

Choroba Gerstmann-Sträusslera-Scheinkera

Gerstmann-Sträussler-Scheinker disease

Zakład Patologii Molekularnej i Neuropatologii, Katedra Onkologii Uniwersytetu Medycznego w Łodzi

Adres do korespondencji: Zakład Patologii Molekularnej i Neuropatologii, Katedra Onkologii Uniwersytetu Medycznego w Łodzi,

ul. Czechosłowacka 8/10, 92-216 Łódź, e-mail: ppliber@csk.umed.lodz.pl

Autorzy dedykują symposium pamięci Prof. Huberta Kwiecińskiego

Praca finansowana przez Uniwersytet Medyczny w Łodzi z pracy własnej nr 502-11-864

Streszczenie

Choroba Gerstmann-Sträusslera-Scheinkera (GSS) jest genetycznie uwarunkowaną chorobą wywołaną przez priony. Jest ona unikalna, ponieważ udało się przepasażować GSS na naczelną i gryzonia przynajmniej z mózgu obciążonego mutacją kodonu 102. Tym samym jest to jedyne schorzenie jednocześnie genetycznie uwarunkowane i zakaźne, aczkolwiek natura czynnika infekcyjnego (prionu) nadal stanowi przedmiot dyskusji. W obrazie klinicznym GSS dominuje postępująca ataksja mózdkowa z towarzyszącym ośpieniem i objawami piramidowo-pozapiramidowymi. Jest to jednak choroba heterogenna, o różnym obrazie klinicznym u nosicieli różnych mutacji, a nawet u nosicieli tej samej mutacji. Obraz neuropatologiczny obejmuje obecność PrP^d – immunododatnich złogów amyloidu pod postacią blaszek, zwłaszcza tzw. blaszek wielordzeniowych. Istnieje kilka modeli GSS. U myszy transgenicznym z nadekspresją zmutowanego genu kodującego PrP obserwuje się spontaniczną chorobę zwyrodnieniową, pasażowalną na myszy transgeniczne o niskiej liczbie transgenów. U myszy transgenicznym uzyskanych drogą wzajemnej rekombinacji, a więc bez nadekspresji, nie występuje choroba spontaniczna, niemniej stają się one wrażliwe na zakażenie GSS.

Słowa kluczowe: choroba Gerstmann-Sträusslera-Scheinkera, GSS, priony, blaszki wielordzeniowe, białko prionu, PrP, choroba Creutzfeldta-Jakoba

Summary

Gerstmann-Sträussler-Scheinker disease (GSS) is a hereditary form of prion disease. GSS, in particular the form caused by the *PRNP* gene P102L mutation, is transmissible to primates and rodents. Thus, GSS is a unique disease that is both genetic and transmissible; however, the exact nature of the transmissible agent is not clear. The clinical picture of GSS comprises cerebellar ataxia, dementia and pyramidal and extrapyramidal signs and symptoms. However, the disease is heterogeneous and in different families and different mutations the clinical picture may vary. The neuropathological picture is characterized by the presence of amyloid plaques – mainly multicentric plaques. There are several models of GSS in transgenic mice and in *Drosophila sp.* In mice produced with an overexpressed transgene that carries the P101L mutation (corresponding to the P102L mutation in humans), “spontaneous” neurodegeneration is observed and this, in turn, is transmissible but to transgenic mice with a low copy number. In contrast, P101L transgenic mice produced by means of reciprocal recombination show no spontaneous neurodegeneration, but instead become more susceptible to transmission of human GSS following inoculation.

Key words: Gerstmann-Sträussler-Scheinker disease, GSS, prions, multicentric plaques, prion protein, PrP, Creutzfeldt-Jakob disease

WSTĘP

Choroba Gerstmana-Sträusslera-Scheinkera (GSS) jest to powoli postępująca choroba neurozwyrodnieniowa ośrodkowego układu nerwowego (OUN), dziedzicząca się autosomalnie dominująco (OMIM: 137440). Jest to również pierwsza choroba z grupy pasażowalnych encefalopatii gąbczastych (*transmissible spongiform encephalopathies*, TSE), w której wykryto mutację w genie kodującym białko prionu⁽¹⁻⁴⁾. Prevalencja jest trudna do oceny, ale podaje się liczby w przedziale 1-10/100 000 000⁽¹⁾.

Budka i wsp.⁽⁵⁾ definiują GSS jako chorobę neurozwyrodnieniową występującą „rodzinnie z dziedziczącą się dominująco ataksją i/lub otępieniem: encefalo(mielo)patię z blaszkami wielordzeniowymi”. Pierwsza opisana przez Dimitza⁽⁶⁾ rodzina z GSS to tak zwana rodzina „H” z Wiednia, znana wiedeńskim neuropsychiatrom z początków XX wieku. Kolejne prace to Gerstmana z 1928 roku⁽⁷⁾ oraz klasyczna i najpełniejsza praca Gerstmana⁽⁸⁻⁹⁾, Sträusslera i Scheinkera z 1936 r.⁽¹⁰⁾ Co interesujące, w oryginalnej pracy z 1936 roku są podane pełne imiona Gerstmana i Sträusslera, ale jedynie inicjał „I” (Isaak) Scheinkera. W obliczu naciągającego nazizmu Scheinker obawiał się podać swoje imię, wyjechał później do USA, gdzie stał się znanym neuropatologiem i wydał książkę *Neuropathology in Its Clinicopathologic Aspects*⁽¹¹⁾.

Gerstmann w 1928 roku opisał nowy odruch – gdy choremu poleca się wyprostować oba ramiona, a głowę skrócić w jedną stronę, ramiona krzyżują się, zbaczając w kierunku linii środkowej⁽⁷⁾. Ramię przeciwstronne do kierunku skrętu głowy znajduje się powyżej drugiego ramienia.

Kolejne przypadki z rodziny „H” zostały opisane przez von Braumühla⁽¹²⁾ i Seitelbergera, ówczesnego dyrektora Instytutu Neurologii (Instytut Obsersteinerera) w Wiedniu⁽¹³⁻¹⁴⁾. Seitelberger, na 4 lata przed odkryciem pasażowalnej (zakaźnej) natury kuru przez Gajduska i wsp.⁽¹⁵⁾, podkreślił podobieństwo blaszek kuru i blaszek obserwowanych w GSS i tak „przewidział” pasażowalną naturę GSS, co wykazali Masters i wsp.⁽¹⁶⁾ wiele lat później. Oryginalna rodzina „H” pochodziła z małego miasteczka w Austrii i została zdiagnozowana przez miejscowego lekarza jako dotknięta rodzinną postacią kiły. Ponieważ takie rozpoznanie stygmatyzowało członków tej rodziny, przestali się oni zgłaszać do lekarzy. W roku 1990 prof. Herbert Budka, obecny dyrektor Instytutu Obsersteinerera, konsultował preparaty chorego, którego ojciec cierpiał na „atakę Friedreicha”. Panięńskie nazwisko tego przypadku było nazwiskiem rodziny „H”⁽¹⁷⁻¹⁸⁾. Odkrycie to umożliwiło współczesne badania tej fascynującej rodziny.

Jak wspomniano, w 1981 roku Mastres i wsp.⁽¹⁶⁾ opisali kilka przypadków GSS przepasażowanych na naczelne. Innym pasażowalnym szczepem jest szczep Fujisaki (Fukuoka-1) opisany przez Tateishi i wsp.⁽¹⁹⁾, który przepasażowano na myszy, szczury, świnki morskie i małpę wiewiórkową (*squirrel monkey*). Przypadek, z którego wyizolowano ten szczep, był także nosicielem mutacji kodonu 102. genu kodującego PrP. Kolejny przypadek, również obdarzony tą samą mutacją kodonu 102., przepasażowano na małpę pająkową (*spider monkey*) i na marmozety⁽²⁰⁾. Podsumowując, do chwili obecnej jedynie przypadki będące nosicielami mutacji 102^{Leu} są pasażowalne^(21,22).

Warto zwrócić uwagę, że wśród przypadków opisanych przez Mastersa i wsp.⁽¹⁶⁾ wymienia się rodzinę „CG” opisaną przez Worster-Drougha i wsp.⁽²³⁻²⁵⁾. Rodzina ta, aczkolwiek fenotypowo podobna do GSS, jest jednak obecnie klasyfikowana jako „rodzinnie otępienie brytyjskie” (*familial British dementia*)⁽²⁶⁾.

MUTACJA KODONU 102. (102^{Leu} 129^{Met})

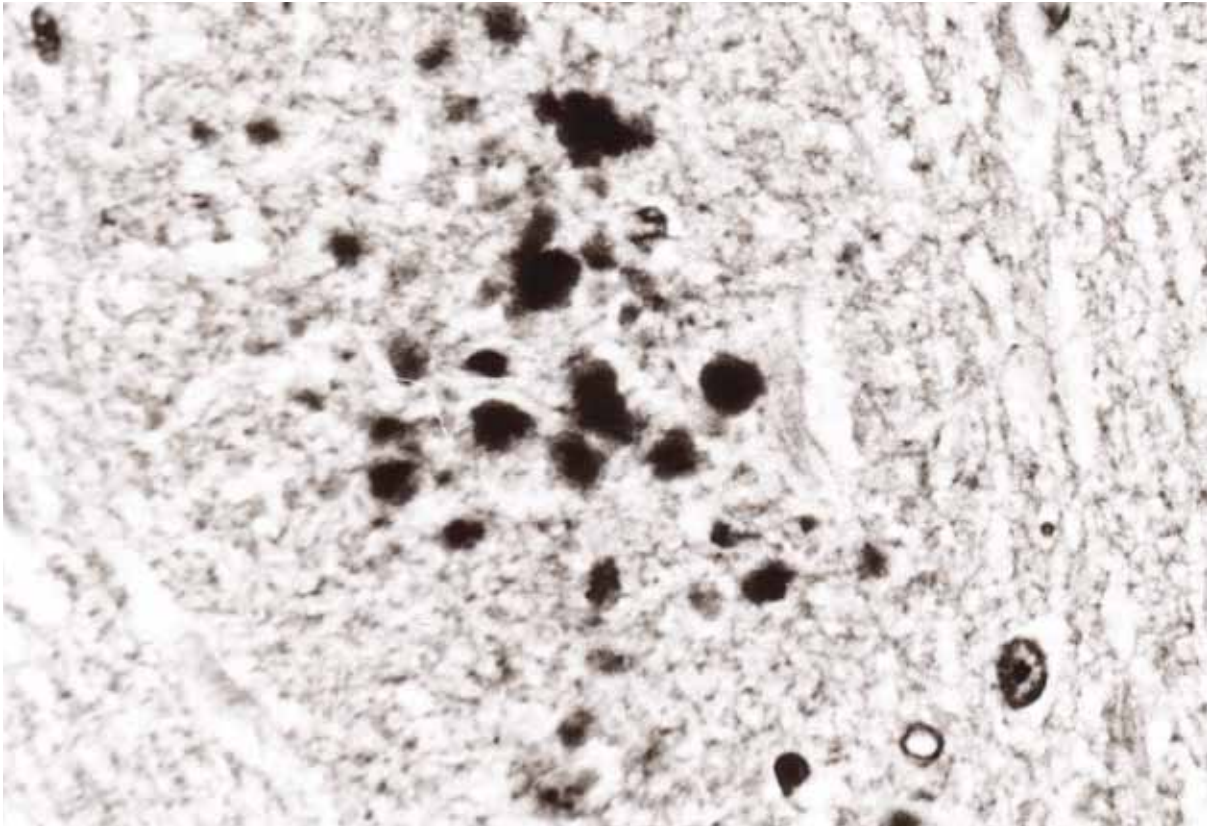
GSS obarczona mutacją kodonu 102. genu kodującego białko prionu (*PRNP*) była pierwszym celem badań molekularnych, które wykryły mutację *PRNP* sprzężoną z występowaniem dziedzicznej choroby neurozwyrodnieniowej w 1989 roku⁽²⁷⁾. Mutacja ta prowadzi do substytucji proliny (CCG) leucyną (CTG). Mutacja ta została następnie wykryta w szeregu innych rodzin, w tym w japońskiej rodzinie „I”⁽²⁸⁻²⁹⁾, niemieckiej – bardzo dobrze scharakteryzowanej rodzinie „Sch”⁽³⁰⁻³³⁾, w Izraelu⁽³⁴⁾, w rodzinie węgierskiej⁽³⁵⁾, polskiej⁽³⁶⁾, brytyjskiej⁽³⁷⁻³⁸⁾, włoskiej⁽³⁹⁻⁴¹⁾ oraz w oryginalnej rodzinie „H” z Wiednia⁽⁴²⁾. Ostatnio opisano pierwszą rodzinę z GSS z Chin⁽⁴³⁾ i Korei⁽⁴⁴⁾.

Oryginalna rodzina „H” opisana przez Seitelbergera⁽¹⁴⁾ liczyła wówczas 81 członków i 4 przypadki GSS, a ostatnio 221 członków i 20 definitywnych przypadków GSS⁽¹⁷⁾. Choroba manifestuje się jako powoli narastająca ataksja mózdkowa z towarzyszącym, w późniejszej fazie, otępieniem. Ostatni przypadek z oryginalnej rodziny „H” (dzieci tej osoby testowano na obecność mutacji 102. – z wynikiem negatywnym) wykazywał także objawy skądinąd typowe dla choroby Creutzfeldta-Jakoba, to jest wczesne otępienie oraz charakterystyczny periodyczny zapis EEG.

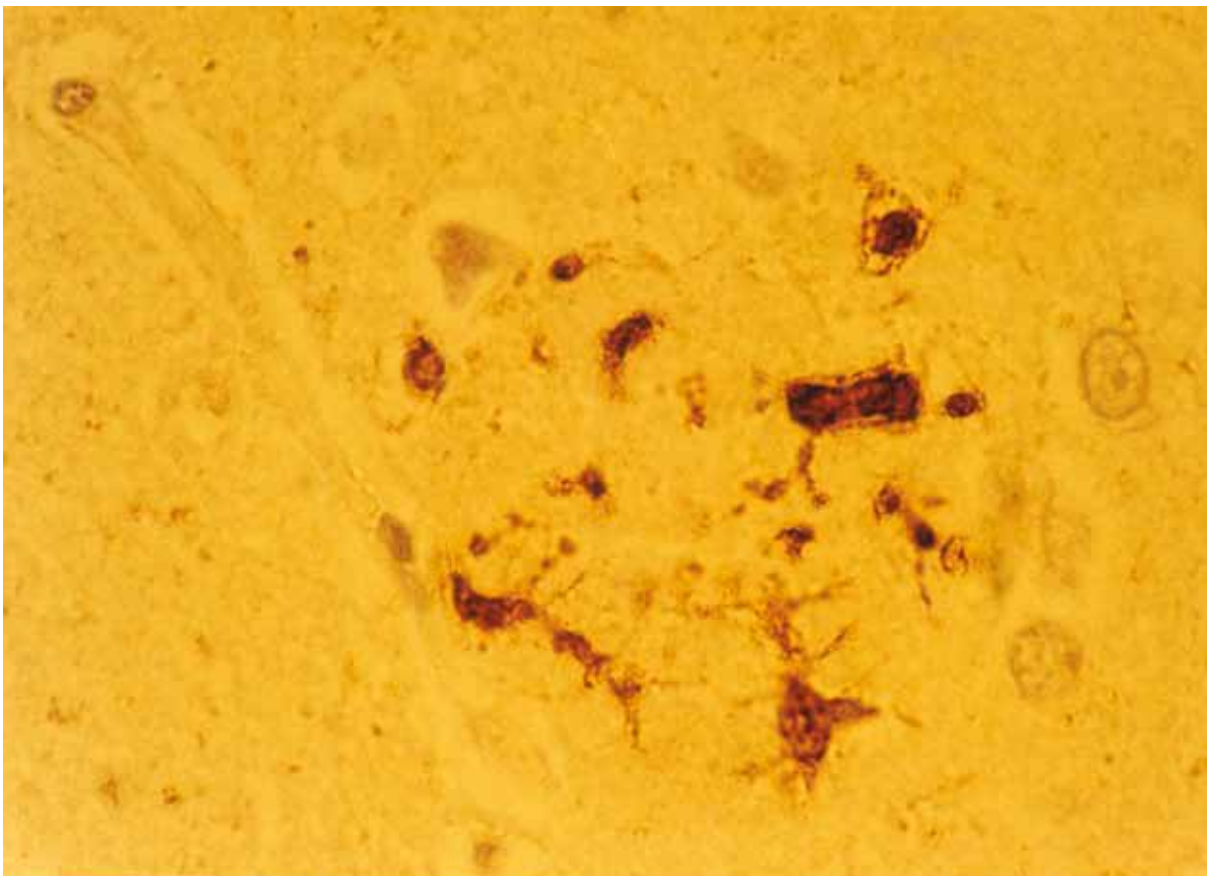
Dla kilku rodzin z mutacją kodonu 102. charakterystyczne jest zjawisko heterogenności objawów⁽⁴⁵⁾. Klasyczny typ taktyczny rozpoczyna się pomiędzy 2. a 6. dekadą życia (średni wiek zachorowania – 50 lat), a czas trwania choroby wynosi od kilku miesięcy do kilku lat (7-132 miesięcy, średnio 49 miesięcy). Dyzartria, zaburzenia sakkadowych ruchów gałek ocznych, zespół piramidowo-pozapiramidowy, zmiany kognitywne prowadzące do pełnoobjawowego otępienia są typowymi cechami. W niewielkim odsetku przypadków obserwuje się cechy CJD – mioklonie, oraz periodyczny zapis EEG. MRI wykazuje niewielkiego stopnia zaniki mózdku i mózgu.

Według danych Webba i wsp.⁽⁴⁵⁾ najczęstszymi objawami, występującymi u 72% chorych, są zaburzenia chodu, zaburzenia kognitywne (28%) i osłabienie kończyn dolnych (22%), bóle i parastezje kończyn dolnych (16%) oraz poważne zaburzenia psychiatryczne (10%). Głuchota o niedawnym początku, drgawki, parkinsonizm i diplopia występowały u 2% jako początkowe objawy choroby. Odnotowano zaburzenia ze strony dolnego motoneuronu – zniesienie odruchów i osłabienie siły mięśniowej obserwowano u większości chorych (79%). U pewnego odsetka obserwowano mioklonie i drgawki (odpowiednio 36% i 7%). U jednego chorego odnotowano uogólnioną dystonię. Badanie EEG wykazywało zwykle nieswoiste zmiany, w jednym przypadku uogólnione wyładowania padaczkowe.

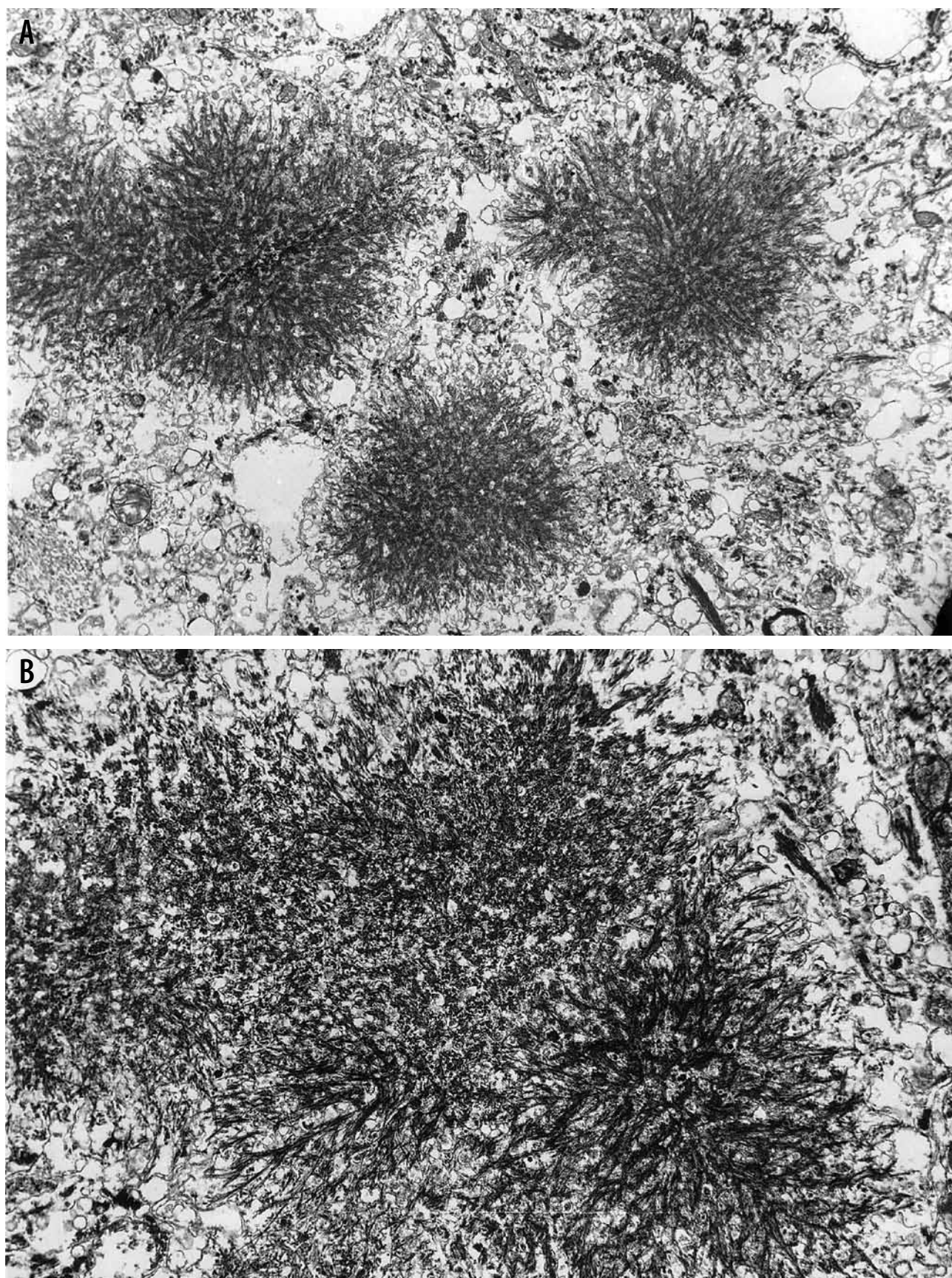
Badania obrazowe (MRI, CT) wykazywały uogólnione zaniki mózgu; w jednym przypadku obserwowano ogniskowe zaniki kory mózdku. Badanie MRI wykonane u 4 chorych ujawniło obecność wieloogniskowych zmian istoty białej. U 2 na 3 chorych,



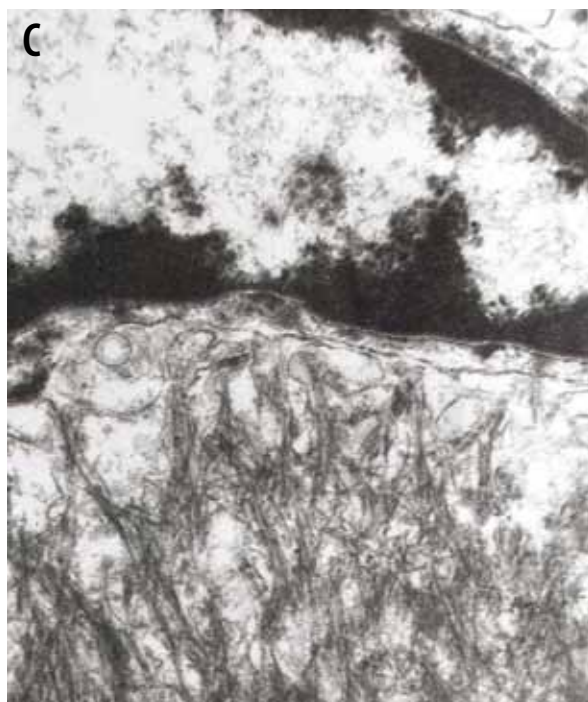
Rys. 1. Typowa blaszka wielordzeniowa w przypadku GSS. Barwienie przeciwciałami anti-PrP z podbarwieniem hematoksyliną



Rys. 2. Komórki mikroglejowe w obrębie blaszki amyloidowej w przypadku GSS. Barwienie przeciwciałami anti-CD68 z podbarwieniem hematoksyliną



Rys. 3. Ultrastruktura GSS: a) kilka rdzeni amyloidowych; (b) rdzenie amyloidowe zlewające się w jedną blaszkę wielordzeniową. Mikroskopia elektronowa



Rys. 3. Ultrastruktura GSS: (c) komórka mikroglejowa w sąsiedztwie blaszki amyloidowej. Mikroskopia elektronowa

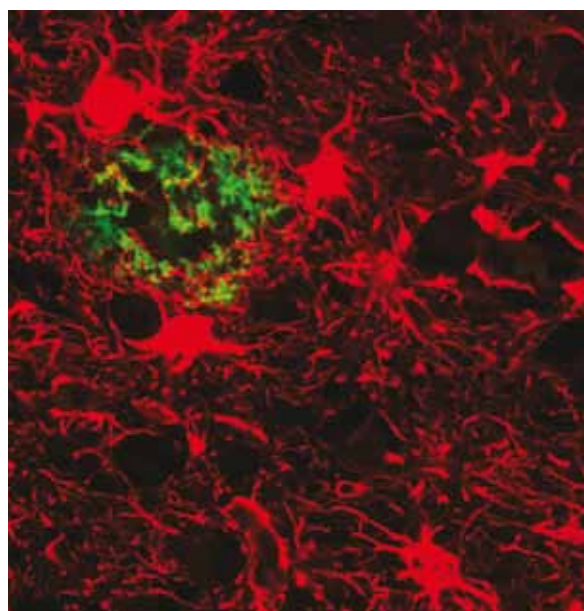
u których wykonano to badanie, obserwowano obecność białka 14-3-3 (patrz Ewa Golańska, Paweł P. Liberski, *Białko 14-3-3 w diagnostyce sporadycznej choroby Creutzfeldta-Jakoba*, s. 37-42). Odrebnym zagadnieniem jest status kodonu 129. na tym samym allelu co mutacja kodonu 102. W znaczącej większości przypadków mutacja kodonu 102^{Leu} jest sprzężona z 129^{Met}. Sprzężenie ze 129^{Val} jest rzadkie^(40,46). Young i wsp.⁽⁴⁶⁾ opisali przypadek 33-letniego mężczyzny z chorobą manifestującą się drgawkami jako objawem początkowym, parestezjami kończyn dolnych oraz obustronną głuchotą. Nie występowało ośpienie. Mężczyzna ten zmarł w wieku 45 lat, 12 lat po wystąpieniu pierwszych objawów. Jak wspomniano, GSS z mutacją kodonu 102. jest pasażowalna na naczelne^(16,21) i na gryzonia⁽¹⁹⁾.

Cechą badania neuropatologicznego, która definiuje GSS^(5,17,47), jest obecność blaszek wielordzeniowych (*multicentric plaques*) – blaszek amyloidowych utworzonych ze zlewających się rdzeni. Blaszkę te są PAS-dodatnie, kongofilne (barwią się czerwienią Kongo) oraz wykazują dwułamność w świetle spolaryzowanym po zabarwieniu tioflawiną⁽⁴⁸⁾. Blaszkę zawierają komórki mikroglejowe (rys. 2)⁽⁴⁹⁾. Wszystkie powyższe cechy to charakterystyki „amyloidu” odzwierciedlające strukturę β -faldową tworzącego je białka, w tym przypadku PrP^{Sc}. Ultrastrukturalnie blaszki są utworzone z włókien amyloidowych (rys. 3), komórek gleju i astrocytów⁽¹⁸⁾, co udało się modelować w 3D metodami matematycznymi⁽⁵⁰⁻⁵¹⁾. W oczywisty sposób blaszki są PrP-immunododatnie. Typowa dla blaszek GSS jest obecność dystroficznych neurytów zawierających lizosomy i ciała elektronowo gęste. Dystroficzne neuryty barwią się przeciwciałami przeciwko prekursorowi β -amyloidu (β APP)⁽⁵²⁾. W mikroskopii konfokalnej widać kolokalizację PrP-amyloidu i GFAP-immunododatnich komórek astrocytarnych (rys. 4).

Przeciwciała uzyskane przeciwko różnym segmentom sekwencji PrP pomogły wyjaśnić skład blaszek w GSS⁽⁵³⁾. Blaszkę barwiły się przeciwciałami przeciwko segmentowi 90-102 PrP oraz, ale w znacznie mniejszej proporcji, przeciwciałami przeciwko sekwencji 58-71. Rdzenie blaszek barwiły się przeciwciałami przeciwko segmentowi 95-108, 127-147 oraz 151-165. Przeciwciała uzyskane przeciwko segmentowi 23-40 (N-koniec) i 220-231 (C-koniec) barwiły obrzeża blaszek pod postacią pierścieniowatego zabarwienia. Niektóre blaszki barwiły się za pomocą wszystkich przeciwciał, co sugeruje, że zarówno pełna sekwencja peptydu PrP, jak i jego skrócona (*truncated*) forma są odkładane w obrębie blaszek.

Oprócz depozytów PrP w tym wariantcie GSS opisywano zwyrodnienie włóknienkowe Alzheimera (NFT) utworzone z MAP- τ , zwykle w dystroficznych neurytach otaczających PrP-immunoreaktywne blaszki amyloidowe⁽⁵⁴⁾. Poza dystroficznymi neurytami opisano pretangle i nici neuropilowe. Wang i wsp.⁽⁵⁵⁾ wykazali, że PrP i MAP- τ tworzą kompleksy poprzez N-koniec (aa 168-283) MAP- τ .

Badania eksperymentalnego GSS u myszy (szczep Fujisaki, K-Fu) zostały opublikowane przez Liberskiego i wsp.^(49,56-68). Wykazano, że czynnik infekcyjny K-Fu szerzy się wzdłuż szlaków nerwowych, co przypomina klasyczne wirusy, np. wścieklizny⁽⁶⁷⁾. K-Fu jest szczepem panencefalopatycznym, to znaczy poza typowym zajęciem istoty szarej obserwuje się wakuolizację wewnątrz blaszek osłonek mielinowych z towarzyszącą reakcją astrocytarną i makrofagowo-mikroglejową. Tak jak w innych chorobach tej grupy, wykazano obecność tak zwanych struktur tubulopęcherzykowych, wirusowopodobnych cząstek pozbawionych PrP, o niejasnym znaczeniu⁽⁶⁸⁾. Podobne zmiany obserwuje się w nerwie wzrokowym⁽⁵⁷⁾. Wykazano także predylekcyjne zajęcie układu GABA-ergicznego⁽⁶¹⁾, apoptozę⁽⁵⁸⁻⁵⁹⁾ i autofagię⁽⁵⁶⁾ neuronów



Rys. 4. PrP-immunododatnia blaszka amyloidowa – widok z mikroskopu konfokalnego. Sygnał zielony, PrP; sygnał czerwony, GFAP. Dzięki uprzejmości Dr hab. n. med. B. Sikorskiej

oraz nasilone uwalnianie pozapalnych cytokin z astrocytów i mikrogleju⁽⁶²⁻⁶⁴⁾.

MUTACJA KODONU 105. (105^{Leu} 129^{Val})

Mutację tę odkryto u kilku rodzin z Japonii⁽⁶⁹⁻⁷⁸⁾. Choroba przedstawia obraz kliniczny paraparezy spastycznej ze wzmocnionymi głębokimi odruchami oraz obecnością objawu Babińskiego. W końcowej fazie choroby pacjent wykazuje cechy tetraplegii z towarzyszącym otępieniem, sztywnością kończyn i drżeniem. Choroba zaczyna się około 40.-50. roku życia i trwa od 6 do 12 lat. Złogi PrP^d spotyka się głównie w korze mózgu oraz, rzadziej, w striatum. Mózdzek, w odróżnieniu od przypadków GSS charakteryzujących się mutacją kodonu 102., jest zajęty w minimalnym stopniu. W dwóch przypadkach^(69,77) obserwowano zwyrodnienie włóknkowe Alzheimerera (*neurofibrillary tangles*, NFT) utworzone z hiperfosforylowanego białka MAP- τ . W przypadku opisanym przez Amano i wsp.⁽⁶⁹⁾ obserwowano odmienny typ blaszek – zlokalizowanych w V i VI warstwie kory mózgu, słabo PAS-dodatnich, zlewających się i o laminarnej dystrybucji.

Ostatnio opisano dwie nowe mutacje w tym kodonie. Mutacja P105T została opisana przez Rogayewą i wsp.⁽⁷⁹⁾ oraz przez grupę Agguziego⁽⁸⁰⁾ u 38-letniego chorego z objawami ataksji mózdkowej, zaburzeniami pamięci oraz zespołem mózdkowym obejmującym zaburzenia ruchów sakkadowych gałek ocznych. Badanie MRI w sekwencji FLAIR i obrazowanie dyfuzyjne wykazało obecność hiperintensywnych ognisk w korze mózgu i wzgórzu. Badanie neuropatologiczne ujawniło zmiany gąbczaste, astroglejozę, synaptyczne złogi PrP oraz nieliczne PrP-immunoreaktywne blaszki amyloidowe. MPA (*magnetic-bead-based ELISA assay*) wykazało obecność nieprawidłowo zwiniętego PrP^d. Western blot ujawnił fragment wielkości 6 kDa po deglikozylacji i dwa większe, częściowo glikozylowane fragmenty wielkości 15 i 25 kDa.

Mutacja P105T została opisana przez Tunnell i wsp.⁽⁸¹⁾ u 30-letniej kobiety z afazją, echolalią, zaburzeniami zachowania obejmującymi także kompulsywne zakupy, przetrwałym świądem skóry oraz objawami zespołu parkinsonowskiego, ale bez wyraźnej ataksji. W badaniu neuropatologicznym stwierdzono obecność zmian gąbczastych i bardzo licznych PrP-immunoreaktywnych blaszek wielordzeniowych. Western blot wykazał obecność PrP^d pod postacią dwóch prążków o wielkości 21 i 26 kDa. Wzorec ten nie jest typowy dla GSS, ale obserwowano go w fCJD spowodowanym mutacjami T183A oraz V180I.

MUTACJA KODONU 117. (117^{Val} 129^{Val})

Mutację tę odkryto w rodzinach charakteryzujących się otępieniem bez wyraźnych cech typowej skądinąd dla GSS ataksji – tzw. telencefaliczny typ GSS^(68,82-90). Mastrianni i wsp.⁽⁸⁶⁾ opisywali dodatkowo zespół mózdkowy. W rodzinie z Alzacji we wcześniejszych pokoleniach obserwowano jedynie „czysty” zespół otępienny, natomiast później opisano bardziej złożony fenotyp kliniczny. Mallucci i wsp.⁽⁸⁵⁾ wykazali znaczną heterogenność objawów klinicznych u nosicieli mutacji 117^{Val}, podobnie jak to ma miejsce w przypadku nosicieli mutacji kodonu 102^{Leu}. Osiowym zespołem u nosicieli mutacji 117^{Val} jest otępienie

i ataksja mózdkowa, natomiast klasyczny dla GSS zespół nasilonej ataksji z otępieniem pojawiającym się później był obserwowany z mniejszą częstością. U niektórych chorych otępienie stanowiło praktycznie jedyny objaw, u innych dominowały ataksja, dyzartria i zaburzenia koordynacji. Obserwowano zespół parkinsonowski, objawy piramidowe i zespół pseudoopuszki. Charakterystyczne były zaburzenia zachowania, zachowania agresywne i gwałtowne, co prowadziło do zachowań kryminalnych i instytucjonalizacji tych chorych. Nieakceptowane społecznie zachowania poprzedzały pojawienie się objawów neurologicznych. Badanie EEG nie ujawniało odchyleń od normy lub obecności zmian nieswoistych. Zaniki mózgu, średniego stopnia, obserwowano w badaniu MRI. Blaszk amyloidowe wykazywały immunoreaktywność z przeciwciałami anti-PrP przeciwko centralnej sekwencji białka, natomiast przeciwciała przeciwko N- i C-końcowi PrP barwiły pierścieni na obrzeżu blaszek. Metodą Western blotu stwierdzono obecność skróconego peptydu wielkości 7 kDa⁽⁹¹⁻⁹³⁾. W niektórych przypadkach nie obserwowano obecności PrP^d⁽⁹²⁻⁹³⁾ oraz „synaptycznego” wzorca immunoekspresji PrP^d⁽⁹⁴⁾. Różnice między pracami, w których sugerowano brak PrP^d⁽⁹²⁻⁹³⁾, a tymi, w których odnotowano obecność opornego na proteinazę K krótkiego peptydu wielkości 7 kDa⁽⁹¹⁾, należy wytłumaczyć mniejszą opornością peptydu 7 kDa w odróżnieniu od peptydów obecnych w mózgu GSS obarczonych innymi mutacjami. Wykazano także obecność zwyrodnienia włóknkowego Alzheimerera⁽⁹⁰⁾.

MUTACJA KODONU 131. (131^{Met} 129^{Val})

Mutację tę wykryto w pojedynczej rodzinie charakteryzującej się obecnością otępienia, apraksji, ataksji mózdkowej, zespołu pozapiramidowego oraz wygórowaniem odruchów głębokich⁽⁹⁵⁾. Choroba rozpoczyna się w 5. dekadzie życia i trwa około 9 lat. MRI wykazuje zaniki mózgu i mózdku. W badaniu neuropatologicznym stwierdzono obecność licznych blaszek amyloidowych oraz rozlanych PrP-immunoreaktywnych depozytów w korze mózdku, jądrach kresomózgowia i mózdku.

MUTACJA KODONU 145. (145^{STOP})

Mutację tę odkryli Kitamoto i wsp.⁽⁹⁶⁾ w przypadku charakteryzującym się spastyczną paraparezą i postępującym otępieniem. Badanie neuropatologiczne wykazało obecność typowych blaszek oraz PrP-immunoreaktywnych depozytów w ścianie naczyń (PrP-kongofilną angiopatię). Obserwowano zwyrodnienie włóknkowe Alzheimerera.

MUTACJA KODONU 187. (187^{Arg} 129^{Val})

Mutację odkryto w pojedynczej amerykańskiej rodzinie z USA⁽⁹⁷⁾. Dziewięć opisanych przypadków charakteryzowało się otępieniem, ataksją mózdkową, obecnością mioklonii i drgawek, a więc fenotypem przypominającym CJD. Średni wiek zachorowania wynosi 42 lata (33-50 lat), a czas trwania choroby obejmuje od 8 do 19 lat. Badanie neuropatologiczne wykazało obecność charakterystycznie „łukowatych” (*curly*), o laminarnym układzie

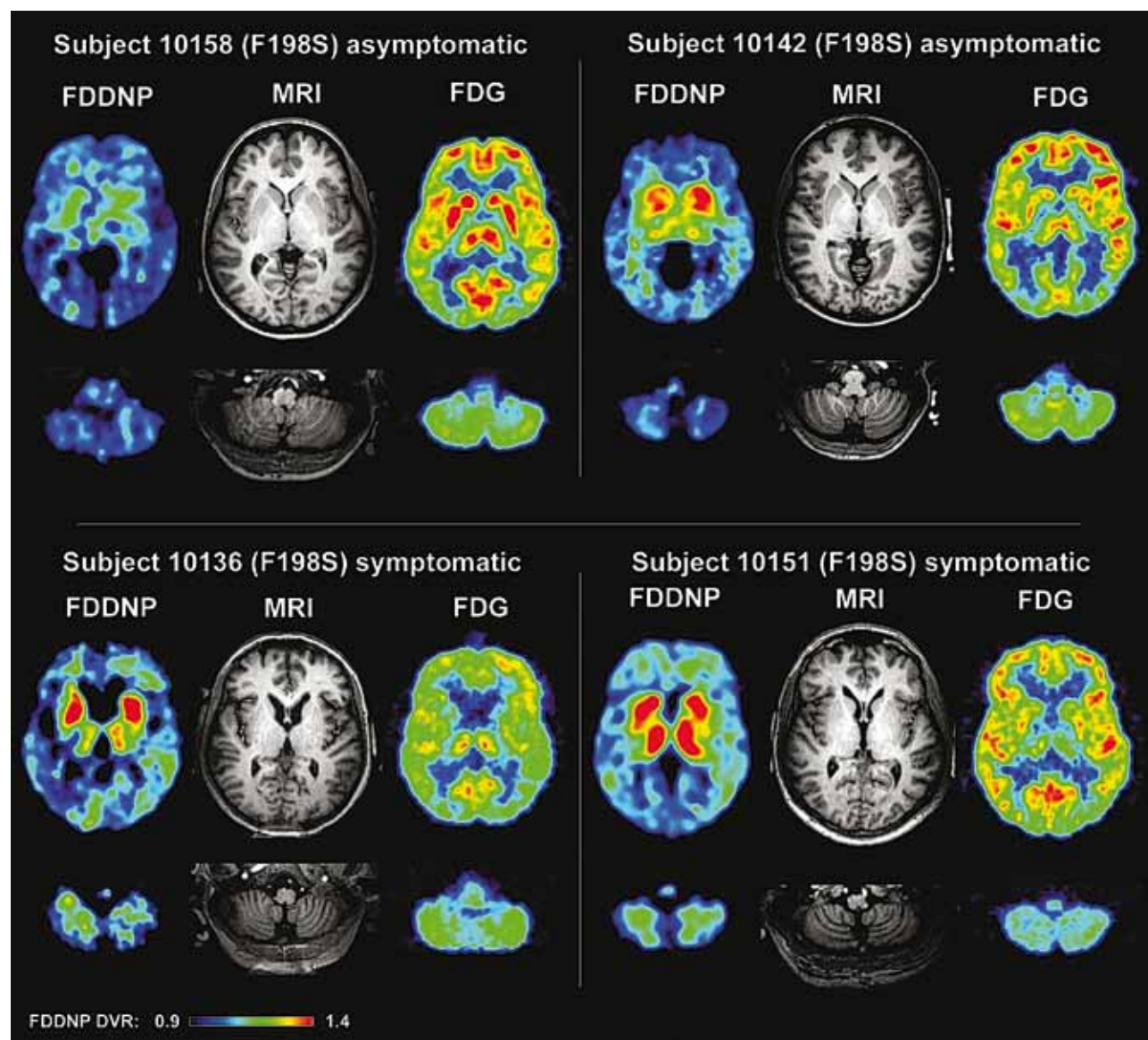
PrP-immunoreaktywnych depozytów w korze mózgu, jedno- i wielordzeniowe blaszki oraz zwyrodnienie włóknkowe Alzheimer⁽⁹⁸⁾. Nie obserwowano zmian gąbczastych. W mózgach 2 chorych stwierdzono obecność PrP^{sc} pod postacią peptydów wielkości 30-35 kDa, 29-27 kDa, 14 kDa i 7 kDa. Peptydy 14 i 7 kDa kończyły się z N-końca na resztach 90, 97, 99 i 82, 86 i 90.

MUTACJA KODONU 198. (198^{Ser} 129^{Val})

Mutacja ta została odkryta w słynnej rodzinie ze stanu Indiana – *Indiana kindred* (IK)⁽⁹⁹⁾, a następnie w drugiej, niespokrewnionej

rodzinie⁽¹⁰⁰⁾. Chorzy są homozygotami lub heterozygotami pod względem statusu kodonu 129. genu *PRNP*.

Rodzina ze stanu Indiana charakteryzuje się mieszaniną objawów piramidowych i pozapiramidowych, ośpieniem, dyzartrią i postępującą apraksją, trudnościami w chodzeniu, obecnością zespołu parkinsonowskiego, bradykinezą, sztywnością typu „rury olowianej”, ale bez drżenia, zaburzeniami snu i występowaniem oczopląsu optokinetycznego⁽¹⁰¹⁻¹⁰²⁾. Zaburzenia ruchów szarpanych gałek ocznych (*saccadic movements*)⁽¹⁰³⁾ pojawiają się wcześniej niż inne objawy. Choroba rozpoczyna się pomiędzy 40. a 70. rokiem życia; u chorych będących homozygotami 129^{Val/Val} zwykle początek jest wcześniejszy o około 10 lat niż



Rys. 5. Badanie [F-18]FDDNP PET, MRI i [F-18]FDG PET w przypadkach czterech nosicieli mutacji GSS F198S. Asymptomatyczny nosiciel 10142 wykazuje zwiększony sygnał [F-18]FDDNP PET oraz zmniejszony [F-18]FDG PET. Obaj symptomatyczni nosiciele mutacji 10136 i 10151 wykazują zwiększony sygnał [F-18]FDDNP PET w jądrach kresomózgowia i wzgórz oraz równoległe zmniejszony sygnał [F-18]FDG PET. Obaj nosiciele mutacji wiążą znacznik [F-18]FDDNP do złożeń PrP-amyloidu. Dzięki uprzejmości Prof. Jorge R. Barrio, Elizabeth and Thomas Platt Chair in Gerontology; Distinguished Professor of Molecular and Medical Pharmacology; David Geffen UCLA School of Medicine; Founding Editor-in-Chief, Molecular Imaging and Biology; Chair, MRSC/RDRC; Los Angeles, USA oraz Redaktora „Brain Pathology”

u heterozygot 129^{Val} Met. Choroba trwa około 10 lat (od 2 do 12 lat), ale obserwuje się przebiegi szybkie – 1-, 2-letnie.

IK jest bardzo dobrze opisana. Badanie neuropatologiczne wykazuje cechy typowe dla GSS⁽¹⁰⁴⁻¹⁰⁹⁾. Charakterystyczne jest występowanie zwyrodnienia włóknkowego Alzheimerera, utworzonego z PHF (*paired helical filaments*), których składnikiem jest hiperfosforylowane białko MAP- τ . Zmiany gąbczaste widuje się wokół blaszek amyloidowych.

Przeciwciała przeciwko różnym segmentom sekwencji PrP umożliwiły odpowiedź na pytanie, jak duży jest peptyd tworzący złoże PrP^(52,110). Blaszkki są utworzone z dwóch peptydów: 7 i 11 kDa odpowiadających odpowiednio sekwencjom 81-150 i 59-150 PrP. Natomiast pre-amyloid (niefibrilarna forma PrP) barwi się przeciwciałami przeciw sekwencji 23-40 PrP i 220-231 PrP⁽¹¹¹⁾. Przeciwciała przeciwko N-końcowi (23-40) i C-końcowi (220-231) barwią pierścieniową strukturę obrzeża blaszek⁽¹¹¹⁾.

Ostatnio opublikowano wyniki badań z użyciem pozytonowej tomografii emisyjnej (PET) oraz znacznika FDDNP-18 wiążącego się z amyloidem (rys. 5)⁽¹¹²⁾. [F-18]FDDNP PET wykazało podwyższony sygnał w okolicach podkorowych oraz w mózdku u wszystkich symptomatycznych chorych z IK GSS. FDDNP wiąże się z blaszkami amyloidowymi oraz dyfuzyjnymi w badaniach *in vitro* wykorzystujących materiał z IK GSS. U bezobjawowych nosicieli mutacji F198S, [F-18]FDDNP PET wykazywało albo normalne natężenie sygnału, albo podwyższone wiązanie znacznika w strukturach podkorowych i korze. Obserwowano zwiększone wiązanie znacznika, co sugeruje postęp choroby. Dodatkowo wykonano badanie [F-18]FDDNP PET u chorego z GSS P102L, uzyskując dystrybucję znacznika w mózdku, jądrach kresomózgowia, wzgórzu i płacie skroniowym, co odpowiada dystrybucji PrP-immunoreaktywnych depozytów w tej jednostce chorobowej.

MUTACJA KODONU 202. (202^{Asn} 129^{Val}) I 212. (212^{Pro} 129^{Met})⁽¹¹³⁻¹¹⁴⁾

Czas trwania choroby w przypadku mutacji 202^{Asn} wynosił 6 lat, choroba rozpoczęła się w 8. dekadzie życia, objawiając się otępieniem oraz zespołem mózdkowym. Blaszkki występowały zarówno w mózgu, jak i w mózdku. W korze mózgu obserwowano zwyrodnienie włóknkowe Alzheimerera. Chory obarczony mutacją 212^{Pro} zachorował w wieku 60 lat, choroba trwała 8 lat⁽¹⁾, manifestując się zaburzeniami mowy oraz ataksją mózdkową prowadzącą do całkowitego unieruchomienia. Nie odnotowano cech otępienia. PrP-immunoreaktywne blaszki amyloidowe obserwowano zarówno w mózgu, jak i w mózdku, ale ich gęstość była bardzo niska.

MUTACJA KODONU 217. (217^{Arg} 129^{Val})

Mutację tę opisali Karen Hsiao i wsp.⁽⁸⁴⁾ u dwóch chorych z rodziny szwedzko-amerykańskiej^(104-105,115). Obraz kliniczny charakteryzuje się zaburzeniami psychicznymi o typie psychozy maniako-depresyjnej, otępieniem, ataksją i zespołem parkinsonowskim. Badanie neuropatologiczne wykazuje zmiany typowe dla tych spotykanych w rodzinie ze stanu Indiana – liczne blaszki amyloidowe i zwyrodnienie włóknkowe Alzheimerera. W blaszkach wykazano koegzystencję PrP^d i A β .

MUTACJA KODONU 218. (218^{Asn} 129^{Val})

Alzualde i wsp.⁽¹¹⁶⁾ opisali przypadek 61-letniej kobiety z zaburzeniami mowy o typie afazji bez płynności mowy (*nonfluent aphasia*), agrafią, apraksją oraz zwolnieniem zapisu EEG. Choroba trwała około 6 lat. W końcowej fazie obserwowano odruchowe mioklonie, mioklonie kończyn górnych i obustronny odruch chwytny, bez ataksji. Badanie neuropatologiczne ujawniło obecność bardzo licznych PrP-immunoreaktywnych blaszek amyloidowych, zmiany gąbczaste w powierzchniowych warstwach kory czołowej i skroniowej oraz bardzo liczne MAP- τ -immunoreaktywne neuryty.

MUTACJA KODONU 232. (232^{Thr})

Mutację tę wykryli Liberski i wsp.⁽¹¹⁷⁻¹¹⁸⁾ u chorego, u którego rozpoznano wcześniej zanik mostowo-oliwkowo-mózdkowy z paraparezą spastyczną i otępieniem. Choroba rozpoczęła się w 5. dekadzie życia i trwała 6 lat. Liczne PrP-immunoreaktywne blaszki występowały w korze mózgu i mózdku. Co interesujące, początkowe sekwencjonowanie, nieobejmujące kodonu 232., nie wykazało obecności mutacji i przypadek ten został opublikowany jako przypadek sporadycznej postaci choroby Creutzfeldta-Jakoba (CJD) o fenotypie GSS⁽¹¹⁷⁾. Mutację ostatniego kodonu PrP znaleziono przypadkowo, sekwencjonując całą otwartą ramkę odczytu genu. U syna wspomnianego chorego nie stwierdzono nosicielstwa mutacji.

MUTACJA POD POSTACIĄ INSERTU 365-388 dup⁽¹¹⁹⁾

Hinnell i wsp.⁽¹¹⁹⁾ opisali nową mutację pod postacią insertu o długości 24 nukleotydów kodujących 8 aminokwasów u 34-letniego chorego ze stanem padaczkowym drgawek toniczno-klonicznych jako początkowym objawem. U chorego rozwinął się następnie zespół neurologiczny, na który składały się ataktyczny chód, zamazana mowa i zaburzenia osobowości, zaburzenia sakkadowych ruchów gałek ocznych oraz rozlana paratonia i sztywność osiowa. Badanie obrazowe wykazało zaniki korowe i robaka mózdku niewielkiego stopnia. Badanie płynu mózgowo-rdzeniowego ujawniło obecność białka 14-3-3 oraz MAP- τ . Osiem lat wcześniej pacjent doświadczał lęków nocnych (*night terrors*), trwających 6 lat.

MUTACJE NIEZNANE

Opublikowano kilka rodzin o fenotypie GSS (włosko-kanadyjska rodzina⁽¹²⁰⁾, rodzina „N”⁽¹²¹⁾ i kilka innych⁽¹²²⁻¹²³⁾), w których mutacja sprawcza nie jest znana. Przypadek opisany przez Courten-Myers i Mandybura⁽¹²⁴⁾ okazał się przypadkiem choroby Alzheimerera⁽¹²⁵⁾.

BIOLOGIA GSS

NOMENKLATURA

PrP^d jest to patologicznie zwinięte białko, nierozpuszczalne w denaturujących detergentach i odporne na proteinazę K; ostatnio wykazano jednak, że niektóre izoformy PrP^d nie są odporne na

proteinażę K⁽¹²⁶⁾. Neutralny termin – „PrP^d” – oznacza izoformę PrP sprężoną z fenotypem choroby niezależnie od faktu, czy jest ono wrażliwe na proteinażę K⁽¹²⁷⁻¹²⁸⁾.

PrP PEPTYDY W GSS

Białko prionu (PrP) występuje pod dwiema postaciami izoform – jako prawidłowa, komórkowa izoforma (PrP^c) oraz izoforma patologiczna (PrP^{Sc} lub PrP^d, od *disease*)⁽¹²⁹⁾. Pełnej długości PrP^c ma wielkość 35 kDa (27 kDa po deglikozylacji); obserwuje się także obecność krótszych peptydów, wielkości 26-30 kDa, pozbawionych N-końca oraz jeszcze krótszych, pozbawionych N-końca peptydów – C1 wielkości 18 kDa i 21 kDa.

Metabolizm PrP jest bardzo złożony⁽¹³⁰⁾. Najpierw natywny PrP jest importowany do światła retikulum endoplazmatycznego (ER), gdzie podlega procesowaniu, glikozylacji, dodaniu kotwicy fosfoglikozylinozitolowej [*glycosylphosphatidylinositol (GPI anchor)*], na koniec prawidłowemu zwinięciu przed przesunięciem do układu Golgiego, a następnie na powierzchnię komórki. Dojrzały PrP^c podlega endocytozie, a następnie recyklingowi lub degradacji w lizosomach.

W chorobach wywoływanych przez priony, zwłaszcza w CJD, występują dwa peptydy PrP^d pozbawione reszt glikozylowych – typ 1. (21 kDa) i typ 2. (19 kDa). W GSS spotyka się natomiast małe peptydy, wielkości 7-8 kDa. W GSS 102^{Leu} obserwuje się dwa wzorce PrP w badaniu Western blot: pojedynczy prążek wielkości 8 kDa lub 3 prążki wielkości 21, 27 i 29 kDa⁽¹³¹⁾. Peptyd o wielkości 21 kDa jest pozbawiony N-końca, natomiast peptyd wielkości 8 kDa jest pozbawiony zarówno N-, jak i C-końca. Sekwencjonowanie N-końca 8 kDa peptydu wykazało miejsce cięcia w miejscu 78., 80. lub 82. reszty aminokwasowej, natomiast dla peptydu 21 kDa – 78 kDa i 82 kDa. Dodatkowe miejsce cięcia dla N-końca 8 kDa peptydu to reszta 74. Co interesujące, peptyd o wielkości 21 kDa oczyszczono jedynie z tych mózgów z GSS, które wykazują także zmiany gąbczaste. Mniejszy peptyd o wielkości 7 kDa jest obecny w mózgach z GSS 117^{Val}⁽⁹¹⁾. Miejsce cięcia z N-końca to reszty 85.-95., najczęściej 88., 90. i 92. C-koniec kończył się na resztach 148., 152. lub 153.

Odrębnym zagadnieniem jest pochodzenie peptydów PrP^d – czy są one kodowane przez prawidłowy, czy zmutowany allel genu kodującego PrP (*PRNP*)⁽¹³²⁾. Autorzy cytowanej pracy użyli mózgów GSS 102^{Leu} oraz swoistych przeciwciał do wykrywania „dzikiej” (3F4) i zmutowanej (ICSM35) formy PrP^d, uzyskując detekcję peptydów wielkości 21-30 i 8 kDa. Przeciwciała 3F4 wykrywały PrP^d typu 1. w dwóch przypadkach GSS, a typu 2. w kolejnym przypadku. Około 40% peptydów PrP^d o wielkości 21-30 kDa pochodziło ze zmutowanego allelu i są one wykrywane przez przeciwciała ICSM35, natomiast peptyd wielkości 8 kDa pochodził jedynie z niezmutowanego allelu. Także profil glikozylacji peptydów był odmienny: peptydy pochodzące z niezmutowanego allelu były głównie nieglikozylowane, natomiast wśród tych, których źródłem był allel zmutowany, dominowała izoforma diglikozylowana.

Także badanie immunohistochemiczne wykazało obecność blaszek amyloidowych zawierających PrP^d pochodzący z niezmutowanego allelu; w przypadku z oryginalnej rodziny „H” z Wiednia⁽¹⁷⁾ wykazano kolokalizację PrP^d pochodzącego zarówno ze

zmutowanego, jak i z niezmutowanego allelu. Co więcej, przypadek ten wykazywał obecność synaptycznego wzorca immunoreaktywności PrP^d także pochodzącego zarówno ze zmutowanego, jak i z niezmutowanego allelu. Podsumowując, w badaniach tych stwierdzono obecność PrP^d pochodzącego zarówno ze zmutowanego, jak i z niezmutowanego allelu w blaszkach amyloidowych i w „synaptycznych” depozytach w GSS.

Metabolizm PrP^{102L} jest odmienny od metabolizmu PrP^c, co objawia się akumulacją 20 kDa peptydu na powierzchni komórki⁽¹³³⁾. Peptyd ten pochodzi prawdopodobnie z transbłonowej formy ^{Cm}PrP, postulowanej jako szczególnie istotna w patogenezie tych chorób.

TRANSBŁONOWE FORMY PrP

Początkowo natywny peptyd PrP jest rozpoznawany przez cząsteczki rozpoznające sygnał (*signal recognition particle*, SRP), transportowany do ER, a następnie oddziałuje z kompleksem Sec6 oraz białkami TRAM i TRAP. Gdy z rybosomów zejdzie domena hydrofobowa (*hydrophobic domain*, HD) i zostanie translokowana przez kanał Sec6, cały PrP jest już translokowany na zewnątrz komórki⁽¹³⁰⁾. Pewien odsetek natywnego PrP zostaje jednak zakotwiczony poprzez HD w błonie, tworząc ^{Nm}PrP. Niemniej HD może działać jako sekwencja sygnałowa, wówczas peptyd „odwraca się” i powstaje ^{Cm}PrP. Wreszcie niewielki procent PrP pozostaje nietranslokowany – jest to ^{Cy}PrP. W prawidłowych warunkach jedynie niewielki odsetek natywnego PrP staje się ^{Cm}PrP, ^{Nm}PrP lub ^{Cy}PrP, ale mutacje GSS (Pro102Leu; Ala117Val; Gly131Val) prowadzące do nasilonej hydrofobowości HD zwiększają odsetek form ^{Cm}PrP i nasilenie neurodegeneracji u myszy transgenicznych⁽¹³⁴⁻¹³⁶⁾. Z kolei mutacja ^{STOP}145 prowadzi do zwiększenia formy – ^{Cy}PrP. Warto podkreślić, że ani ^{Cm}PrP, ani ^{Cy}PrP nie wiążą się z pasażowalnością choroby, prowadzą więc do proteinopatii, przy czym poziom ekspresji ^{Cm}PrP koreluje z „okresem inkubacji” neurodegeneracji⁽¹³⁷⁾. Innymi słowy, im poziom ekspresji ^{Cm}PrP wyższy, tym „okres inkubacji” krótszy. Problem pasażowalności i patogenezy GSS wiąże się bądź z akumulacją PrP^d jako bezpośrednią przyczyną neurodegeneracji, bądź z dysregulacją metabolizmu PrP^c. I rzeczywiście, w niektórych rodzinach z rodzinną postacią CJD (niebędących przedmiotem niniejszego opracowania) obserwuje się akumulację PrP^d i pasażowalność choroby, natomiast w GSS (np. P102L lub F198S) stwierdza się akumulację PrP^d, ale o mniejszej wielkości peptydu i brak pasażowalności (F198S).

MODELE EKSPERYMENTALNE GSS

MODEL U MYSZY TRANSGENICZNYCH

Badania eksperymentalne z użyciem myszy transgenicznych (Tg) będących nosicielami mutacji kodonu 101. (analogicznej do mutacji kodonu 102. spotykanej w rodzinach z GSS; u myszy, w porównaniu z człowiekiem, występuje delecja kodonu 53. genu *PrP*) stanowiłyby główny dowód na istnienie „prionów”, gdyby nie trwająca od ponad 20 lat dyskusja nad znaczeniem i interpretacją tych badań. Myszy te zostały skonstruowane przez Karen Hsiao w laboratorium Prusiner⁽¹³⁸⁾. Hsiao posłużyła się typową

metodą mikroiniekcji do zapłodnionych oocytów. Transgen stworzył sklonowany w kosmidzie fragment genu *PrP* myszy, w którym segment ORF PrP szczepu NZW (czyli o krótkim okresie inkubacji, *Prn-p^a*) został wymieniony na homologiczny segment myszy I/Ln (czyli o długim okresie inkubacji, *Prn-p^b*). Segment transgeny o długości około 100 nukleotydów wokół kodonu 101. został tak zmodyfikowany, iż wykazywał homologię z PrP myszy na poziomie białka, natomiast na poziomie DNA homologię z genem chomika (*hamsterized*), co umożliwiało poszukiwanie transgeny za pomocą odpowiednio skonstruowanej sondy.

Początkowo otrzymano trzy linie transgenicznymi myszy: Tg(GSS PrP)174 (64 kopie tandemowo ułożonego transgeny), Tg(GSS PrP)180 (9 kopii) oraz Tg(GSS PrP)196 (6 kopii). Męski „założyciel” (*founder*) Tg(GSS PrP)174 rozmnażał się, natomiast „założyciel” Tg(GSS PrP)180 był bezpłodny. U myszy Tg(GSS PrP)174 po 7-39 tygodniach życia rozwinęły się ataksja, senność i sztywność, a badanie neuropatologiczne mózgu wykazywało zmiany gąbczaste i astroglejozę. Początkowo nie znaleziono blaszek amyloidowych, posługując się zarówno metodami klasycznej neuropatologii, jak i immunohistochemią PrP, później znaleziono nieliczne PrP-immunododatnie blaszki amyloidowe. Należy szczególnie podkreślić, iż ilość PrP^d była praktycznie niewykrywalna lub niezwykle mała w metodzie typu Western blotting. Ponieważ istniała możliwość interakcji między transgenem a prawidłowym genem *PrP* myszy, grupa Prusiner skonstruowała następnymi myszy transgenicznymi, w których zmutowany transgen wprowadzono w genom myszy „knock-outów”, a zatem pozbawionych prawidłowego genu *PrP* – Tg(MoPrP-P101L)-PrP⁰⁰(139). Tak uzyskane myszy transgenicznymi Tg(MoPrP-P101L)2247/FVB i Tg(MoPrP-P101L)2866/FVB wykazywały ośmiokrotnie wyższą ekspresję PrP^c, a myszy transgenicznymi Tg(MoPrP-P101L)2862/FVB 32-krotny wzrost poziomu PrP^c. Myszy Tg(MoPrP-P101L)2247/FVB i 2262/FVB wykazywały objawy ataksji, sztywności i senności między 150. a 200. dniem życia. Co zaskakujące, u myszy Tg(MoPrP-P101L)2862/FVB, o 32-krotnie wyższym poziomie ekspresji transgeny, choroba pojawiała się później, a nie, jak się spodziewano, wcześniej. Ponieważ myszy Tg(MoPrP-P101L)2247/FVB i 2262/FVB różnią się od myszy Tg(PrP-A)4053/FFB tylko jednym aminokwasem (kodon 101.), wydawało się, że odpowiedzialna za wywołanie spontanicznej choroby zwyrodnieniowej OUN jest ta właśnie mutacja, a nie poziom ekspresji PrP^c (wszystkie trzy linie mają ten sam poziom ekspresji).

Kolejny eksperyment polegał na konstrukcji myszy Tg(MoPrP-P101L)2866/PrP⁰⁰, powstałych w wyniku krzyżowania myszy Tg(MoPrP-P101L)2866/FVB z pozbawionymi *PrP* myszami „knock-outami” (PrP⁰⁰). U tych z kolei myszy spontaniczna choroba zwyrodnieniowa OUN rozwijała się w wąskim „oknie” czasowym 146±2 dni. Uzyskanie, w wyniku krzyżowania, homozygoty MoPrP-P101L powodowało dalsze skrócenie okresu inkubacji do 85±2 dni. Mózgi myszy Tg(MoPrP-P101L)2866/PrP⁰⁰ wykazywały obecność bardzo licznych PrP^d-immunododatnich blaszek amyloidowych, natomiast PrP^d nie dawało się wykryć metodą typu Western blotting.

Najbardziej kontrowersyjną częścią eksperymentu jest „pasaż” z mózgu myszy transgenicznymi⁽¹⁴⁰⁻¹⁴¹⁾. Pasaż z myszy transge-

nicznych Tg(MoPrP-P101L) z nadekspresją transgeny zachodził, ale jedynie na myszy transgenicznymi Tg196, będące nosicielami <10 kopii transgeny. Okres inkubacji dla tego eksperymentu wynosił 226-712 dni. Z kolei pasaż na myszy CD-1 był nieudany, u żadnej z 350 zainokulowanych myszy nie wystąpiły objawy choroby powyżej 500 dni po inokulacji. Z kolei okazało się, że 9 z 148 chomików jest wrażliwych na inokulację homogenatem mózgu myszy transgenicznymi Tg(MoPrP-P101L). Dalszy pasaż z mózgu myszy Tg196 na mózgi myszy Tg196 był udany z okresem inkubacji około 1 roku. PrP^d był niewykrywalny metodą typu Western blotting zarówno u myszy Tg(MoPrP-P101L), jak i Tg196, niezależnie od obecności PrP-immunododatnich blaszek amyloidowych.

Analogicznie do myszy uzyskanych przez Hsiao, uzyskano pasaż z myszy Tg(MoPrP-P101L)2247/FVB i 2866/FVB na myszy Tg(MoPrP-P101L)196/PrP⁰⁰ i Tg(MoPrP-P101L)196/FVB, u których spontaniczna choroba zwyrodnieniowa OUN rozwija się bardzo późno i które wykazują niski poziom ekspresji transgeny. Tak jak w poprzednich eksperymentach, nie można przenieść „genetycznie skonstruowanych prionów” na prawidłowe nietransgenetyczne zwierzęta, co może sugerować, że tak zwany pasaż odzwierciedla jedynie poziom nadekspresji transgeny albo bliżej nieokreślone współdziałanie transgen – transgen. Rozwiązanie tej zagadki umożliwiło jedynie skonstruowanie analogicznych myszy transgenicznymi, ale bez nadekspresji transgeny.

Model⁽¹⁴²⁾ opracowany przez Jeane Manson u myszy PrP⁰⁰ pozbawionych PrP za pomocą transgeny MoPrP^{P101L} charakteryzuje się brakiem nadekspresji PrP, co było cechą charakterystyczną modelu Hsiao. Myszy te (TgPrnp^{a101L}), obserwowane przez długi czas (do około 900 dni), nie wykazywały objawów „spontanicznej choroby neurozwyrodnieniowej”. Analogicznie do modelu Hsiao myszy TgPrnp^{a101L} nie wykazywały immunoekspresji PrP^d ani obecności PrP^d metodą Western blotu. Myszy TgPrnp^{a101L} inokulowane zawiesiną mózgu z GSS (mutacja kodonu 102.) wykazywały objawy choroby; u homozygot TgPrnp^{a101L} okres inkubacji wynosił od 254 do 317 dni. U 5 myszy obserwowano objawy kliniczne oraz wakuolizację w badaniu neuropatologicznym, ale nie immunoekspresję PrP, a u następnych 5 myszy minimalną immunoekspresję PrP. PrP został wykryty w minimalnych ilościach metodą Western blotu. U heterozygot TgPrnp^{a101L/wt} po inokulacji GSS okres inkubacji był zmienny, od braku objawów klinicznych po rozwój objawów klinicznych pomiędzy 411 a 540 dniami i immunoekspresję PrP. Z kolei inokulat uzyskany od homozygot TgPrnp^{a101L} zakażonych GSS był zakaźny dla homozygot TgPrnp^{a101L}, heterozygot TgPrnp^{a101L/wt} oraz homozygot Prnp^{wt/wt}; homozygoty TgPrnp^{a101L} wykazywały najkrótszy okres inkubacji.

Powyższe eksperymenty są interpretowane w dwojaki sposób. W opinii Prusiner i jego zwolenników eksperymenty te świadczą o możliwości genetycznego skonstruowania czynnika infekcyjnego, czyli „prionu” *in vivo*. Jednak tak skonstruowany czynnik zachowuje się inaczej niż wszystkie inne izolaty, ponieważ można go przenieść jedynie na myszy transgenicznymi, które już wykazują ekspresję transgeny MoPrP-P101L, aczkolwiek prawdopodobnie niewystarczającą do wywołania samostojnej choroby⁽¹⁴⁰⁾. Eksperymenty Manson przeczą jednak

tej hipotezie, ponieważ substytucja Pro Leu bez nadekspresji nie wywołuje objawów klinicznych GSS. Istnieje formalna możliwość, że myszy żyją zbyt krótko, żeby mutacja wywołała chorobę (tak jak u człowieka) i do zniwelowania efektu wieku nadekspresja jest konieczna. Innymi słowy nadekspresja znosi efekt różnicy czasu życia człowieka i myszy. Jednak eksperyment Chiesa i wsp.⁽¹⁴³⁾, w którym choroba neurologiczna rozwinęła się u transgenicznym myszy będących nosicielami mutacji, ale bez nadekspresji, świadczy przeciwko powyższemu wytłumaczeniu.

Długotrwała dyskusja nad interpretacją różnic pomiędzy eksperymentami grupy Prusiner'a twierdzącego, że eksperymenty Hsiao i wsp.⁽¹³⁸⁾ należy interpretować jako ostateczny dowód istnienia „prionów”, a Manson argumentującą, że „spontaniczna choroba neurozwyrodnieniowa” jest jedynie proteinopatią będącą skutkiem akceleracji zachodzącego procesu, uzyskała wzmocnienie pod postacią danych opublikowanych przez Nazora i wsp.⁽¹⁴³⁾ wspierających argumenty Manson. Nazor i wsp.⁽¹⁴⁴⁾ uzyskali 4 linie myszy Tg(P101L), u których „spontaniczna choroba neurozwyrodnieniowa” rozwijała się mniej więcej po 165 dniach u Tg(P101L)22 wykazujących 12-krotną nadekspresję PrP lub wcale u myszy Tg(P101L)2 wykazujących brak nadekspresji PrP. Podobnie jak w eksperymentach Hsiao, nie wykazano obecności PrP^d opornego na PK, natomiast mtMoPrP-P101L było immunoprecypitowane przez PrP^d-swoiste przeciwciała 15B3. Znaczący to, że w mózgu myszy Tg(P101L)22 obserwuje się wrażliwe na PK PrP niewykazujące cech PrP^d, ale także nieobecne w zdrowych mózgu Tg(P101L)22. „Spontanicznej choroby neurozwyrodnieniowej” u Tg(P101L)22 nie można było przenieść na Tg(P101L)2 o normalnej ekspresji transgeny. Z kolei myszy Tg(P101L)12 o 6-krotnej nadekspresji transgeny wykazywały objawy „spontanicznej choroby”, natomiast po inokulacji materiałem uzyskanym z Tg(P101L)22 okres inkubacji skracał się o ponad 200 dni. Podsumowując, w eksperymentach z Tg(P101L) nie mamy do czynienia z prawdziwym „pasażem”, ale akceleracją już istniejącego procesu chorobowego. Istnienie populacji PrP wrażliwych na PK (sPrP^{Sc}) zostało potwierdzone przez Tremblaya i wsp.⁽¹⁴⁵⁾ Także syntetyczny peptyd 55-mer MoPrP obejmujący reszty 89-143, a zatem zawierający mutację P101L, wywoływał chorobę u myszy Tg196 o niskim poziomie ekspresji transgeny, ale jedynie po takim zwinieciu, które faworyzowało powstanie struktury arkusza- β ⁽¹⁴⁶⁾. U tak inokulowanych myszy Tg196 wykrywano sPrP^{Sc}. Z mózgu myszy Tg196, u których rozwinęła się choroba po inokulacji peptydem MoPrP(89-143, P101L), udało się dokonać pasażu (akceleracji) choroby na myszy Tg196.

Jak wspomiano, z mózgu chorych z GSS P102L izoluje się generalnie dwa typy PrP peptydów – 21 kDa (jeżeli obserwuje się w mózgu zmiany gąbczaste, tak jak w CJD) i 8 kDa⁽¹⁴⁷⁾. Myszy transgeniczne 101LL inokulowane ekstraktem zawierającym peptyd 21 kDa (P-21) wykazywały objawy choroby 245-330 dni po inokulacji, natomiast te inokulowane ekstraktem zawierającym peptyd wielkości 8 kDa (P-8) nie wykazywały objawów choroby, poza jednym zwierzęciem (TgPrPLL-8s), u którego objawy choroby wystąpiły po ponad 600 dniach. U asymptomatycznych Tg101LL myszy inokulowanych ekstraktem GSS

zawierającym peptyd P-8 (TgPrPLL-8a) obserwowano wielkie złoże amyloidu w obrębie spoidła wielkiego oraz glejową włóknistą i zmiany gąbczaste w obrębie wzgórza. Poziom PrP^d był niski lub niewykrywalny u myszy TgPrPLL-21 oraz TgPrPLL-8a pomimo obecności złogów amyloidu, poza jednym przypadkiem TgPrPLL-8a charakteryzującym się obecnością PrP^d-immunoreaktywnych blaszek amyloidowych. Z mózgu myszy TgPrPLL-8s i TgPrPLL-21 udało się przenieść chorobę na TgPrPLL po okresie inkubacji krótszym niż ten dla myszy TgPrPLL inokulowanych GSS, natomiast myszy TgPrPLL inokulowane materiałem z TgPrPLL-8s nie wykazywały objawów choroby, ale ich mózgi ponownie zawierały wielkie złoże amyloidu. Podsumowując, dane te sugerują, że interakcja pomiędzy zmutowanym transgenem myszy TgPrPLL a amyloidem w mózgu myszy TgPrPLL-8a jest wystarczająca do uruchomienia mechanizmu amyloidogenezy, ale nie jest wystarczająca do wygenerowania czynnika infekcyjnego.

Ostatnio Mastrianni i wsp. uzyskali model transgenetyczny GSS Ala117Val⁽¹⁴⁸⁾. U myszy Tg(A116V), z ponad 6-krotną nadekspresją transgeny, obserwowano rozwój „spontanicznej choroby neurozwyrodnieniowej” rozpoczynającej się około 5. miesiąca życia. Badanie neuropatologiczne wykazało obecność PrP-immunoreaktywnych blaszek amyloidowych, głównie z jednym rdzeniem, ale niekiedy z wieloma peryferyjnie ułożonymi depozytami, co bardziej przypomina typowe dla GSS blaszki wielordzeniowe. Blaszkę zawierała całą sekwencję PrP; PrP^d wielkości 13 kDa wykazywało nierozpuszczalność w detergentach i oporność na proteinazę K, aczkolwiek poziom frakcji PrP^d, wykazującej obie te cechy, był bardzo niski.

MODEL TRANSGENICZNY U DROSOPHILA

Interesujący model opracowano u muchy owocowej *Drosophila melanogaster* (DM) transfekowanej MoPrP^{P101L}, porównując go z modelem uzyskanym za pomocą transgeny MoPrP^{3F4}⁽¹⁴⁹⁾. W modelu tym w „mózgach” much obserwuje się akumulację odpornego na proteinazę K PrP^{P101L}, efekty behawioralne oraz immunoreaktywne złoże PrP, nieprzypominające jednak blaszek wielordzeniowych GSS. Autorzy obserwowali również duże wakuole, także w niczym nieprzypominające wakuoli zmian gąbczastych.

PIŚMIENNICTWO:

BIBLIOGRAPHY:

1. Kong Q., Surewicz W.K., Petersen R.B. i wsp.: Inherited prion diseases. W: Prusiner S.B. (red.): Prion Biology and Diseases. Cold Spring Harbor Laboratory Press, New York 2004: 673-775.
2. Kovács G., Trabattoni G., Hainfellner J.A. i wsp.: Mutations of the prion protein gene. Phenotypic spectrum. J. Neurol. 2002; 249: 1567-1582.
3. Liberski P.P., Budka H.: Gertsman-Sträussler-Scheinker disease I. Human diseases. Folia Neuropathol. 2004; 42 (supl. B): 120-140.
4. Liberski P.P., Jaskólski D., Brown P.: Gertsman-Sträussler-Scheinker disease II. An effect of GSS mutation on PrP structure. Folia Neuropathol. 2004; 42 (supl. B): 140-152.
5. Budka H., Aguzzi A., Brown P. i wsp.: Neuropathological diagnostic criteria for Creutzfeldt-Jakob disease (CJD) and

- other human spongiform encephalopathies (prion diseases). *Brain Pathol.* 1995; 4: 459-466.
6. Dimitz L.: Bericht der Vereines für Psychiatrie und Neurologie in Wien (Vereinsjahr 1912/1913), Sitzung vom 11 Juni 1912. *Jahrb Psychiatr. Neurol.* 1913; 34: 384.
 7. Gerstmann J.: Über ein noch nicht beschriebenes Reflexphänomen bei einer Erkrankung des zerebellaren Systems. *Wien. Medizin. Wochenschr.* 1928; 78: 906-908.
 8. Triarhou L.C.: Josef Gerstmann (1887-1969). *J. Neurol.* 2008; 255: 614-615.
 9. Jellinger K.A.: A short history of neurosciences in Austria. *J. Neural Transm.* 2006; 113: 271-282.
 10. Gerstmann J., Strüssler E., Scheinker I.: Über eine eigenartige hereditär-familiäre Erkrankung des Zentralnervensystems. Zugleich ein Beitrag zur Frage des vorzeitigen lokalen Alterns. *Z. Ges. Neurol. Psychiatr.* 1936; 154: 736-762.
 11. Scheinker I.: *Neuropathology in Its Clinicopathologic Aspects*, Springfield, Charles C Thomas 1947.
 12. Braunnühl von A.: Über eine eigenartige hereditär-familiäre Erkrankung des Zentralnervensystems. *Arch. Psychiatr. Z. Neurol.* 1954; 191: 419-449.
 13. Seitelberger F.: Eigenartige familiar-hereditäre Krankheit des Zentralnervensystems in einer niederösterreichischen Sippe. *Wien Klein. Wochen* 1962; 74: 687-691.
 14. Seitelberger F.: Neuropathological conditions related to neuroaxonal dystrophy. *Acta Neuropathol. (Berl.) Suppl.* 1971; 7: 17-29.
 15. Gajdusek D.C., Gibbs C.J., Alpers M.P.: Experimental transmission of a kuru-like syndrome to chimpanzees. *Nature* 1966; 209: 794-796.
 16. Masters C.L., Gajdusek D.C., Gibbs C.J. Jr.: Creutzfeldt-Jakob disease virus isolations from the Gerstmann-Strüssler syndrome. With an analysis of the various forms of amyloid plaque deposition in the virus induced spongiform encephalopathies. *Brain* 1981; 104: 559-588.
 17. Hainfellner J., Brantner-Inhler S., Cervenáková L. i wsp.: The original Gerstmann-Strüssler-Scheinker family of Austria: divergent clinicopathological phenotypes but constant PrP genotype. *Brain Pathol.* 1995; 5: 201-213.
 18. Liberski P.P., Budka H.: Ultrastructural pathology of Gerstmann-Strüssler-Scheinker disease. *Ultrastr. Pathol.* 1995; 19: 23-36.
 19. Tateishi J., Kitamoto T., Hashiguchi H., Shii H.: Gerstmann-Strüssler-Scheinker disease: immunohistological and experimental studies. *Ann. Neurol.* 1988; 24: 35-40.
 20. Baker H.F., Duchon L.W., Jacobs J.M., Ridley R.M.: Spongiform encephalopathy transmitted experimentally from Creutzfeldt-Jakob and familial Gerstmann-Strüssler-Scheinker diseases. *Brain* 1990; 113: 1891-1909.
 21. Brown P., Gibbs C. Jr., Rodgers Johnson P. i wsp.: Human spongiform encephalopathy: the National Institutes of Health series of 300 cases of experimentally transmitted disease. *Ann. Neurol.* 1994; 35: 513-529.
 22. Brown – informacja własna, 2005.
 23. Worster-Drought C., Greenfield J.G., McMenemy W.H.: A form of familial presenile dementia with spastic paralysis (including the pathological examination of a case). *Brain* 1940; 63: 237-254.
 24. Worster-Drought C., Greenfield J.G., McMenemy W.H.: A form of familial presenile dementia with spastic paralysis. *Brain* 1944; 67: 38-43.
 25. Worster-Drought C., Hill T.R., McMenemy W.H.: Familial presenile dementia with spastic paralysis. *J. Neurol. Psychopathol.* 1933; 14: 27-34.
 26. Masters C.L., Beyreuther K.: The Worster-Drought syndrome and other syndromes of dementia with spastic paraparesis: the paradox of molecular pathology. *J. Neuropathol. Exp. Neurol.* 2001; 60: 317-319.
 27. Hsiao K., Baker H.F., Crow T.J. i wsp.: Linkage of a prion protein missense variant to Gerstmann-Strüssler syndrome. *Nature* 1989; 338: 342-345.
 28. Kuzuhara S., Kanazawa I., Sasaki H. i wsp.: Gerstmann-Strüssler-Scheinker's disease. *Ann. Neurol.* 1983; 14: 216-225.
 29. Yamada M., Tomimotsu H., Yokota T. i wsp.: Involvement of the spinal posterior horn in Gerstmann-Strüssler-Scheinker disease (PrP P102L). *Neurology* 1999; 52: 260-265.
 30. Boellaard J.W., Schlote W.: Subakute spongiforme Encephalopathie mit multiformer Plaquebildung. „Eigenartige familiär-hereditäre Krankheit des Zentralnervensystems [spino-cerebellare Atrophie mit Demenz, Plaques und plaqueähnlichen Ablagerungen im Klein- and Großhirn“ (Gerstmann, Strüssler, Scheinker)]. *Acta Neuropathol. (Berl.)* 1980; 49: 205-212.
 31. Doerr-Schott J., Kitamoto T., Tateishi J. i wsp.: Technical communication. Immunogold light and electron microscopic detection of amyloid plaques in transmissible spongiform encephalopathies. *Neuropathol. Appl. Neurobiol.* 1990; 16: 85-89.
 32. Schlote W., Boellaard J.W., Schumm F., Stöhr M.: Gerstmann-Strüssler-Scheinker's disease. Electron-microscopic observations on a brain biopsy. *Acta Neuropathol. (Berl.)* 1980; 52: 203-211.
 33. Schumm F., Boellaard J.W., Schlote W. i wsp.: Morbus Gerstmann-Strüssler-Scheinker. *Familie Sch. – Ein Bericht über drei Kranke.* *Arch. Psychiatr. Nervenkr.* 1981; 30: 179-196.
 34. Goldhammer Y., Gabizon R., Meiner Z., Sadeh M.: An Israeli family with Gerstmann-Strüssler-Scheinker disease manifesting the codon 102 mutation in the prion protein gene. *Neurology* 1993; 43: 2718-2719.
 35. Majtényi C., Brown P., Cervenáková L. i wsp.: A three-sister sibship of Gerstmann-Strüssler-Scheinker disease with a CJD phenotype. *Neurology* 2000; 54: 2133-2137.
 36. Kulczycki J., Collinge J., Lojkowska W. i wsp.: Report on the first Polish case of the Gerstmann-Strüssler-Scheinker syndrome. *Folia Neuropathol.* 2001; 39: 27-31.
 37. Cameron E., Crawford A.D.: A familial neurological disease complex in a Bedfordshire community. *J. R. Coll. Gen. Pract.* 1974; 24: 435-436.
 38. Collinge J., Harding A.E., Owen F. i wsp.: Diagnosis of Gerstmann-Strüssler syndrome in familial dementia with prion protein gene analysis. *Lancet* 1989; 2: 15-17.
 39. Barbanti P., Fabbri G., Salvatore M. i wsp.: Polymorphism at codon 129 or codon 219 of PRNP and clinical heterogeneity in a previously unreported family with Gerstmann-Strüssler-Scheinker disease (PrP-P102L mutation). *Neurology* 1996; 47: 734-741.
 40. Bianca M., Bianca S., Vecchio I. i wsp.: Gerstmann-Strüssler-Scheinker disease with P102L-V129 mutation: a case with psychiatric manifestations at onset. *Ann. Genet.* 2003; 46: 467-469.
 41. De Michele G., Pocchiarri M., Petraroli R. i wsp.: Variable phenotype in a P102L Gerstmann-Strüssler-Scheinker Italian family. *Can. J. Neurol. Sci.* 2003; 30: 233-236.
 42. Kretschmar H.A., Honold G., Seitelberger F. i wsp.: Prion protein mutation in family first reported by Gerstmann, Strüssler and Scheinker. *Lancet* 1991; 337: 1160.
 43. Wang Y., Qiao X.Y., Zhao C.B. i wsp.: Report on the first Chinese family with Gerstmann-Strüssler-Scheinker disease manifesting the codon 102 mutation in the prion protein gene. *Neuropathology* 2006; 26: 429-432.
 44. Park M.J., Jo H.Y., Cheon S.M. i wsp.: A case of Gerstmann-Strüssler-Scheinker disease. *J. Clin. Neurol.* 2010; 6: 46-50.
 45. Webb T.E.F., Poulter M., Beck J. i wsp.: Phenotypic heterogeneity and genetic modification of P102L inherited prion disease in an international series. *Brain* 2008; 131: 2632-2646.
 46. Young K., Clark H.B., Piccardo P. i wsp.: Gerstmann-Strüssler-Scheinker disease with the PRNP P102L mutation and valine at codon 129. *Molec. Brain Res.* 1997; 44: 147-150.
 47. Miyazono M., Iwaki T., Kitamoto T. i wsp.: A comparative immunohistochemical study of Kuru and senile plaques with a special reference to glial reactions at various stages of amyloid plaque formation. *Am. J. Pathol.* 1991; 139: 589-598.

48. Liberski P.P., Sikorska B., Hauw J.J. i wsp.: Ultrastructural characteristics (or evaluation) of Creutzfeldt-Jakob disease and other human transmissible spongiform encephalopathies or prion diseases. *Ultrastruct. Pathol.* 2010; 34: 351-361.
49. Barcikowska M., Liberski P.P., Boellaard J.W. i wsp.: Microglia is a component of the prion protein amyloid plaque in the Gerstmann-Sträussler-Schenker syndrome. *Acta Neuropathol.* 1993; 85: 623-627.
50. Zubert M., Napieralska M., Napieralski A. i wsp.: The image registration of TME biomedical images in variant Creutzfeldt-Jakob diseases. 2006 IEEE Symposium on Computational Intelligence in Bioinformatics and Computational Biology – 2006 IEEE CIBCB, Toronto, September 28-29, 2006: 443-450.
51. Zubert M., Napieralska M., Napieralski M.: The application of GHMRF to 3-D synthetic proliferation. *NanoTech Conference & Expo 2009 (NSTI, BioNano,WEM)*, Vol. 2, pp. 127-130, Houston, May 3-7 2009, CRC Press, ISBN 978-1-4398-1786-5.
52. Ohgami T., Kitamoto T., Weidmann A. i wsp.: Alzheimer's amyloid precursor protein-positive degenerative neurites exist even within kuru plaques not specific to Alzheimer's disease. *Am. J. Pathol.* 1991; 139: 1245-1250.
53. Piccardo P., Ghetti B., Dickson D.W. i wsp.: Gerstmann-Sträussler-Scheinker disease (*PRNP* P102L): amyloid deposits are best recognized by antibodies directed to epitopes in PrP region 90-165. *J. Neuropathol. Exp. Neurol.* 1995; 54: 790-801.
54. Ishizawa K., Komori T., Shimazu T. i wsp.: Hyperphosphorylated tau deposition parallels prion protein burden in a case of Gerstmann-Sträussler-Scheinker syndrome P102L mutation complicated with dementia. *Acta Neuropathol.* 2002; 104: 342-350.
55. Wang X.F., Dong C.F., Zhang J. i wsp.: Human tau protein forms complex with PrP and some GSS- and ICDJ-related PrP mutants possess stronger binding activities with tau in vitro. *Mol. Cell. Biochem.* 2008; 310: 49-55.
56. Liberski P.P., Sikorska B., Gibson P., Brown P.: Autophagy contributes to widespread neuronal degeneration in hamsters infected with the Echigo-1 strain of Creutzfeldt-Jakob disease and mice infected with the Fujisaki strain of Gerstmann-Sträussler-Scheinker (GSS) syndrome. *Ultrastruct. Pathol.* 2011; 35: 31-36.
57. Waliś A., Bratosiewicz J., Sikorska B. i wsp.: Ultrastructural changes in the optic nerves of rodents with experimental Creutzfeldt-Jakob disease (CJD), Gerstmann-Sträussler-Scheinker disease (GSS) or scrapie. *J. Comp. Pathol.* 2003; 129: 213-225.
58. Jesionek-Kupnicka D., Kordek R., Buczyński J., Liberski P.P.: Apoptosis in relation to neuronal loss in experimental Creutzfeldt-Jakob disease in mice. *Acta Neurobiol. Exp. (Wars.)* 2001; 61: 13-19.
59. Jesionek-Kupnicka D., Buczyński J., Kordek R., Liberski P.P.: Neuronal loss and apoptosis in experimental Creutzfeldt-Jakob disease in mice. *Folia Neuropathol.* 1999; 37: 283-286.
60. Kordek R., Hainfellner J.A., Liberski P.P., Budka H.: Deposition of the prion protein (PrP) during the evolution of experimental Creutzfeldt-Jakob disease. *Acta Neuropathol.* 1999; 98: 597-602.
61. Guentchev M., Groschup M.H., Kordek R. i wsp.: Severe, early and selective loss of a subpopulation of GABAergic inhibitory neurons in experimental transmissible spongiform encephalopathies. *Brain Pathol.* 1998; 8: 615-623.
62. Kordek R., Liberski P.P., Yanagihara R. i wsp.: Molecular analysis of prion protein (PrP) and glial fibrillary acidic protein (GFAP) transcripts in experimental Creutzfeldt-Jakob disease in mice. *Acta Neurobiol. Exp. (Wars.)* 1997; 57: 85-90.
63. Kordek R., Nerurkar V.R., Liberski P.P. i wsp.: Heightened expression of tumor necrosis factor alpha, interleukin 1 alpha, and glial fibrillary acidic protein in experimental Creutzfeldt-Jakob disease in mice. *Proc. Natl Acad. Sci. USA* 1996; 93: 9754-9758.
64. Liberski P.P., Yanagihara R., Gibbs C.J. Jr i wsp.: Mechanism of the damage to myelinated axons in experimental Creutzfeldt-Jakob disease in mice: an ultrastructural study. *Eur. J. Epidemiol.* 1991; 7: 545-550.
65. Liberski P.P., Yanagihara R., Gibbs C.J. Jr, Gajdusek D.C.: Experimental Creutzfeldt-Jakob disease: light microscopic, immunohistochemical and ultrastructural studies of the Fujisaki strain of Creutzfeldt-Jakob disease virus in NIH Swiss mice. *Neuropatol. Pol.* 1991; 29: 1-17.
66. Liberski P.P., Yanagihara R., Asher D.M. i wsp.: Reevaluation of the ultrastructural pathology of experimental Creutzfeldt-Jakob disease. Serial studies of the Fujisaki strain of Creutzfeldt-Jakob disease virus in mice. *Brain* 1990; 113: 121-137.
67. Liberski P.P., Yanagihara R., Gibbs C.J. Jr, Gajdusek D.C.: Spread of Creutzfeldt-Jakob disease virus along visual pathways after intraocular inoculation. *Arch. Virol.* 1990; 111: 141-147.
68. Liberski P.P., Yanagihara R., Gibbs C.J. Jr, Gajdusek D.C.: Appearance of tubulovesicular structures in experimental Creutzfeldt-Jakob disease and scrapie precedes the onset of clinical disease. *Acta Neuropathol.* 1990; 79: 349-354.
69. Amano N., Yagishita S., Yokoi S.: Gerstmann-Sträussler-Scheinker syndrome – a variant type: amyloid plaques and Alzheimer's neurofibrillary tangles in cerebral cortex. *Acta Neuropathol.* 1992; 84: 15-23.
70. Itoh Y., Yamada M., Hayakawa M. i wsp.: A variant of Gerstmann-Sträussler-Scheinker disease carrying codon 105 mutation with codon 129 polymorphism of the prion protein gene: a clinicopathological study. *J. Neurol. Sci.* 1994; 127: 77-86.
71. Kitamoto M., Amano N., Terao Y. i wsp.: A new inherited prion disease (PrP P105L mutation) showing spastic paraparesis. *Ann. Neurol.* 1993; 34: 808-813.
72. Kitamoto T., Ohta M., Doh-ura K. i wsp.: Novel missense variants of prion protein in Creutzfeldt-Jakob disease or Gerstmann-Sträussler syndrome. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 1993; 191: 709-714.
73. Kubo M., Nishimura T., Shikata E. i wsp.: A case of variant Gerstmann-Sträussler-Scheinker disease with the mutation of codon P105L. *Rinsho Shinkeigaku* 1995; 35: 873-877.
74. Nakazato Y., Ohno R., Negishi T. i wsp.: An autopsy case of Gerstmann-Sträussler-Scheinker's disease with spastic paraplegia as its principal feature. *Clin. Neuropathol.* 1991; 31: 987-992.
75. Yamada M., Itoh Y., Fujigasaki H. i wsp.: A missense mutation at codon 105 with codon 129 polymorphism of the prion protein gene in a new variant of Gerstmann-Sträussler-Scheinker disease. *Neurology* 1993; 43: 2723-2724.
76. Yamada M., Itoh Y., Inaba A. i wsp.: An inherited prion disease with a PrP P105L mutation: clinicopathologic and PrP heterogeneity. *Neurology* 1999; 53: 181-188.
77. Yamazaki M., Oyanagi K., Mori O. i wsp.: Variant Gerstmann-Sträussler syndrome with the P105L prion gene mutation: an unusual case with nigral degeneration and widespread neurofibrillary tangles. *Acta Neuropathol. (Berl.)* 1999; 98: 506-511.
78. Doh-ura K., Tateishi J., Sakaki H. i wsp.: Pro → Leu change at position 102 of prion protein is the most common but not the sole mutation related to Gerstmann-Sträussler-Scheinker syndrome. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 1989; 163: 974-979.
79. Rogaeva E., Zaidkoff C., Ponsesse J. i wsp.: Childhood onset in familial prion disease with a novel mutation in the *PRNP* gene. *Arch. Neurol.* 2006; 63: 1016-1021.
80. Polymenidou M., Prokop S., Jung H.H. i wsp.: Atypical prion protein confirmation in familial prion disease with *PRNP* P105T mutation. *Brain Pathol.* 2011; 21: 209-214.

81. Tunnell E., Wollman R., Cortes C.J. i wsp.: A novel *PRNP*-P105S mutation associated with atypical prion disease and a rare PrP^{Sc} conformation. *Neurology* 2008; 71: 1431-1438.
82. Heldt N., Boellaard J.W., Brown P. i wsp.: Gerstmann-Sträussler-Scheinker disease with A117V mutation in a second French-Alsatian family. *Clin. Neuropathol.* 1998; 17: 229-234.
83. Heldt N., Floquet J., Warter J.M. i wsp.: Syndrome de Gerstmann-Sträussler-Scheinker: Neuropathologie de trois cas dans une famille alsacienne. W: Court L.A., Cathala F. (red.): *Virus non conventionnels et affections du système nerveux central*. Masson, Paris, 1983: 290-297.
84. Hsiao K., Dlouhy S.R., Farlow M.R. i wsp.: Mutant prion proteins in Gerstmann-Sträussler-Scheinker disease with neurofibrillary tangles. *Nat. Genet.* 1992; 1: 68-71.
85. Mallucci G.R., Campbell T.A., Dickinson A. i wsp.: Inherited prion disease with an alanine to valine mutation at codon 117 in the prion protein gene. *Brain* 1999; 122: 1823-1837.
86. Mastrianni J.A., Curtis M.T., Oberholtzer J.C. i wsp.: Prion disease (PrP – A117V) presenting with ataxia instead of dementia. *Neurology* 1996; 45: 2042-2050.
87. Mohr M., Tranchant C., Steinmetz G. i wsp.: Gerstmann-Sträussler-Scheinker disease and the French-Alsatian A117V variant. *Clin. Exp. Pathol.* 1999; 47: 161-175.
88. Tranchant C., Doh-Ura K., Steinmetz G. i wsp.: Mutation of codon 117 of the prion gene in Gerstmann-Sträussler-Scheinker disease. *Rev. Neurol. (Paris)* 1991; 147: 274-278.
89. Tranchant C., Doh-Ura K., Warter J.M. i wsp.: Gerstmann-Sträussler-Scheinker disease in an Alsatian family: clinical and genetic studies. *J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry* 1992; 55: 185-187.
90. Tranchant C., Sergeant N., Watzel A. i wsp.: Neurofibrillary tangles in Gerstmann-Sträussler-Scheinker syndrome with the A117V prion gene mutation. *J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry* 1997; 63: 240-246.
91. Tagliavini F., Lievens P.M.J., Tranchant C. i wsp.: A 7-kDa prion protein (PrP) fragment, an integral component of the PrP region required for infectivity, is the major amyloid protein in Gerstmann-Sträussler-Scheinker disease A117V. *J. Biol. Chem.* 2001; 276: 6009-6015.
92. Ghetti B., Bugiani O., Tagliavini F. i wsp.: Gerstmann-Sträussler-Scheinker disease. W: Dickson D. (red.): *Neurodegeneration: The Molecular Pathology of Dementia and Movement Disorders*. ISN Neuropath Press, Basel 2003: 318-325.
93. Piccardo P., Liepnieks J.J., William A. i wsp.: Prion proteins with different conformations accumulate in Gerstmann-Sträussler-Scheinker disease caused by A117V and F198S mutations. *Am. J. Pathol.* 2001; 158: 2201-2207.
94. Kitamoto T., Doh-ura K., Muramoto T. i wsp.: The primary structure of the prion protein influences the distribution of abnormal prion protein in the central nervous system. *Am. J. Pathol.* 1992; 141: 271-277.
95. Panegyres P.K., Toufexis K., Kakulas B.A. i wsp.: A new *PRNP* mutation (G131V) associated with Gerstmann-Sträussler-Scheinker disease. *Arch. Neurol.* 2001; 58: 1899-1902.
96. Kitamoto T., Iizuka R., Tateishi J.: An amber mutation of prion protein in Gerstmann-Sträussler syndrome with mutant PrP plaques. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 1993; 192: 525-531.
97. Butefisch C.M., Gambetti P., Cervenakova L. i wsp.: Inherited prion encephalopathy associated with the novel *PRNP* H187R mutation: a clinical study. *Neurology* 2000; 55: 517-522.
98. Colucci M., Molerès F.J., Xie Z.L. i wsp.: Gerstmann-Sträussler-Scheinker: a new phenotype with 'curly' PrP deposits. *J. Neuropathol. Exp. Neurol.* 2006; 65: 642-651.
99. Dlouhy S.R., Hsiao K., Farlow M.R. i wsp.: Linkage of the Indiana kindred of Gerstmann-Sträussler-Scheinker disease to the prion protein gene. *Nat. Genet.* 1992; 1: 64-67.
100. Mirra S.S., Young K., Gearing M. i wsp.: Coexistence of prion protein (PrP) amyloid, neurofibrillary tangles and Lewy bodies in Gerstmann-Sträussler-Scheinker disease with prion gene (*PRNP*) mutation F198S. *Brain Pathol.* 1997; 7: 1378.
101. Farlow M.R., Tagliavini F., Bugiani O. i wsp.: Gerstmann-Sträussler-Scheinker disease. W: Vinken P.J., Bruyn G.W., Klawans H.L. (red.): *Hereditary Neuropathies and Spinocerebellar Atrophies*. Elsevier Science Publishers, Amsterdam 1991: 619-633.
102. Farlow M.R., Yee R.D., Dlouhy S.R. i wsp.: Gerstmann-Sträussler-Scheinker disease. I. Extending the clinical spectrum. *Neurology* 1989; 39: 1446-1452.
103. Yee R.D., Farlow M.R., Suzuki D.A. i wsp.: Abnormal eye movements in Gerstmann-Sträussler-Scheinker disease. *Arch. Ophthalmol.* 1992; 110: 68-74.
104. Ghetti B., Dlouhy S.R., Giaccone G. i wsp.: Gerstmann-Sträussler-Scheinker diseases and the Indiana kindred. *Brain Pathol.* 1995; 5: 61-95.
105. Ghetti B., Tagliavini F., Giaccone G. i wsp.: Familial Gerstmann-Sträussler-Scheinker disease with neurofibrillary tangles. *Mol. Neurobiol.* 1994; 8: 41-48.
106. Ghetti B., Tagliavini F., Masters C.L. i wsp.: Gerstmann-Sträussler-Scheinker disease. II. Neurofibrillary tangles and plaques with PrP-amyloid coexist in an affected family. *Neurology* 1989; 39: 1453-1461.
107. Nochlin D., Sumi S.M., Bird T.D. i wsp.: Familial dementia with PrP positive amyloid plaques: a variant of Gerstmann-Sträussler syndrome. *Neurology* 1989; 39: 910-918.
108. Pearlman R.L., Towfighi J., Pezeshkpour G.H. i wsp.: Clinical significance of types of cerebellar amyloid plaques in human spongiform encephalopathies. *Neurology* 1988; 38: 1249-1254.
109. Bugiani O., Giaccone G., Verga L. i wsp.: β PP participates in PrP-amyloid plaques of Gerstmann-Sträussler-Scheinker disease, Indiana kindred. *J. Neuropathol. Exp. Neurol.* 1993; 52: 64-70.
110. Tagliavini F., Prelli F., Porro M. i wsp.: Amyloid fibrils in Gerstmann-Sträussler-Scheinker disease (Indiana and Swedish kindreds) express only PrP peptides encoded by the mutant allele. *Cell* 1994; 79: 695-703.
111. Giaccone G., Verga L., Bugiani O. i wsp.: Prion protein pre-amyloid and amyloid deposits in Gerstmann-Sträussler-Scheinker disease, Indiana kindred. *Proc. Natl Acad. Sci. USA* 1992; 89: 9349-9353.
112. Kepe V., Ghetti B., Farlow M.R. i wsp.: PET of brain protein amyloid in Gerstmann-Sträussler-Scheinker disease. *Brain Pathol.* 2010; 20: 419-430.
113. Young K., Piccardo P., Kish S.J. i wsp.: Gerstmann-Sträussler-Scheinker disease (GSS) with a mutation at prion protein (PrP) residue 212. W: The 74th Annual Meeting of the American Association of Neuropathologists Inc, Minneapolis, Minnesota, June 18-21. *J. Neuropathol. Exp. Neurol.* 1998; 57: 518.
114. Piccardo P., Dlouhy S.R., Lievens P.M.J. i wsp.: Phenotypic variability of Gerstmann-Sträussler-Scheinker disease is associated with prion protein heterogeneity. *J. Neuropathol. Exp. Neurol.* 1998; 57: 979-988.
115. Ikeda S., Yanagisawa N., Glenner G.G. i wsp.: Gerstmann-Sträussler-Scheinker disease showing β -protein amyloid deposits in the peripheral regions of PrP-immunoreactive amyloid plaques. *Neurodegeneration* 1992; 1: 281-288.
116. Alzualde A., Indakoetxea B., Ferrer I. i wsp.: A novel *PRNP* Y218N mutation in Gerstmann-Sträussler-Scheinker disease with neurofibrillary degeneration. *J. Neuropathol. Exp. Neurol.* 2010; 69: 789-800.
117. Liberski P.P., Barcikowska M., Cervenakova L. i wsp.: A case of sporadic Creutzfeldt-Jakob disease with a Gerstmann-Sträussler-Scheinker phenotype but no alterations in the *PRNP* gene. *Acta Neuropathol.* 1998; 96: 425-430.

118. Liberski P.P., Bratosiewicz J., Barcikowska M. i wsp.: A case of sporadic Creutzfeldt-Jakob disease with Gerstmann-Sträussler-Scheinker phenotype but no alterations in the *PRNP* gene. *Acta Neuropathol. (Berl.)* 2000; 100: 233-234.
119. Hinnell C., Coulthart M.B., Jansen G.H. i wsp.: Gerstmann-Straussler-Scheinker disease due to a novel prion protein gene mutation. *Neurology* 2011; 76: 485-487.
120. Hudson A.J., Farrell M.A., Kalnins R. i wsp.: Gerstmann-Sträussler-Scheinker disease with coincidental familial onset. *Ann. Neurol.* 1983; 14: 670-678.
121. Peiffer J.: Gerstmann-Sträussler's disease, atypical multiple sclerosis and carcinomas in family of sheepbreeders. *Acta Neuropathol. (Berl.)* 1982; 56: 87-92.
122. Ceballos Alonso C., Baringo Fuentes T., Pelegñin Valero C.: Gerstmann-Sträussler syndrome clinical and neuromorphofunctional diagnosis: a case report. *Actas Luso Esp. Neurol. Psiquiatr. Cienc. Afines* 1996; 24: 156-160.
123. Vinters H.V., Hudson A.J., Kaufmann J.C.E.: Gerstmann-Sträussler-Scheinker disease: autopsy study of a familial case. *Ann. Neurol.* 1986; 20: 540-543.
124. de Courten-Myers G., Mandybur T.I.: Atypical Gerstmann-Sträussler syndrome or familial spinocerebellar ataxia and Alzheimer's disease? *Neurology* 1987; 37: 269-275.
125. de Courten-Myers G. – informacja własna, 2005.
126. Gabizon R., Telling G., Meiner Z. i wsp.: Insoluble wild-type and protease-resistant mutant prion protein in brains of patients with inherited prion diseases. *Nat. Med.* 1996; 2: 59-64.
127. Bolton D.C., McKinley M.P., Prusiner S.B.: Identification of a protein that purifies with the scrapie prion. *Science* 1982; 218: 1309-1311.
128. McKinley M.P., Bolton D.C., Prusiner S.B.: A protease resistant protein is a structural component of the scrapie prion. *Cell* 1983; 35: 57-62.
129. Chen S.G., Teplow D.B., Parchi P. i wsp.: Truncated forms of the human prion protein in normal brain and in prion diseases. *J. Biol. Chem.* 1995; 270: 19173-19180.
130. Chakrabarti O., Ashok A., Hegde R.S.: Prion protein biosynthesis and its emerging role in neurodegeneration. *Trends Biochem. Sci.* 2009; 34: 287-295.
131. Parchi P., Chen S.G., Brown P. i wsp.: Different patterns of truncated prion protein fragments correlate with distinct phenotypes in P102L Gerstmann-Sträussler-Scheinker disease. *Proc. Natl Acad. Sci. USA* 1998; 95: 8322-8327.
132. Wadsworth J.F.D., Joiner S., Linehan J.M. i wsp.: Phenotypic heterogeneity in inherited prion disease (P102L) is associated with differential propagation of proteinase-resistant wild-type and mutant prion protein. *Brain* 2006; 129: 1557-1569.
133. Mishra R.S., Gu Y., Bose S. i wsp.: Cell surface accumulation of a truncated transmembrane prion protein in Gerstmann-Straussler-Scheinker disease P102L. *J. Biol. Chem.* 2002; 277: 24554-24561.
134. Hegde R.S., Tremblay P., Groth D. i wsp.: Transmissible and genetic prion diseases share a common pathway of neurodegeneration. *Nature* 1999; 402: 822-826.
135. Hegde R.S., Mastrianni J.A., Scott M.R. i wsp.: A transmembrane form of the prion protein in neurodegenerative disease. *Science* 1998; 279: 827-834.
136. Hegde R.S., Rane N.S.: Prion protein trafficking and the development of neurodegeneration. *Trends Neurosci.* 2003; 26: 337-339.
137. Hegde R.S., Rane N.S.: The molecular basis of prion protein-mediated neuronal damage. W. Brown D.R. (red.): *Neurodegeneration and Prion Disease*. Springer, New York 2005: 407-450.
138. Hsiao K., Scott M., Foster D. i wsp.: Spontaneous neurodegeneration in transgenic mice with mutant prion protein. *Science* 1990; 250: 1587-1590.
139. Telling G.C., Haga T., Torchia M. i wsp.: Interactions between wild-type and mutant prion proteins modulate neurodegeneration in transgenic mice. *Genes Dev.* 1996; 10: 1736-1750.
140. Hsiao K.K., Groth D., Scott M. i wsp.: Serial transmission in rodents of neurodegeneration from transgenic mice expressing mutant prion protein. *Proc. Natl Acad. Sci. USA* 1994; 91: 9126-9130.
141. Wadsworth J.D.F., Asante E.A., Collinge J.: Review: contribution of transgenic models to understanding human prion disease. *Neuropathol. Appl. Neurobiol.* 2010; 36: 576-597.
142. Manson J.C., Jamieson E., Baybutt H. i wsp.: A single amino acid alteration (101L) introduced into murine PrP dramatically alters incubation time of transmissible spongiform Encephalopathy. *EMBO J.* 1999; 18: 6855-6864.
143. Chiesa R., Piccardo P., Ghetti B., Harris D.A.: Neurological illness in transgenic mice expressing a prion protein with an insertional mutation. *Neuron* 1998; 21: 1339-1351.
144. Nazor K.E., Kuhn F., Seward T. i wsp.: Immunodetection of disease-associated mutant PrP, which accelerates disease in GSS transgenic mice. *EMBO J.* 2005; 24: 2472-2480.
145. Tremblay P., Ball H.L., Kaneko K. i wsp.: Mutant PrP^{Sc} conformers induced by a synthetic peptide and several prion strains. *J. Virol.* 2004; 78: 2088-2099.
146. Kaneko K., Ball H.L., Wille H. i wsp.: A synthetic peptide initiates Gerstmann-Straussler-Scheinker (GSS) disease in transgenic mice. *J. Mol. Biol.* 2000; 295: 997-1007.
147. Piccardo P., Manson J.C., King D. i wsp.: Accumulation of prion protein in the brain that is not associated with transmissible disease. *PNAS* 2007; 104: 4712-4717.
148. Yang W., Cook J., Rassbach B. i wsp.: A new transgenic model of Gerstmann-Straussler-Scheinker syndrome due to the A117V mutation of *PRNP*. *J. Neurosci.* 2009; 29: 10072-10080.
149. Choi J.K., Jeon Y.C., Lee D.W. i wsp.: A *Drosophila* model of GSS syndrome suggests defects in active zones are responsible for pathogenesis of GSS syndrome. *Hum. Mol. Genet.* 2010; 19: 4474-4489.