στην PK γλυκομορφές ονομάζονται επίσης PrP27-30 (Εικόνα 25), (Fiorini M., et al., 2017).



**Εικόνα 25:** Σχηματική αναπαράσταση ανθρώπινου western blot προφίλ της PrP πριν από (-) και μετά (+) κατεργασία της με πρωτεϊνάση-K (PK), (Fiorini M., et al., 2017).

Στις διαταραχές της ανθρώπινης prion, περιγράφονται αρκετοί διαφορετικοί τύποι της PrP<sup>Sc</sup> με βάση την ηλεκτροφορητική μετανάστευση και το προφίλ γλυκοζυλίωσης του PrP27-30 (Εικόνα 26), (Fiorini M., et al., 2017).



**Εικόνα 26:** Σχηματική αναπαράσταση ανθρώπινου western blot όλων των μοριακών τύπων CJD, (Fiorini M., et al., 2017).

### 7.1.5. Ανοσοϊστοχημεία για την ανίχνευση της PrP

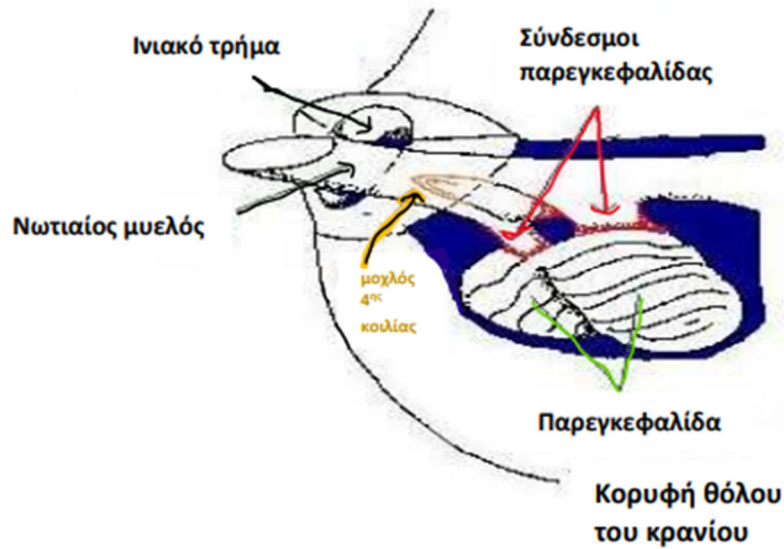
Η ανοσοϊστοχημεία για την ανίχνευση της PrP είναι απαραίτητη στη νευροπαθολογική διάγνωση ασθενειών ανθρώπινων prion. Τα διαθέσιμα αντισώματα αντι-PrP αναγνωρίζουν μια σειρά διαφορετικών επιτόπων στην πρωτεΐνη. Η ανοσοϊστοχημεία μπορεί επίσης να χρησιμοποιηθεί για την ανίχνευση ασθενειών που σχετίζονται με την πρωτεΐνη prion σε ιστούς και εκτός του ΚΝΣ, ιδιαίτερα στα βλαστικά κέντρα των λεμφοειδών ιστών και στα αυτόνομα γάγγλια στην vCJD, (Ritchie D.L. and Ironside J.W., 2017).

## 7.2. ΔΙΑΓΝΩΣΤΙΚΕΣ ΔΟΚΙΜΕΣ ΣΕ ΒΟΟΕΙΔΗ ΚΑΙ ΑΙΓΟΠΡΟΒΑΤΑ

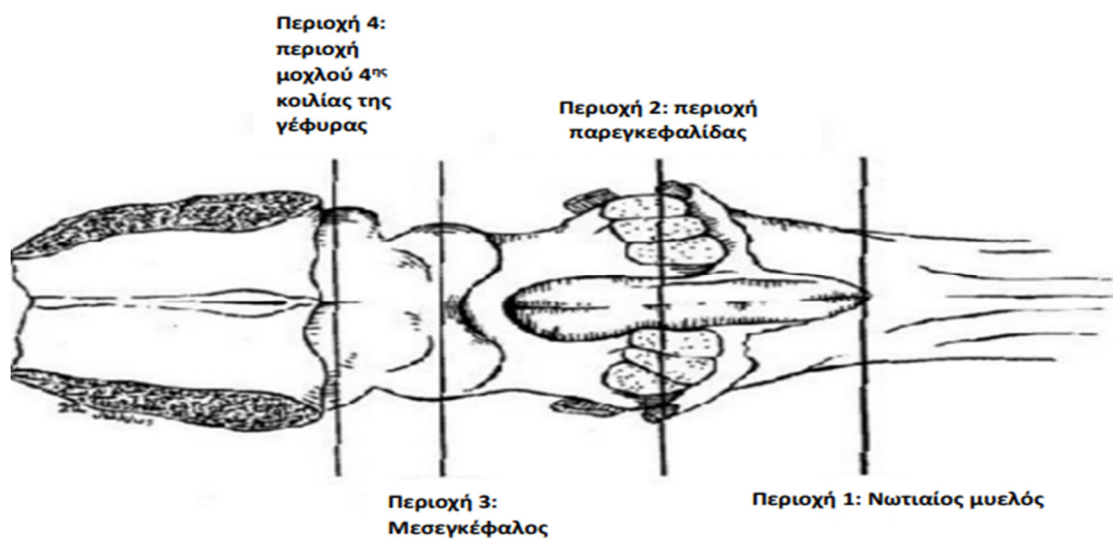
Τα δείγματα συλλέγονται από νεκρά ζώα στις μονάδες όπου διαβιούσαν τα ζώα ή στις μονάδες προς αποτέφρωση και τα ζώα προς σφαγή η συλλογή γίνεται στα σφαγεία. Οι εγκεφαλικοί ιστοί από τα νεκρά ή προς σφαγή βοοειδή και πρόβατα, που προορίζονται για εξέταση, συλλέγονται σύμφωνα με τις μεθόδους και προδιαγραφές του Εγχειριδίου Προδιαγραφών για Διαγνωστικές Δοκιμές και Εμβόλια του Διεθνούς Γραφείου Επιζωοτιών (OIE). Το παρακάτω είναι δανεισμένο από τα εγχειρίδια του ΥΠΑΑΤ που εφαρμόζεται στις Κτηνιατρικές Υπηρεσίες της Ελλάδος.

Υλικά που απαιτούνται και τα στάδια: 1)Μαχαίρι για τον αποχωρισμό της κεφαλής από το σώμα, 2) Πλαστικό κοχλιάριο δειγματοληψίας. Τα πλαστικά κοχλιάρια δειγματοληψίας μίας χρήσεως, 3)Λαβίδα χειρουργική ή/ και ψαλίδι, 4)Πλαστικά γάντια μίας χρήσεως, 5)Δοχείο για τη συλλογή του δείγματος:

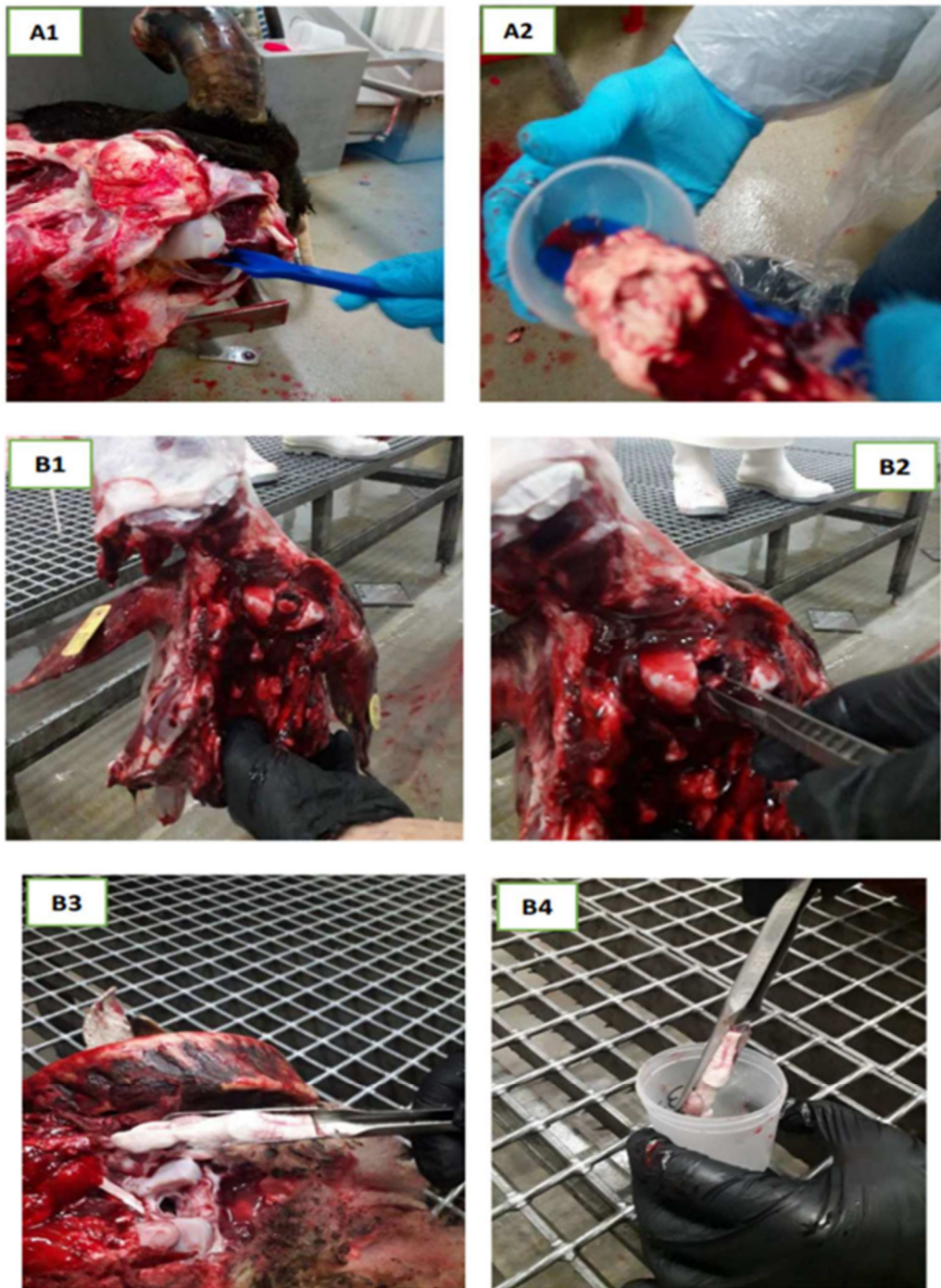
1. Αποχωρισμός της κεφαλής από το σώμα στην ατλαντο-ινιακή άρθρωση και τοποθέτηση της κεφαλής ανάποδα.
2. Αποκάλυψη του ινιακού τρήματος και τομή της σκληρής μήνιγγας για αποκάλυψη του στελέχους του εγκεφάλου.
3. Γίνεται η δειγματοληψία με κοχλιάριο μίας χρήσεως για την συλλογή δείγματος. Επίσης στα αιγοπρόβατα συλλέγεται και η παρεγκεφαλίδα.
4. Τοποθέτηση όλων των δειγμάτων εγκεφαλικού ιστού σε πλαστικό περιέκτη που κλείνει ερμητικά (βιδωτά) και σήμανση του περιέκτη με τα στοιχεία του ζώου: αρ. εκτροφής..... (τελευταία εκτροφή που παρέμεινε το ζώο), (ΥΠΑΑΤ, 2009 & ΥΠΑΑΤ, 2013).



**Εικόνα 27:** *top of skull* = θόλος κρανίου, *cerebellum* = παρεγκεφαλίδα, *cerebellar attachments* = σύνδεσμοι παρεγκεφαλίδας, *obex* = μοχλός 4<sup>ης</sup> κοιλίας, *cord* = νωτιαίος μυελός, *foreamen magnum* = ινιακό τρήμα, (ΥΠΑΑΤ, 2013).



**Εικόνα 29:** Ανατομικές περιοχές για τα αιγοπρόβατα. *Area 1* = περιοχή μοχλού 4<sup>ης</sup> κοιλίας της γέφυρας, *Area 2* = περιοχή παρεγκεφαλίδας, *Area 3* = μεσεγκέφαλος, (ΥΠΑΑΤ, 2013).



*Εικόνα 28: A1 & A2 δειγματοληψία σε σφαγείο, από εγκεφαλικό στέλεχος μέσω του ινιακού τρήματος σε αγελάδα και B1-B4 δειγματοληψία σε σφαγείο, από εγκεφαλικό στέλεχος μέσω του ινιακού τρήματος σε πρόβατο. Οι δειγματοληψίες διενεργούνται βάσει του Ευρωπαϊκού Κανονισμού σε σφαγεία της περιοχής, (Από Γουδετσιόδη Ιωάννη, 2023).*

### **7.2.1. Εργαστηριακές μέθοδοι διάγνωσης της ΣΕΒ**

Δανεισμένο από ΥΠΑΑΤ για το Πρόγραμμα Επιτήρησης, Ελέγχου και Εξάλειψης της Σπογγώδους Εγκεφαλοπάθειας των Βοοειδών (ΣΕΒ) για το έτος 2021, του Άρθρου 9, ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ Ι:

### 1. Ταχείες διαγνωστικές δοκιμές / ανοσολογικές δοκιμές

Χρησιμοποιούνται ως ταχείες δοκιμές για τον έλεγχο της ΣΕΒ οι ακόλουθες μέθοδοι:

(α) δοκιμή ανοσοκαθήλωσης, με βάση τη διαδικασία ανοσοαποτυπώματος Western για την ανίχνευση του ανθεκτικού στην πρωτεΐνωση Κ τμήματος PrP<sup>Res</sup> (Prionics Check Western test),

(β) ανοσολογική δοκιμή με μικροπλάκες για την ανίχνευση του PrP<sup>Sc</sup> (Enfer TSE Version 3),

(γ) ανοσολογική δοκιμή τύπου σάντουιτς για την ανίχνευση PrP<sup>Res</sup> (βραχύ πρωτόκολλο δοκιμής), η οποία διενεργείται ύστερα από μετουσίωση και συμπύκνωση (Bio-Rad TeSeE SAP rapid test),

(δ) ανοσολογική δοκιμή (ELISA) με μικροπλάκες, η οποία ανιχνεύει το ανθεκτικό στην πρωτεΐνωση Κ τμήμα PrP<sup>Res</sup> με μονοκλωνικά αντισώματα (Prionics-Check LIA test),

(ε) ανοσολογική δοκιμή με τη χρήση χημικού πολυμερούς για την επιλεκτική δέσμευση του PrP<sup>Sc</sup> και μονοκλωνικού αντισώματος ανίχνευσης που κατευθύνεται εναντίον διατηρημένων περιοχών του μορίου του PrP (IDEXX HerdChek BSE Antigen Test Kit, EIA & IDEXX HerdChek BSE-Scrapie Antigen Test Kit, EIA),

(στ) ανοσολογική δοκιμή πλευρικής ροής με την χρήση δύο διαφορετικών μονοκλωνικών αντισωμάτων για την ανίχνευση τμημάτων PrP ανθεκτικών στην πρωτεΐνωση Κ (Prionics Check PrioSTRIP),

(ζ) αμφίπλευρη ανοσολογική δοκιμή με την χρήση δύο διαφορετικών μονοκλωνικών αντισωμάτων που κατευθύνονται εναντίον δύο επιτόπων που υπάρχουν σε PrP<sup>Sc</sup> βουειδών, ευρισκόμενο σε ιδιαίτερα ξεδιπλωμένη διάταξη (Roboscreen Beta Prion BSE EIA Test Kit).

Για όλες τις δοκιμές, τα δείγματα ιστών στα οποία θα πραγματοποιηθούν οι δοκιμές πρέπει να συμμορφώνονται με τις οδηγίες χρήσης του κατασκευαστή τους, (ΥΠΑΑΤ, 2020).

### **7.2.2. Εργαστηριακές μέθοδοι διάγνωσης των ΜΣΕ στα μικρά μηρυκαστικά**

Δανεισμένο από ΥΠΑΑΤ για το Πρόγραμμα Επιτήρησης, Ελέγχου και Εξάλειψης των Μεταδοτικών Σπογγωδών Εγκεφαλοπαθειών (ΜΣΕ) στα μικρά μηρυκαστικά για το έτος 2021, του Άρθρου 12, ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ Ι:

#### 1. Ταχείες διαγνωστικές δοκιμές / ανοσολογικές δοκιμές

Στα αιγοπρόβατα χρησιμοποιούνται ως ταχείες δοκιμές για τον έλεγχο των ΜΣΕ οι ακόλουθες μέθοδοι:

(α) ανοσολογική δοκιμή τύπου σάντουιτς για την ανίχνευση PrP<sup>Res</sup> (βραχύ πρωτόκολλο δοκιμής) η οποία διενεργείται ύστερα από μετουσίωση και συμπύκνωση (Bio-Rad TeSeE SAP rapid test).

(β) ανοσολογική δοκιμή τύπου σάντουιτς για την ανίχνευση PrP<sup>Res</sup> με το κιτ ανίχνευσης TeSeE Sheep/Goat η οποία διενεργείται ύστερα από μετουσίωση και συμπύκνωση με το κιτ καθαρισμού TeSeE Sheep/Goat (Bio-Rad TeSeE Sheep/Goat rapid test).

(γ) ανοσολογική δοκιμή με την χρήση χημικού πολυμερούς για την επιλεκτική δέσμευση του PrP<sup>Sc</sup> και ενός μονοκλωνικού αντισώματος ανίχνευσης που κατευθύνεται έναντι διατηρημένων περιοχών του μορίου του PrP (IDEXX HerdChek BSE-Scrapie Antigen Test Kit, EIA).



(δ) ανοσολογική δοκιμή πλευρικής ροής με την χρήση δύο διαφορετικών μονοκλωνικών αντισωμάτων για την ανίχνευση τμημάτων PrP ανθεκτικών στην πρωτεΐνωση K (ταχεία δοκιμή Prionics Check - PrioSTRIP SR, πρωτόκολλο οπτικής ανάγνωσης).

### 7.2.3. Διάφορες άλλες Διαγνωστικές μέθοδοι στα Βοοειδή και τα Αιγοπρόβατα

#### 1. Ιστοπαθολογικές ή άλλες διαγνωστικές μέθοδοι

Διενεργούνται όπως περιγράφονται στο Εγχειρίδιο Προδιαγραφών για Διαγνωστικές δοκιμές και εμβόλια του Διεθνούς Γραφείου Επιζωοτιών, όπως π.χ. ανοσοϊστοχημεία, ανοσοκαθήλωση και παρατήρηση των χαρακτηριστικών ινιδίων SAF με ηλεκτρονική μικροσκοπία.

#### 2. Ειδικές μοριακές δοκιμές για την εργαστηριακή διαφορική διάγνωση της ΣΕΒ και της Τρομώδους νόσου

(α) Κύρια μοριακή δοκιμή με ανοσοκαθήλωση ειδικής διαγνωστικής ικανότητας.

(β) Δοκιμή δακτυλίου με συμπληρωματικές μεθόδους μοριακών δοκιμών.

#### 3. Γονοτύπηση: Εξαγωγή DNA, Ενίσχυση και Ανάλυση Γονοτύπησης

Η μέθοδος που χρησιμοποιείται για τον προσδιορισμό του γονότυπου της τρομώδους νόσου βασίζεται στην τεχνολογία multiplex real time PCR , όπου γίνεται η εξαγωγή του DNA μέσω εκχύλισης από τις απορροφητικές χάρτινες κάρτες (Whatman FTA ELUTE Micro Card) με τις κηλίδες αίματος και η γονοτύπηση με την καμπύλη τήξης Real-time PCR.



**Εικόνα 30:** Απορροφητική χάρτινη κάρτα (Whatman FTA ELUTE Micro Card) για δείγματα αίματος σε κηλίδες, (Από Γουδετσίδη Ιωάννη, 2023).

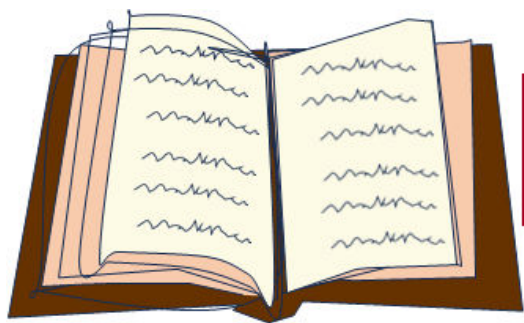


***Εικόνα 31:** Διεξαγωγή αιμοληψίας αμνών σε αιγοπροβατοτροφική μονάδα και τοποθέτηση κηλίδων αίματος σε χάρτινες κάρτες (Whatman FTA ELUTE Micro Cards). Οι δειγματοληψίες διενεργούνται βάσει του Ευρωπαϊκού Κανονισμού σε μονάδες της περιοχής, για την εξακρίβωση του γονότυπου σε ζώα αναπαραγωγής, (Από Γουδετσίδα Ιωάννη, 2023).*

Όλες οι επιβεβαιωτικές αναλύσεις (σε περίπτωση θετικού αποτελέσματος) πραγματοποιούνται στο Εθνικό Εργαστήριο Αναφοράς για την ΜΣΕ, Κτηνιατρικό Εργαστήριο Λάρισας στην Ελλάδα. Επίσης και η γονοτύπηση διεξάγεται σε αυτό το εργαστήριο, (ΥΠΑΑΤ, 2021).







## Κεφάλαιο 8

# ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

### ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

Acuna L., Hamadat S., Corbalán N.S., González-Lizárraga F., dos-Santos-Pereira M., Rocca J., a Sepúlveda Díaz J., Del-Bel E., Papy-García D., Chehín R.N., Michel P.P. and Raisman-Vozari R. Rifampicin and Its Derivative Rifampicin Quinone Reduce Microglial Inflammatory Responses and Neurodegeneration Induced In Vitro by  $\alpha$ -Synuclein Fibrillary Aggregates. (2019) *Cells*, 8, 776. DOI: 10.3390/cells8080776.

Ananda Sampaio Lamenha Falcão de Melo, et al. The role of microglia in prion diseases and possible therapeutic targets: a literature review. (2021) *Prion*, 15:1, 191-206, DOI: 10.1080/19336896.2021.1991771.

Ananda Sampaio Lamenha Falcão de Melo, Juliana Louise Dias Lima, Maria Carolina Silva Malta, Natália França Marroquim, Álvaro Rivelli Moreira, Isabelle de Almeida Ladeia, Fabrizio dos Santos Cardoso, Daniel Buzaglo Gonçalves, Bruna Guimarães Dutra & Júlio César Claudino dos Santos. The role of microglia in prion diseases and possible therapeutic targets: a literature review. (2021) *Prion*, 15:1, 191-206 DOI: 10.1080/19336896.2021.1991771.

Argyriadou A., Gelasakis A., Banos, G. and Arsenos G. Genetic improvement of indigenous Greek sheep and goat breeds. (2020) *Journal of the Hellenic Veterinary Medical Society*, 71(1): 2063-2072. DOI: org/10.12681/jhvms.22967.

Babelhadj B., Di Bari M.A., Pirisinu L., Chiappini B., Gaouar S.B.S., Riccardi G., Marcon S., Agrimi U., Nonno R., and Vaccari G. Prion disease in dromedary camels, Algeria. *Emerging Infect. Dis.* (2018) 24: 1029–1036. <https://doi.org/10.3201/eid2406.172007>.

Basima Abdulfatah. Presentation: Bovine Spongiform encephalopathy BSE, Mad Cow disease. (2011) College of Veterinary Medicine. Department of Internal Medicine & Preventive. University of Mosul.

Beckerman M. Introduction (2015) *Fundamentals of Neurodegeneration and Protein Misfolding Disorders*. Bio and Med Physics, Biomed Engin, 1: 1-26. DOI: 10.1007/978-3-319-22117-5\_1

- Beckerman M. Prion Diseases. (2015) *Fundamentals of Neurodegeneration and Protein Misfolding Disorders*. *Bio and Med Physics, Biomed Engin*, 7: 191-222. DOI 10.1007/978-3-319-22117-5\_7.
- Beckerman M. Protein Misfolding and Aggregation. (2015) *Fundamentals of Neurodegeneration and Protein Misfolding Disorders*. *Bio and Med Physics, Biomed Engin*, 4: 95-127. DOI 10.1007/978-3-319-22117-5\_4.
- Boukouvala E., Katharopoulos E., Christoforidou S., Babetsa M. and Ekateriniadou L. Analysis of the PRNP gene polymorphisms in healthy Greek sheep during 2012 – 2016. (2018) *Journal of the Hellenic Veterinary Medical Society*, 69(1), 839-846. <https://doi.org/10.12681/jhvms.16438>
- Brandner S. and Jaunmuktane Z. Prion disease: experimental models and reality. (2017) *Acta Neuropathol* 133: 197–222. <https://doi.org/10.1007/s00401-017-1670-5>.
- Breydo L., Redington J.M., Uversky V.N. Effects of Intrinsic and Extrinsic Factors on Aggregation of Physiologically Important Intrinsically Disordered Proteins. (2017) *Intern Rev of Cell and Mol Biol*, Vol 329: 145-185. <http://dx.doi.org/10.1016/bs.ircmb.2016.08.011>.
- Brown P. Environmentally Acquired Transmissible Spongiform Encephalopathy. (2013) *Prions and Diseases, Animals, Humans and the Environment*. Vol 2, 5: 73-88. DOI 10.1007/978-1-4614-5338-3\_5
- Brown P. Transmissible Spongiform Encephalopathy: From its Beginnings to Daniel Carlton Gajdusek. (2013). 1: 1-19. DOI 10.1007/978-1-4614-5305-5\_1
- Carroll J.A. and Chesebro Bruce. Neuroinflammation, Microglia, and Cell-Association during Prion Disease. (2019) *Viruses*, 11, 65. doi:10.3390/v11010065.
- Castle A.R. and Gill A.C. Physiological Functions of the Cellular Prion Protein. (2017) *Front. Mol. Biosci.* 4:19. doi: 10.3389/fmolb.2017.00019.
- Chen C. and Dong X. Therapeutic implications of prion diseases. (2021) *Biosafety and Health*, 3: 92–100. <http://dx.doi.org/10.1016/j.bsheal.2020.09.001>.
- Chiesa R. The Elusive Role of the Prion Protein and the Mechanism of Toxicity in Prion Disease. (2015) *PLoS Pathog* 11(5): e1004745. doi:10.1371/journal.ppat.1004745
- Corona C., Vallino Costassa E., Iulini B., Caramelli M., Bozzetta E., Mazza M., Desiato R., Ru G., Casalone C. Phenotypical Variability in Bovine Spongiform Encephalopathy: Epidemiology, Pathogenesis, and Diagnosis of Classical and Atypical Forms (2017) *Prog Mol Bio and Trans Sc*, Vol 150. 11: 241-265. <http://dx.doi.org/10.1016/bs.pmbts.2017.06.015>
- EFSA (European Food Safety Authority). The European Union summary report on surveillance for the presence of transmissible spongiform encephalopathies (TSE) in 2021. (2022) *EFSA Journal* 20(11): 7655, 63 pp. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2022.7655>

- Erana H., Venegas V., Moreno J., Castilla J. Prion-like disorders and Transmissible Spongiform Encephalopathies: An overview of the mechanistic features that are shared by the various disease-related misfolded proteins. *Biochemical and Biophysical Research Communications* (2017) 483: 1125-1136. <http://dx.doi.org/10.1016/j.bbrc.2016.08.166>
- Evans E.G.B. and Millhauser G.L. Copper- and Zinc-Promoted Interdomain Structure in the Prion Protein: A Mechanism for Autoinhibition of the Neurotoxic N-Terminus. (2017) *Prog Mol Bio and Trans Sc*, Vol 150. 2: 35-56. <http://dx.doi.org/10.1016/bs.pmbts.2017.06.005>.
- Fast C. and Groschup M.H. Classical and Atypical Scrapie in Sheep and Goats. (2013) *Animals, Humans and the Environment*, Vol 2. 2: 15-44. DOI 10.1007/978-1-4614-5338-3\_2. [CrossRef] [Springer]
- Fiorini M., Bongiani M., Monaco S., Zanusso G. Biochemical Characterization of Prions (2017) *Prog Mol Bio and Trans Sc*, Vol 150. 18: 389-407. <http://dx.doi.org/10.1016/bs.pmbts.2017.06.012>.
- Gambetti P. and Notari S. Human Sporadic Prion Diseases. (2013) *Prions and Diseases: Animals, Humans and the Environment*. Vol 2, 4: 59-72. DOI 10.1007/978-1-4614-5338-3\_4. [CrossRef] [Springer]
- Gandini A. and Bolognesi M.L. Therapeutic Approaches to Prion Diseases. (2017) *Prog Mol Bio and Trans Sc*, Vol 150. 20: 433-453. <http://dx.doi.org/10.1016/bs.pmbts.2017.06.013>.
- Hirsch T.Z., Martin-Lanner S. and Mouillet-Richard S. Functions of the Prion Protein. (2017) *Prog Mol Bio and Trans Sc*, Vol 150. 1: 1-34. <http://dx.doi.org/10.1016/bs.pmbts.2017.06.001>.
- Knight R. Infectious and Sporadic Prion Diseases. (2017) *Prog Mol Bio and Trans Sc*, Vol 150. 13: 293-318. <http://dx.doi.org/10.1016/bs.pmbts.2017.06.010>.
- Li B., Chen M. and Zhu C. Neuroinflammation in Prion Disease. (2021) *Int. J. Mol. Sci.* 22, 2196. <https://doi.org/10.3390/ijms22042196>
- Ma Y. and Ma J. Immunotherapy against Prion Disease. (2020) *Pathogens*, 9, 216. [doi:10.3390/pathogens9030216](https://doi.org/10.3390/pathogens9030216).
- Mabbott N.A. Immunology of Prion Protein and Prions (2017) *Prog Mol Bio and Trans Sc*, Vol 150. 10: 203-240. <http://dx.doi.org/10.1016/bs.pmbts.2017.06.004>.
- Marín-Moreno A., Fernández-Borges N., Espinosa J.C., Andreoletti O., Torres J.M. Transmission and Replication of Prions. (2017) *Prog Mol Bio and Trans Sc*, Vol 150. 9: 181-201. <http://dx.doi.org/10.1016/bs.pmbts.2017.06.014>. [CrossRef]
- Mathiason C.K. Scrapie, CWD, and Transmissible Mink Encephalopathy. (2017) *Prog Mol Bio and Trans Sc*, Vol 150. 12: 267-292. <http://dx.doi.org/10.1016/bs.pmbts.2017.07.009>.

- Millhauser G.L. The Rich Chemistry of the Copper and Zinc Sites in Cellular Prion Protein (2013) *Prions and Diseases: Phys and Pathoph* Vol 1, 2: 21-34. DOI 10.1007/978-1-4614-5305-5\_2. [CrossRef] [Springer]
- Miranzadeh Mahabadi H. and Taghibiglou C. Cellular Prion Protein (PrP<sup>c</sup>): Putative Interacting Partners and Consequences of the Interaction. (2020) *Int. J. Mol. Sci.*, 21(19), 7058. doi.10.3390/ijms21197058.
- Moda F. Protein Misfolding Cyclic Amplification of Infectious Prions. (2017) *Prog Mol Bio and Trans Sc*, Vol 150. 16: 361-374. <http://dx.doi.org/10.1016/bs.pmbts.2017.06.016>.
- Mouillet-Richard S., Ghazi A. and Laurent-Puig P. The Cellular Prion Protein and the Hallmarks of Cancer. (2021) *Cancers*, 13, 5032. <https://doi.org/10.3390/cancers13195032>.
- Orge L., Lima C., Machado C., Tavares P., Mendonça P., Carvalho P., Silva J., Pinto M.d.L., Bastos E., Pereira J.C., et al. Neuropathology of Animal Prion Diseases. (2021) *Biomolecules*, 11, 466. <https://doi.org/10.3390/biom11030466>
- Priola S.A. Species Barriers in Prion Disease. (2013) *Prions and Diseases, Animals, Humans and the Environment*. Vol 2, 9: 139-154. DOI 10.1007/978-1-4614-5338-3\_9.
- Prusiner S. B. Novel proteinaceous infectious particles cause scrapie. *Science*. (1982) 216: 135-144.
- Prusiner S.B. Molecular biology of prion diseases. (1991) *Science*, 252:1515–1522.
- Prusiner S.B. Some speculations about prions, amyloid, and Alzheimer's disease. (1984) *N. Engl. J. Med.* 310: 661-663.
- Prusiner, S. B. Neurodegenerative diseases and prions, Shattuck lecture. (2001) *N Engl J Med*, Vol. 344, No. 20. 01. [www.nejm.org](http://www.nejm.org).
- Prusiner, S. B. Nobel Lecture. (1997) *Science* 278, 245–251. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* Vol. 95, 13363–13383.
- Prusiner, S. B., Bolton, D. C., Groth, D. F., Bowman, K. A., Cochran, S. P. & McKinley, M. P. (1982) *Biochemistry* 21, 6942–6950.
- Ritchie D.L. and Ironside J.W. Neuropathology of Human Prion Diseases. (2017) *Prog Mol Bio and Trans Sc*, Vol 150. 14: 319-339. <http://dx.doi.org/10.1016/bs.pmbts.2017.06.011>.
- Rossetti G. and Carloni P. Structural Modeling of Human Prion Protein's Point Mutations. (2017) *Prog Mol Bio and Trans Sc*, Vol 150. 5: 105-122. <http://dx.doi.org/10.1016/bs.pmbts.2017.07.001>. [CrossRef]
- Saborio, G.P., B. Permanne, and Soto C. Sensitive detection of pathological prion protein by cyclic amplification of protein misfolding. (2001) *Nature*, 2001. 411(6839): 810-3.
- Sae-Young Won, Yong-Chan Kim and Byung-Hoon Jeong. First Report of the Potential Bovine Spongiform Encephalopathy (BSE)-Related Somatic Mutation

E211K of the Prion Protein Gene (PRNP) in Cattle. (2020) *Int. J. Mol. Sci.* 21: 4246. doi:10.3390/ijms21124246

Salta E., et al. Evaluation of the possible transmission of BSE and scrapie to gilthead sea bream (*Sparus aurata*). (2009) *PLoS One*, 4(7): e6175.

Servello A., Leccese V. and Ettore E. Natural Products for Neurocognitive Disorders. (2020) *Alzheimer's Disease: Drug Discovery. Natural Products for Neurocognitive Disorders* 12: 205-220. <https://doi.org/10.36255/exonpublications.alzheimersdisease.2020>.

Sim V.L. Prion Disease: Chemotherapeutic Strategies. (2012) *Infectious Disorders – Drug Targets*, Vol 12, 144-160.

Telling G. Chronic Wasting Disease and the Development of Research Models (2013) *Prions and Diseases, Animals, Humans and the Environment*. Vol 2, 3: 45-57. DOI 10.1007/978-1-4614-5338-3\_3

Teruya K. and Doh-ura K. Insights from Therapeutic Studies for PrP Prion Disease. (2017) *Cold Spring Harb Perspect Med*, 7:a024430. doi: 10.1101/cshperspect.a024430.

Vallabh Minikel E., Zhao H.T., Le J., O'Moore J., Pitstick R., Graffam S, Carlson G.A., Kavanaugh M.P., Kriz J., Beom Kim J., Ma J., Wille H., Aiken J., McKenzie D., Doh-ura K., Beck M., O'Keefe R., Stathopoulos J., Caron T., Schreiber S.L, Carroll J.B., Kordasiewicz H.B., Cabin D.E. and Vallabh S.M. Prion protein lowering is a disease-modifying therapy across prion disease stages, strains and endpoints. (2020) *Nucleic Acids Research*, Vol. 48, No. 19: 10615–10631. doi: 10.1093/nar/gkaa616.

Vázquez-Fernández E., Young H.S., Requena J.R., Wille H. The Structure of Mammalian Prions and Their Aggregates. (2017) *Intern Rev of Cell and Mol Biol*, Vol 329. 7: 277-301. <http://dx.doi.org/10.1016/bs.ircmb.2016.08.013>. [CrossRef] [ScienceDirect]

Vojdani A. and Bautista J. Intestinal and Blood-Brain Barrier: Interface between Health and Diseases. (2012) *Funct Neurol Rehabil Ergon* Vol.2(3): 275-295.

Whitechurch B.C., Welton J.M., Collins S.J. and Lawson V.A. Prion Diseases (2017) *Book of Neurodegenerative Diseases - Pathology, Mechanisms, and Potential Therapeutic Targets*. *Adv in Neurobio* Vol 15. *Pr Dis* 13: 335-364. DOI 10.1007/978-3-319-57193-5\_13. [CrossRef][Springer]

Xin W., Sy Man-sun and Li C. Cellular Prion Protein and Cancers. (2013) *Prions and Diseases: Phys and Pathoph* Vol 1, 4: 49-66. DOI 10.1007/978-1-4614-5305-5\_4 [CrossRef] [Springer]

Yamasaki T., Suzuki A., Hasebe R., Horiuchi M. Comparison of the Anti-Prion Mechanism of Four Different Anti-Prion Compounds, Anti-PrP Monoclonal Antibody 44B1, Pentosan Polysulfate, Chlorpromazine, and U18666A, in Prion-Infected Mouse Neuroblastoma Cells. (2014) *PLoS ONE* 9(9): e106516. doi:10.1371/journal.pone.0106516.

Yousaf S., Ahmad M., Wu S., Zia M.A., Ahmed I., Iqbal H.M.N., Liu Q., Rehman, S.u. Cellular Prion Protein Role in Cancer Biology: Is It A Potential Therapeutic Target? (2022) *Biomedicines*, 10, 2833. <https://doi.org/10.3390/biomedicines10112833>.

Zanusso G. and Monaco S. Bovine Spongiform Encephalopathy (2013) *Prions and Diseases: Volume 2, Animals, Humans and the Environment*. (2013) 1: 1-13. DOI 10.1007/978-1-4614-5338-3\_1. [CrossRef] [Springer]

### **Ελληνική Βιβλιογραφία**

KIOUTSIUKIS, C., PAPADOGIANNAKIS, E., PALASKA, V., KONTOS, V., PAPAΚOSTAKI, D., PARASKEVA, S., & VASSALOU, E. Prion protein gene polymorphisms in classical scrapie-affected flocks of sheep in Central Macedonia. (2018) *Journal of the Hellenic Veterinary Medical Society*, 69(2), 931-940. doi:<https://doi.org/10.12681/jhvms.18015>.

ΥΠΑΑΤ. Πρόγραμμα Επιτήρησης, Ελέγχου και Εξάλειψης των Μεταδοτικών Σπογγωδών Εγκεφαλοπαθειών (ΜΣΕ) στα μικρά μηρυκαστικά για το έτος 2021.

ΥΠΑΑΤ. Πρόγραμμα Επιτήρησης, Ελέγχου και Εξάλειψης της Σπογγώδους Εγκεφαλοπάθειας των Βοοειδών (ΣΕΒ) για το έτος 2021.

ΥΠΑΑΤ. Εγχειρίδιο οδηγιών εφαρμογής του προγράμματος επιτήρησης, ελέγχου και εξάλειψης των μεταδοτικών σπογγωδών εγκεφαλοπαθειών στα μικρά μηρυκαστικά. (2013) Υπουργείο Αγροτικής Ανάπτυξης και Τροφίμων, Γενική Διεύθυνση Κτηνιατρικής. Διεύθυνση Υγείας των Ζώων, Τμήμα Λοιμωδών και Παρασιτικών Νοσημάτων.

ΥΠΑΑΤ. Εγχειρίδιο οδηγιών εφαρμογής του προγράμματος επιτήρησης, ελέγχου και εξάλειψης των μεταδοτικών σπογγωδών εγκεφαλοπαθειών των βοοειδών. (2009) Υπουργείο Αγροτικής Ανάπτυξης και Τροφίμων, Γενική Διεύθυνση Κτηνιατρικής. Διεύθυνση Υγείας των Ζώων, Τμήμα Λοιμωδών και Παρασιτικών Νοσημάτων.

### **Ιστότοποι**

[www.efsa.europa.eu/efsajournal](http://www.efsa.europa.eu/efsajournal), doi: 10.2903/j.efsa.2022.7655

[www.oie.int/wahis](http://www.oie.int/wahis)

[www.oie.int/eng/normes/mmanual](http://www.oie.int/eng/normes/mmanual)

[www.aai.org/About/History/Notable-Members/Nobel-Laureates/StanleyBPrusiner](http://www.aai.org/About/History/Notable-Members/Nobel-Laureates/StanleyBPrusiner)

[www.nobelprize.org/prizes/medicine/1997/summary](http://www.nobelprize.org/prizes/medicine/1997/summary)

[www.cjd.ed.ac.uk](http://www.cjd.ed.ac.uk)