

# Postęp w badaniach nad barierą gatunkową w chorobach prionowych u ludzi i zwierząt

ANDRZEJ SALWA, ADAM IWANICKI\*

Zakład Higieny Weterynaryjnej, ul. Kaprów 10, 80-316 Gdańsk

\*Katedra Biologii Molekularnej Wydziału Biologii, Geografii i Oceanologii Uniwersytetu Gdańskiego, ul. Kładki 24, 80-822 Gdańsk

Salwa A., Iwanicki A.

## Advances in research on the species barrier in human and animal prion diseases

### Summary

Prion diseases are progressive and fatal neurodegenerative disorders in humans and animals and involve conformational conversion of cellular prion proteins (PrP<sup>C</sup>) into the pathological isoform (PrP<sup>Sc</sup>). The article presents experiments in transgenic animals, tissue culture cells, sequential analysis and NMR of PrP<sup>C</sup> measurements carried out in order to identify the region in the PrP<sup>C</sup> important for PrP<sup>Sc</sup> formation. These studies have all revealed that the degree of homology between secondary structures in the middle third PrP<sup>C</sup> molecule in particular animals' is crucial in destroying the species barrier in prion diseases.

**Keywords:** prion diseases, PrP<sup>C</sup>, PrP<sup>Sc</sup>

Wystąpienie w latach 80. w Anglii i niektórych krajach europejskich gąbczastej encefalopatii bydła (BSE) karmionego mączkami mięsno-kostnymi, wyprodukowanymi z padłych zwierząt lub owiec chorych na scrapie, zwróciło szczególną uwagę na możliwość przenoszenia się gąbczastych encefalopatii na człowieka i inne gatunki zwierząt (8, 16, 24). Z dotychczasowych badań i obserwacji nad występowaniem chorób wywołanych przez priony wynika, że przeniesienie czynnika zakaźnego na inny gatunek w warunkach naturalnych nastąpiło w przypadku choroby scrapie u owiec, gąbczastej encefalopatii bydła (BSE), gąbczastej encefalopatii kotowatych (FSE), gąbczastej encefalopatii kopytnych egzotycznych (EUE) oraz choroby Creutzfeldta-Jacoba (CJD) u ludzi (6, 8, 9). Przypuszczalnie występująca w USA zakaźna encefalopatia norek (TME) miała swoje źródło w karmieniu tych zwierząt paszami zawierającymi infekcyjne priony od owiec chorych na scrapie (12). Niewyjaśnione pozostaje źródło pochodzenia czynnika zakaźnego, wywołującego chroniczną chorobę wyniszczającą u losi i jeleni (CWD) na terenie stanu Colorado i Wyoming w USA (29). Natomiast w warunkach eksperymentalnych zakażenie prionami udało się przenieść na wiele gatunków zwierząt (4, 6, 11, 21). Poznane doświadczalnie możliwości w tym zakresie przedstawia tab. 1. Najskuteczniejszą drogą zakażenia okazała się iniekcja domózgowa, a następnie droga dożylna oraz podskórna. Najmniej efektywne było zakażenie drogą pokarmową. Istotny jest natomiast fakt, że u niektórych gatunków zwierząt nie udało się wywołać choroby, mimo stosowania różnych dróg i sposobów zakażenia.

Ze względu na istotne znaczenie poznawcze i praktyczne problemu zakażeń międzygatunkowych w chorobach prionowych, w niniejszym opracowaniu przedstawiono przegląd niektórych aspektów molekularnych tego zagadnienia z uwzględnieniem badań wykonanych na zwierzętach transgenicznych.

Tab. 1. Gatunki zwierząt, na które przeniesiono czynnik zakaźny drogą zakażenia eksperymentalnego

Gatunek zwierzęcia	Choroba prionowa				
	CDJ	Scrapie	Kuru	TME	BSE
Owca	-	+	-	+	+
Krowa	bd	+	nb	+	+
Świnia	-	+	nb	nb	+
Norka	-	+	-	+	+
Kot	+	+	-	-	+
Pies	-	-	nb	-	-
Królik	-	-	-	-	-
Kura	-	-	nb	-	-
Szympan	+	-	+	+	+
Makak	-	-	+	-	nb
Gibon	-	-	+	-	nb
Mysz	+	+	-	-	+
Chomik	+	+	-	+	-

Objaśnienia: + wynik dodatni zakażenia, - wynik ujemny, nb - nie badano, bd - brak danych (wg 4, 6, 11, 16)

W 1960 r. w Anglii Patison i wsp. (14) zaobserwowali, że w trakcie prób przeniesienia choroby scrapie z owiec na inne gatunki zwierząt, czas od momentu zakażenia do wystąpienia objawów chorobowych u nowego gatunku jest znacznie przedłużony w porównaniu z czasem inkubacji u gatunku, z którego przeniesiono czynnik zakaźny. Stwierdzono również, że kolejne pasażę powodują skrócenie czasu inkubacji choroby. Zmiany histopatologiczne w tkance mózgowej w pierwszym pasażu, aczkolwiek analogiczne w swoim wyglądzie, były mniej nasilone i różniły się wielkością (2, 17). Zjawisko to określono jako barierę gatunkową będącą „swoistą odpornością” u nowo zakażonego gatunku. Skrócenie zaś czasu inkubacji po kolejnych pasażach tłumaczone jest przełamaniem tej bariery.

Poznanie niektórych aspektów chemicznej i fizycznej struktury czynnika etiologicznego wywołującego chorobę prionową oraz użycie zwierząt transgenicznych dostarczyło danych, które mogą rzucić światło na złożone i w znacznej mierze niewyjaśnione jeszcze zjawiska molekularne i epidemiologiczne. Zgodnie z hipotezą Prusiner (16, 17), wystąpienie choroby prionowej związane jest z pojawieniem się w komórce nerwowej obok normalnego białka PrP<sup>C</sup> patologicznej izoformy PrP<sup>Sc</sup>, odpornej na działanie proteaz. Powstawanie PrP<sup>Sc</sup> może być wyrazem samoistnej posttranslacyjnej przestrzennej konwersji białka w PrP<sup>Sc</sup>. Może być także wynikiem bezpośredniego oddziaływania PrP<sup>C</sup> z PrP<sup>Sc</sup> wprowadzonego do komórki nerwowej z zewnątrz. Białko patologiczne może również powstawać w wyniku pojawienia się różnych mutacji

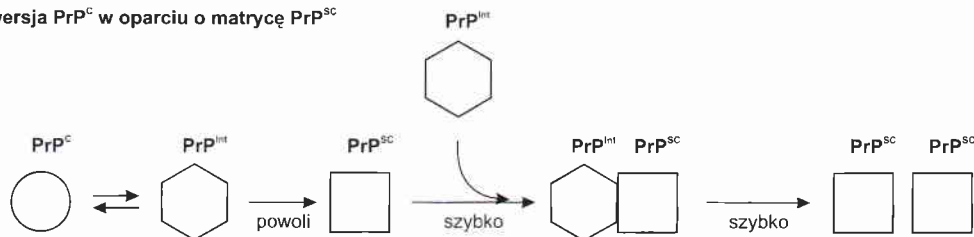
w genie Prnp kodującym białko komórkowe PrP<sup>C</sup>. Efektem tych mutacji jest zmiana sekwencji aminokwasowej powstałego białka, a co za tym idzie, również jego struktury. Przykładem takiej mutacji jest substytucja kwasu glutaminowego na lizynę w kodonie 200 genu Prnp. Mutację taką wykryto w populacji ludzi z chorobą CJD zamieszkałych w Słowacji, Izraelu i Chile (16).

Stwierdzono, że występujące właściwości białek prionowych są prawidłowością wynikającą z ich struktury drugo- i trzeciorzędowej. W strukturze komórkowej izoformy białka PrP<sup>C</sup> wyróżnia się: 38%  $\alpha$ -helis, 14%  $\beta$ -struktury, 27% skrętów i 22% nieuporządkowanych zwoi (13). W przypadku powstania PrP<sup>Sc</sup> w łańcuchu polipeptydowym dochodzi do zwiększenia się obszarów  $\beta$ -struktury aż do 38%, z równoczesnym zmniejszeniem się regionów  $\alpha$ -helis do 19%. Odkładanie się białka patologicznego w postaci amyloidu powoduje stopniową dysfunkcję komórki, a następnie jej zniszczenie i śmierć. Mechanizm konwersji i gromadzenia się patologicznego białka w komórce jest wyjaśniany za pomocą dwóch modeli (ryc. 1). Pierwszy model konwersji zaproponowany przez Prusiner (17) i Weissmanna (27) zakłada, że PrP<sup>Sc</sup> po połączeniu się z PrP<sup>C</sup> wymusza zmianę jego struktury przestrzennej, w wyniku czego powstają kompleksy heterodimerów PrP<sup>Sc</sup>.

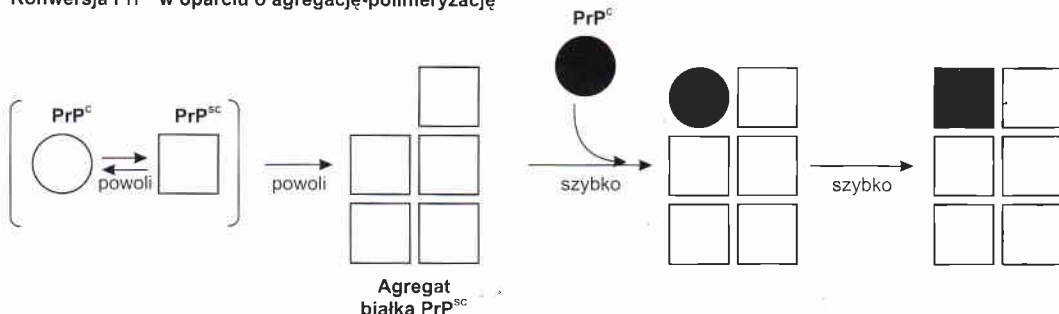
Przyjmuje się, że białko PrP<sup>Sc</sup> jest izoformą mniej stabilną niż PrP<sup>C</sup> oraz że zmiana konformacyjna może być procesem odwracalnym w przypadku braku agregatów białka patologicznego. Drugi model tzw. polimeryzacji jądrowej zakłada, że PrP<sup>Sc</sup> jest izoformą

bardziej stabilną od formy komórkowej. Stan ten prawdopodobnie jest kinetycznie nieosiągalny dla białka normalnego. Dlatego, uważa się, że PrP<sup>Sc</sup> może katalizować konwersję PrP<sup>C</sup> lub też inicjować pojawienie się częściowo już zdestabilizowanej formy pośredniej (27). Zgodnie z tym modelem, aktywność konwertująca PrP<sup>Sc</sup> zapoczątkowuje nagromadzenie się białka patologicznego poprzez dołączanie się cząsteczek PrP<sup>C</sup> do rozrastających się złożeń amyloidu. Oba te mechanizmy nie wykluczają się i jest bardzo możliwe, że podczas konwersji białek komórkowych izoform patologicznych przemiany struktury zachodzą

Konwersja PrP<sup>C</sup> w oparciu o matrycę PrP<sup>Sc</sup>



Konwersja PrP<sup>C</sup> w oparciu o agregację-polimeryzację



Ryc. 1. Schemat powstawania i gromadzenia się białek PrP<sup>Sc</sup> w komórce

Objaśnienia: PrP<sup>C</sup> – normalne białko prionowe, PrP<sup>Sc</sup> – zakaźne białko prionowe, PrP<sup>Int</sup> – forma pośrednia białka prionowego (wg 16, 25)

zgodnie z oboma mechanizmami. W świetle badań DebBurmana i wsp. (5) powstające agregaty białka PrP<sup>Sc</sup> mogą powodować uaktywnienie się tzw. białek chaperonowych (opiekuńczych), których zadaniem jest zapobieganie powstawaniu tego typu struktur. Aktywność białek chaperonowych, określanych jako GroEL oraz Hsp 104, może w pewnych warunkach indukować konwersję PrP<sup>C</sup> do PrP<sup>Sc</sup>. Tempo konwersji może wzrastać, jeżeli PrP<sup>Sc</sup> ulega częściowej denaturacji. Z kolei ta częściowa denaturacja PrP<sup>Sc</sup> umożliwia oddziaływanie z białkiem PrP<sup>C</sup> na etapie różnych intermediatów konformacyjnych, co jednocześnie wpływa na zwiększenie zdolności infekcyjnych cząsteczek białka prionowego. Przy omawianiu mechanizmów tworzenia się PrP<sup>Sc</sup> należy wspomnieć także o hipotezie zakładającej udział w konwersji strukturalnej jakiegoś nieznanego białka, określanego mianem białka X (7). Hipotezę tę wspierają doświadczenia tych autorów z użyciem transgenicznych myszy eksprymujących prionowy gen chomika syryjskiego. Myszy te były wrażliwe na zakażenie chemicznymi białkami prionowymi, podczas gdy zakażenie myszy eksprymujących ludzki gen kodujący białko prionowe nie przyniosło efektu. Pojawiła się natomiast ich wrażliwość na zakażenie ludzkimi prionami. Fakty te mogą wskazywać na udział jakiegoś innego białka, określanego jako białko X, w procesie formowania się białka PrP<sup>Sc</sup>. Przyjmuje się, że wiązanie PrP<sup>C</sup> do białka X może zachodzić prawdopodobnie dzięki obecności specyficznych miejsc zlokalizowanych w obrębie sekwencji aminokwasowych C-końcowym białka PrP<sup>C</sup>. Zaobserwowano również, że zmiana aminokwasów w pozycji 214 lub 218 może zapobiegać konwersji mysiego PrP<sup>C</sup> do PrP<sup>Sc</sup>. Aminokwasy te biorą udział w formowaniu powierzchni  $\alpha$ -helisy białka, tworząc jeden epitop wraz z resztami aminokwasowymi w pozycji 171 i 176 (5). Dodatkowo stwierdzono, że zmiana aminokwasów w pozycji 167 lub 218 także może zapobiec formowaniu PrP<sup>Sc</sup>.

Szczególne znaczenie dla wyjaśnienia mechanizmu bariery gatunkowej mają wnikliwe badania modelowe na myszach transgenicznych wykonane przez Scotta i wsp. (19). Autorzy ci w przeprowadzonym doświadczeniu użyli czterech odrębnych grup myszy, którym do genomu komórek nerwowych wprowadzono różną liczbę kopii genu chomika kodującego PrP<sup>C</sup>. W wyniku tego w komórkach zwierząt zachodziła ekspresja zarówno mysiego, jak i chemicznego genu Prpn. Myszy te następnie zakażono chemicznym prionem Sha Sc237. Wykazano, że wszystkie zakażone zwierzęta zachorowały z objawami encefalopatii, przy czym okres inkubacji od momentu zakażenia do pojawienia się objawów klinicznych choroby w poszczególnych grupach zwierząt był różny i wahał się od 70 do 560 dni. Analiza wyników wykazała, iż czas inkubacji choroby u tych zwierząt był odwrotnie proporcjonalny do ilości wcześniej wytworzonego w komórkach chemicznego białka PrP<sup>C</sup>. W grupie kontrolnej myszy kon-

wencjonalnych objawy choroby wystąpiły tylko u niektórych zwierząt i to dopiero po 600 dniach od czasu zakażenia. W następnym etapie doświadczenia grupę myszy transgenicznych oraz grupę myszy i chomików nietransformowanych zakażono mysim szczepem Mo PrP<sup>Sc</sup>. Objawy kliniczne choroby stwierdzono w obu grupach myszy już po 70 dniach, podczas gdy u chomików nie doszło do zakażenia.

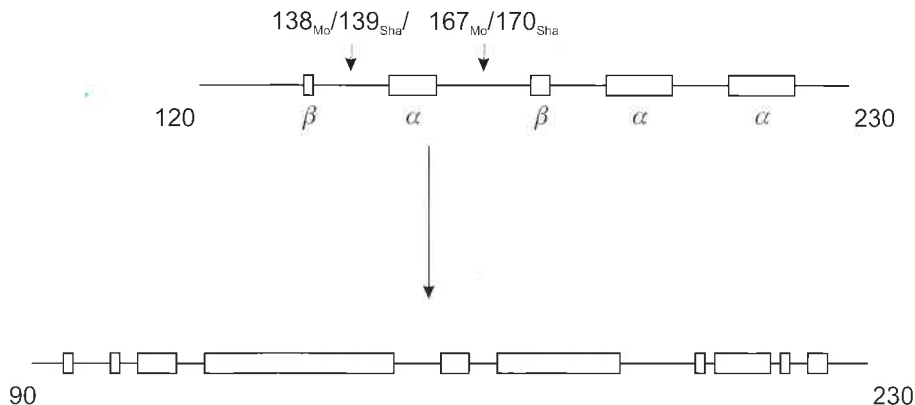
Z opisu tych eksperymentów jednoznacznie wynika, że tworzenie się PrP<sup>Sc</sup> w komórkach nerwowych jest ściśle związane ze stopniem homologii między białkiem normalnym a patologicznym. O znaczeniu PrP<sup>C</sup> w powstawaniu choroby prionowej świadczą badania na myszach transgenicznych, którym z DNA usunięto gen Prpn (3). Zaobserwowano, że u tych zwierząt, mimo wielokrotnych prób zakażenia prionami Mo PrP<sup>Sc</sup>, nie udało się wywołać choroby. Dalsze badania pozwoliły ustalić, że za przełamanie bariery gatunkowej odpowiedzialny jest środkowy odcinek sekwencji aminokwasowej PrP<sup>C</sup>. Opisane przez Scotta i wsp. (19) badania wykazały, że bariera w układzie mysz-chomik kontrolowana jest przez odcinek genu Prpn między 138. a 169. kodonem. Można tu też przytoczyć wyniki doświadczenia Tellinga i wsp. (22, 23). Badacze ci do genomu komórek nerwowych myszy wkłoniwali zrekombinowany gen Prpn, zawierający wewnątrz środkową część sekwencji genu ludzkiego, otoczonego z obu stron odcinkami genu mysiego. U tych myszy zachodziła ekspresja chimerowego białka PrP<sup>C</sup> (254 aminokwasy). Następnie, po zakażeniu myszy transformowanych i kontrolnych Hu PrP<sup>Sc</sup> pochodzącym od ludzi zmarłych na CJD zaobserwowano zachorowania tylko u zwierząt wytwarzających białko chimerowe.

Dopiero analiza całych sekwencji aminokwasowych normalnego PrP<sup>C</sup>, pochodzących od kilkunastu różnych gatunków zwierząt, ujawniła znaczną zmienność aminokwasów (29). Wykazano m.in., że różnica ta między białkiem chemicznym a mysim dotyczyła 16 aminokwasów (91,3% homologii), między białkiem owcy a bydła wynosiła 7 aminokwasów (97,3%), zaś między białkiem bydła a człowieka – aż 30 aminokwasów (89,3%). Natomiast największą zmienność aminokwasów stwierdzono w obrębie środkowych sekwencji, najniższą zaś w regionach C- i N-końcowych.

Dalsze interesujące badania *in vitro* z wykorzystaniem transformowanych komórek neuroblastoma pobranych od ludzi i następnie zakażonych bydłem PrP<sup>Sc</sup> wykazały, że mimo małego stopnia podobieństwa między I-rzędową strukturą ludzkiego PrP<sup>C</sup> a bydłowego PrP<sup>Sc</sup> dochodziło do zwiększonej ekspresji PrP<sup>Sc</sup> (15). Ilość wytwarzanego zakaźnego białka w komórkach nie była w tym przypadku skorelowana z syntetyzowanym białkiem PrP<sup>C</sup>. Wyniki tych badań sugerowały, że w przekształceniu PrP<sup>C</sup> w postać zakaźną uczestniczą jeszcze inne czynniki.

Wnikliwe studia nad strukturą przestrzenną PrP<sup>C</sup> u kilkunastu ssaków w oparciu technikę magnetycz-

nego rezonansu jądrowego (MNR) prowadzili Billeter i wsp. (1), Riek i wsp. (18) oraz Warwicker (26). Do analizy wybrano tylko środkowy fragment łańcucha polipeptydowego obejmującego sekwencje aminokwasów w pozycjach od 124 do 226. W obrębie tego fragmentu znajdują się odcinki łańcucha polipeptydowego uformowane w  $\alpha$ -helisy i  $\beta$ -struktury. Porównanie tych sekwencji wskazało, że reszty aminokwasowe różniły się aż w 18 pozycjach. Występujące różnice podzielono na 4 klasy. Do klasy pierwszej zaliczono aminokwasy umiejscowione w centralnej części analizowanej cząsteczki białka (pozycja 164, 166, 168 i 170) oraz w dalszym jej odcinku C-końcowym (pozycja 215, 219, 220 oraz 223). Sklasyfikowane w tej grupie aminokwasy uczestniczą w formowaniu struktury przestrzennej między pierwszą  $\beta$ -strukturą a drugą  $\alpha$ -helisą cząsteczki PrP<sup>C</sup>. Regiony te odpowiedzialne są za oddziaływania między PrP<sup>C</sup> i PrP<sup>Sc</sup>. Zmiany w tych pozycjach mogą powodować zmiany ładunku elektrostatycznego poszczególnych reszt, co z kolei może wpływać na efektywność rozpoznawania międzycząsteczkowego. Uważa się także, iż aminokwasy należące do tej klasy oddziałują ze wspomnianym powyżej hipotetycznym białkiem X. W klasie drugiej znalazły się hydrofobowe aminokwasy: izoleucyna, leucyna, metionina i walina, umiejscowione na początku pierwszej  $\alpha$ -helisy i wewnątrz dwóch kolejnych  $\alpha$ -helis. W przeciwieństwie do klasy pierwszej, reszty te nie są zaangażowane w oddziaływania międzycząsteczkowe. Związane jest to z brakiem ładunku elektrostatycznego oraz tworzeniem wiązań wodorowych. W klasie trzeciej występują aminokwasy zajmujące pozycje 143, 145 i 155 na początku i końcu pierwszej  $\alpha$ -helisy. Aminokwasy te zawierają boczny pierścień aromatyczny, co z kolei określa ich stosunkowo duży potencjał elektrostatyczny, który może destabilizować wiązania wodorowe, a tym samym predysponuje je do zmian konformacyjnych cząsteczki PrP<sup>C</sup>. Z kolei do klasy trzeciej zaliczono tylko jedną resztę: glutaminę (pozycja 186) występującą w cząsteczce PrP<sup>C</sup> u bydła wewnątrz drugiej  $\alpha$ -helisy. W wyniku zastąpienia tego aminokwasu resztą kwasu glutaminowego następuje w tym regionie zmiana ładunku dodatniego na ujemny. Wpływa to na przerwanie powiązań przestrzennych reszt aminokwasowych należących do klasy pierwszej i trzeciej. Wyniki tych analiz potwierdzają uzyskane wcześniej rezultaty badań Tellinga i wsp. (23) przeprowadzone na myszach chimerach. Wskazują one, że w łańcuchu PrP<sup>C</sup> występują miejsca szczególnie predysponowane do łączenia się polipeptydu z innymi białkami, w tym z hipotetycznym białkiem X. Miejsca te znajdują się w obrębie sekwencji między pozycją 96 a 167. Zjawisko



Ryc. 2. Schemat zmiany struktury II-rzędowej środkowego regionu natywnego białka PrP<sup>C</sup> podczas konwersji do zakaźnej formy białka PrP<sup>Sc</sup>  
 Objasnienia: Cyfry oznaczają sekwencję aminokwasów w PrP<sup>C</sup>. Mo – mysz, Sha – chomik, □ – struktura  $\alpha$ -helikalna, □ –  $\beta$ -struktura (wg 10, 15)

zmiany konformacyjnej PrP<sup>C</sup> w PrP<sup>Sc</sup> ilustrują badania wykonane *in vivo* i *in vitro* przez Kocisko i wsp. (10) oraz Priolę i Chesebro (15). W eksperymentach tych wykazano, że do przełamania bariery między chomikiem a myszą może dojść w wyniku zastąpienia aminokwasów w pozycji 139 (metionina → izoleucyna), 155 (asparagina → tyrozyna) oraz 170 (asparagina → seryna) (ryc. 2). Według Rieka i wsp. (18) zjawisko to jest uwarunkowane wstępną zmianą konformacji przestrzennej po połączeniu się PrP<sup>C</sup> z PrP<sup>Sc</sup> lub w wyniku oddziaływania białka X.

Reasumując należy stwierdzić, że istnienie bariery gatunkowej związane jest z występowaniem różnic w strukturze przestrzennej łańcucha PrP<sup>C</sup> u poszczególnych ssaków. Zdeterminowane jest to dużą zmiennością reszt aminokwasowych odpowiedzialnych za formowanie powierzchni białka oraz tworzenie specyficznych miejsc oddziaływań pomiędzy cząsteczkami białkowymi. Obecnie duże znaczenie przypisuje się pracom nad modyfikacjami PrP<sup>C</sup> podczas posttranslacyjnego dojrzewania cząsteczki białka, jak: glikolizacja reszt aminokwasowych w centralnej części łańcucha, tworzenie mostka dwusiarczkowego (S-S) pomiędzy resztami cysteiny, a także roli N-końcowego peptydu sygnałowego (20, 24). Na podstawie tych danych można przypuszczać, że dopiero takie zmodyfikowanie łańcucha białka PrP<sup>C</sup> spowoduje przerwanie i załamanie się struktury  $\alpha$ -helikalnej. Nie można także wykluczyć, że pomiędzy poszczególnymi gatunkami istnieją różnice w natężeniu oddziaływań międzycząsteczkowych odpowiedzialnych za utrzymanie struktury drugo-, trzecio- i czwartorzędowej białka.

## Piśmiennictwo

1. Billeter M., Riek R., Wider G., Hornemann S., Glockshuber R., Wuthrich K.: Prion protein NMR structure and species barrier for prion diseases. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 1997, 94, 7281-7285.
2. Bruce M., Chree A., McConnell I., Foster J., Pearson G., Fraser H.: Transmission of bovine spongiform encephalopathy and scrapie to mice: strain variation and the species barrier. Phil. Trans. R. Soc. Lond. B. 1994, 343, 405-411.
3. Büeler H., Aguzzi A., Sailer A., Greiner R. A., Autenried P., Aguet M., Weissmann C.: Mice devoid of PrP are resistant to scrapie. Cell. 1993, 73, 1329-1347.

4. Dealler S. F., Lacey R. W.: Suspect vertical transmission of BSE. *Vet. Rec.* 1994, 134, 151-152.
5. DebBurman S. K., Raymond G. J., Caughey B., Lindquist S.: Chaperone-supervised conversion of prion protein to its protease-resistant form. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 1997, 94, 13938-13943.
6. Foster J. D., Hope J., Fraser H.: Transmission of bovine spongiform encephalopathy to sheep and goats. *Vet. Rec.* 1993, 133, 339-341.
7. Kaneko K., Zulianello L., Scott M., Cooper C. M., Wallace A. C., James T. L., Cohen F. E., Prusiner S. B.: Evidence for protein X binding to a discontinuous epitope on the cellular prion protein during scrapie prion propagation. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 1997, 94, 10069-10074.
8. Kimberlin R. H.: Bovine spongiform encephalopathy. *Rev. sci. tech.* 1992, 11, 605-634.
9. Kirkwood J. K., Cunningham A. A.: Epidemiological observations on spongiform encephalopathies in captive wild animals in the British Isles. *Vet. Rec.* 1994, 135, 296-303.
10. Kocisko D. A., Priola S. A., Raymond G. J., Chesebro B., Lansbury P. T., Caughey B.: Species specificity in the cell-free conversion of prion protein to protease-resistant forms: a model for the scrapie species barrier. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 1995, 92, 3923-3927.
11. Lacey R. W., Dealler S. F.: Vertical transfer of prion disease. *Hum. Reprod.* 1994, 9, 1792-1796.
12. Marsh R. F., Hadlow W. J.: Transmissible mink encephalopathy. *Rev. sci. tech.* 1992, 11, 539-550.
13. Pan K. M., Baldwin M., Nguyen J., Gasset M., Serban A., Groth D., Melhorn I., Huan Z., Fletterick R. J., Cohen F. E.: Conversion of alpha-helices into beta-sheets features in the formation of the scrapie prion proteins. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 1993, 90, 10962-10966.
14. Patison I. H., Millson G. C.: Further observations on the experimental production of scrapie in goats and sheep. *J. Comp. Path.* 1960, 70, 182-192.
15. Priola S. A., Chesebro B. A.: Single hamster PrP amino acid blocks conversion to protease-resistant PrP in scrapie-infected mouse neuroblastoma cells. *J. Virol.* 1995, 69, 7754-7758.
16. Prusiner S. B.: Molecular biology of prion diseases. *Science* 1991, 252, 1515-1522.
17. Prusiner S. B., Torchia M., Westaway D.: Molecular biology and genetics of prions implication for sheep scrapie, mad cows and the BSE epidemic. *Cornell Vet.* 1991, 81, 85-101.
18. Riek R., Hornemann S., Wider G., Billeter M., Glockshuber R., Wuthrich K.: NMR structure of the mouse prion protein domain PrP (121-321). *Nature* 1996, 382, 180-182.
19. Scott M., Groth D., Foster D., Torchia M., Yang S., DeArmond S. J., Prusiner S. B.: Propagation of prions with artificial properties in transgenic mice expressing chimeric PrP genes. *Cell* 1993, 73, 979-988.
20. Silverman G. L., Qin K., Moore R. C., Yang Y., Mastrangelo P., Tremblay F., Prusiner S. B., Cohen F. E., Westaway D.: Doppel is an N-glycosylated, glycosylphosphatidylinositol-anchored protein. Expression in testis and ectopic production in the brains of Prnp(0/0) mice predisposed to Purkinje cell. *J. Biol. Chem.* 2000, 275, 26834-26841.
21. Taylor D. M., Fernie K., Steele P. J., Somerville R. A.: Relative efficiency of transmitting bovine spongiform encephalopathy to mice by the oral route. *Vet. Rec.* 2001, 148, 345-346.
22. Telling G. C., Scott M., Hsiao K. K., Foster D., Yang S., Torchia M., Sidle K., Collinge J., DeArmond S., Prusiner S. B.: Transmission of Creutzfeldt-Jacob disease from humans to transgenic mice expressing chimeric human-mouse prion protein. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 1994, 91, 9936-9940.
23. Telling G. C., Scott M., Mastrianni J., Gabizon R., Torchia M., Cohen F. E., DeArmond S. J., Prusiner S. B.: Prion propagation in mice expressing human and chimeric PrP transgenes implicates the interaction of cellular PrP with another protein. *Cell* 1995, 83, 79-90.
24. Westaway D.: Transgenic Approaches to Prion „Species-Barrier” Effects, [w:] Baker H. F., Ridley R. M.: Prions diseases. Humana Press Inc. Totowa, New Jersey. 1996, 251-263.
25. Wilesmith J. W., Ryan J. B. N., Atkinson M. J.: Bovine spongiform encephalopathy, Epidemiological studies on the origin. *Vet. Rec.* 1991, 128, 199-203.
26. Warwick J.: Species barriers in a model for specific prion protein dimerisation. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 1997, 232, 508-512.
27. Weissmann Ch.: Molecular biology of transmissible spongiform encephalopathies. *FEBS Letters* 1996, 389, 3-11.
28. Williams E. S., Young: Spongiform encephalopathies in Cervidae. *Rev. sci. tech. Epiz.* 1992, 11, 551-567.
29. Wopner F., Weidenhöfer G., Schneider R., Brunn A., Gilch S., Schwarz T. F., Werner T., Schätzl M.: Analysis of 27 mammalian and 9 avian PrPs reveals high conservation of flexible region of the prion protein. *J. Mol. Biol.* 1999, 289, 1163-1178.

Adres autora: doc. dr hab. Andrzej Salwa, ul. Chalubińskiego 6/32, 80-810 Gdańsk

## ❖❖❖❖ RECENZJE I BIBLIOGRAFIA ❖❖❖❖

**HELLEBREKERS L. J. (red.): Schmerz und Schmerztherapie beim Tier. (Ból i leczenie bólu u zwierząt). Wyd. Schlütersche GmbH, Hannover, 2001, str. 132, cena 46 €, ISBN 3-87706-590-2**

Książka jest tłumaczeniem z angielskiego, oryginalnego wydania, które ukazało się w Holandii pt. „Animal Pain. A Practice-Orientated Approach to an Effective Pain Control in Animals”, 2000. Niemiecka edycja wydana została w pięknej formie – ładną czcionką, atrakcyjnym dla oka układem graficznym i wybarwionymi podrozdziałami. Najważniejszym walorem książki jest jednak jej treść, opracowana przez zespół 8 wybitnych przedstawicieli weterynarii z Holandii, USA, Wielkiej Brytanii, Kanady i Szwajcarii. Głównym autorem i redaktorem jest prof. Ludo J. Hellebrekers z Wydziału Weterynaryjnego w Utrechcie, który nadał opracowaniu specyficzny, korzystny charakter.

Ból jest zjawiskiem w zasadzie fizjologicznym, towarzyszącym tak człowiekowi, jak i każdemu zwierzęciu w zdrowiu, a zwłaszcza w chorobie. Jego uśmierzenie i le-

czenie czyni życie każdego osobnika doskonalszym i łatwiejszym w odbiorze. Treść książki podporządkowana jest w dużym stopniu praktycznej, klinicznej weterynarii. Nie jest to jednak aplikacyjny przewodnik po sposobach uśmierzenia bólu, ale głęboką w treści monografią nt. patofizjologii i terapii tego zjawiska. Treść książki zapewne najpełniej oddadzą tytuły poszczególnych jej rozdziałów:

1) Ból u zwierząt – wprowadzenie do problemu, 2) Etyczne aspekty zwalczania bólu u zwierząt domowych, 3) Zmiana roli zwierząt w społeczeństwie, 4) Rozpoznawanie stanów bólowych u zwierząt, 5) Patofizjologia bólu i konsekwencje terapii analgetycznej, 6) Kliniczna farmakologia substancji analgetycznych, 7) Praktyczna analgezja u mięsożernych, 8) Leczenie bólu u kotów, 9) Praktyczna terapia bólu u zwierząt domowych i egzotycznych, 10) Praktyczne leczenie analgetyczne u koni.

Książka jest nadzwyczaj interesującym opracowaniem problemowym tak dla biologów, jak i praktykujących lekarzy wet. Warto zapoznać się z jej treścią.

Edmund K. Prost