

Received: 2007.05.26
Accepted: 2008.04.05
Published: 2008.04.30

Rola układu odpornościowego w patogenezie chorób prionowych

The role of the immune system in the pathogenesis of prion diseases

Anna Wierzbicka, Wiesław Deptuła

Katedra Mikrobiologii i Immunologii, Wydział Nauk Przyrodniczych, Uniwersytet Szczeciński

Streszczenie

Choroby prionowe są zaburzeniami, których rozwój nie jest do końca wyjaśniony. Ich okres inkubacji jest długi i w tym czasie nie obserwuje się wyraźnych zmian, które sygnalizowałyby zmiany patologiczne w organizmie. Natomiast pojawienie się patologicznej postaci białka prionowego (PrP^{Sc}) w mózgu rozpoczyna szybki proces neurodegradacji, prowadzący zawsze do śmierci. W pracy omówiono udział układu odpornościowego (UO) w rozwoju chorób prionowych, ze szczególnym zwróceniem uwagi na konkretne komórki tego układu oraz substancje przez nie wytwarzane. Badania z tego zakresu dotyczą komórek, na których występują fizjologiczne białka prionowe (PrP^C) lub w których zaobserwowano ich znaczne gromadzenie się. Liczne doświadczenia wykazują, że pierwszym i głównym ośrodkiem akumulacji i namnażania się patologicznej postaci białka prionowego (PrP^{Sc}) jest układ immunologiczny, jednak nie wykryto żadnych swoistych przeciwciał na białko PrP^{Sc}, chociaż w wielu pracach udowodniono, że elementy UO wykazują dużą reaktywność. W pracy dowiedziono, że zarówno komórki UO oraz substancje przez nie wytwarzane, są istotne w rozwoju chorób prionowych, gdyż przyczyniają się one do rozprzestrzeniania PrP^{Sc} w zainfekowanym organizmie.

Słowa kluczowe: priony • układ odpornościowy

Summary

Prion diseases are disorders whose development is unclear. The incubation period of prion diseases is long and during this time there are distinct changes that can signal pathological changes in the organism. However, the appearance of the pathological form of the prion protein (PrP^{Sc}) in the brain starts a rapid process of neurodegradation which always leads to death. In this article the participation of the immune system in the spread of prion diseases is discussed with special attention to the cells of this system and the substances they produce. Studies in this field apply to cells on which physiological prion protein (PrP^C) appears or in which the accumulation of this protein has been observed. Many experiments show that first and principal center of pathological prion protein (PrP^{Sc}) accumulation and replication is the immune system; however, no specific antibodies for PrP^{Sc} protein have been found, though in many studies it was shown that elements of the immune system demonstrate major reactivity. In this article it is demonstrated that both immune system cells and substances produced by them are important in the development of prion diseases because they definitely contribute to PrP^{Sc} spread in the infected organism.

Key words: prions • immune system

Full-text PDF: http://www.phmd.pl/pub/phmd/vol_62/11578.pdf**Word count:** 3458**Tables:** 3**Figures:** 1**References:** 47**Adres autorki:** mgr Anna Wierzbicka, Katedra Mikrobiologii i Immunologii, ul. Felczaka 3a, 71-412 Szczecin;
e-mail: kurp13@univ.szczecin.pl

CZYM JEST UKŁAD ODPORNOŚCIOWY

Układ odpornościowy (UO) to zespół zorganizowanych i współdziałających ze sobą komórek, zapewniający utrzymanie integralności antygenowej organizmu. Ze względu na łatwość oddziaływania różnych obcych substancji na ustrój, jest on w nieustannym stanie czuwania; w jego obrębie wyróżnia się dwa mechanizmy działania – swoisty i nieswoisty (tab. 1). Sprawnie działający układ odpornościowy na

każdym poziomie odpowiedzi immunologicznej wykazuje ścisłą kooperację między mechanizmami swoistymi i nieswoistymi, dzięki temu zapewniona jest duża skuteczność tego układu w walce organizmu z patogenami.

PRIONY I CHOROBY PRIONOWE

Hipotezę o istnieniu białkowych cząstek zakaźnych (proteinaceous infectious particle), zwanych obecnie białkami

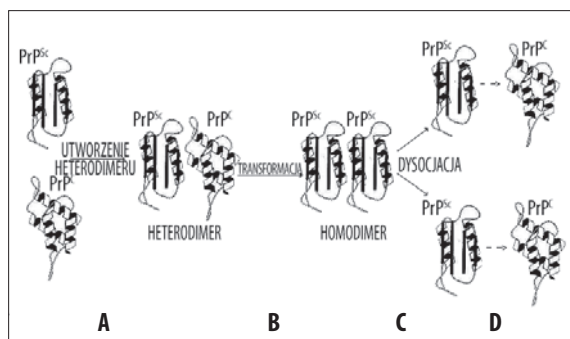
Tabela 1. Odporność (wrodzona¹, nabyta, rasowa, osobnicza) [14]

Mechanizmy nieswoiste		Mechanizmy swoiste		
Bariery anatomiczno-fizjologiczne	Odporność komórkowa	Odporność humoralna	Odporność komórkowa	Odporność humoralna
warunkowane:	warunkowana:	warunkowana:	warunkowana:	warunkowana:
a) cechami mechanicznymi	komórkami PMN, MN, tucznyymi – bazofilami, eozynofilami, płytkami krwi oraz komórkami APC i NK ² , NC ²	a) substancjami wytwarzanymi przez komórki PMN, MN, tuczne - bazofile, eozynofile, płytki krwi oraz komórki APC, NK ² , NC ² : IL - 1, 6, 8, 12, 15, 18-20, 23, 28, 29, 33, TNF- α , LZM, MPO, Tf i Lf, konglutynina i baktencyny (tylko bydło) i immunokonglutynina (inne zwierzęta), przeciwciała naturalne, mukoproteidy, białka kationowe, MBP, kalprotektyna, β_2 -mikroglobulina, perforyny, proteazy (esterazy serynowe), proteoglikany, defensyny, kateliny, czynniki cytotoksyczne komórek NK (NKCF), G-CSF, M-CSF, (CSF-1), PDGF, PF-4, TGF- β , peptydy MIP, chemokiny, PAF, FGF, DIA (LIF), OSM, reaktywne związki tlenowe, pterydyny i inne substancje występujące w ziarnistościach ww. komórek, IL-2-5 ³ , 7 ³ , 10 ³ , 13 ³ , 16 ³ , 22 ³ , 24 ³ , 26 ³ , 32 ³ , GM-CSF ³ , MIF ³ , IGF ³ , granzymy ³ , osteopontyna ³	cytotoksycznością limfocytów T ich subpopulacji oraz produktami tych komórek:	produktami populacji i subpopulacji limfocytów B:
b) cechami chemicznymi	poprzez: zjawisko fagocytozy, cytotoksyczności cytolizy oraz pinocytozy	b) substancjami wytwarzanymi przez UO oraz inne tkanki organizmu: IFN- α , - β i inne, dopełniacz, IGF, properdyna, zasadowe polipeptydy, α_2 -mikroglobulina, BOF, HSP, pterydyny, IL-10 ³ , -16 ³ , -24 ³	• interleukiny: 2-5, 9, 10, 13, 14, 16, 17, 21, 22, 24, 26, 31, 32, 1 ³ , 6-8 ³ , 18 ³ , 25 ³	• immunoglobuliny: klasy G, M, A, E, D, ich podklasy i odmiany, paraimmunoglobuliny i przeciwciała naturalne
c) cechami biologicznymi		c) substancjami wytwarzanymi przez komórki szpiku: IL - 7, -11, -25, SCF, tetrapeptyd AsSDKP, G-CSF ³ , FGF ³ , M-CSF ³	• limfokiny: MIF, MAF, SMAF, LCF, LMF, LMIF, LIF, (GMIF), SRF	• czynniki wzrostu: NGF, IGF ³ , IFN- α^3 , - β^3 , - γ^3 , TGF β^3 , TNF ³ , LT β^3 , M-CSF ³ , G-CSF ³ , GM-CSF ³ , OSM ³
			• inne substancje niebędące interleukinami i limfokinami: IFN- γ , GMCSF, LT (TNF- β), białko TIA, granzymy, granulizyna, neurolekina, osteopontyna, IGF ³ , TNF- α^3 , proteazy ³ , perforyna ³ , PDGF ³ , G-CSF ³ , MCSF ³ , TGF β^3 , SM ³ , SCF ³ , dopełniacz ³ , Tf ³ , Lf ³ , properdyna ³ , proteoglikany ³ , β_2 – mikroglobulina ³	• interleukiny i inne elementy: 1 ³ , 2 ³ , 4-8 ³ , 10 ³ , 12-14 ³ , 19 ³ , 24 ³ , dopełniacz ³ , properdyna ³ , β_2 – mikroglobulina ³

¹ – odporność ta określana jest jako naturalna konstytutywna wrodzona, wiąże z defensyno- oraz cytokino- i chemokinozależną konstytuowaną odpornością wielu komórek UO, efektorowo perforynozależną aktywnością komórek NK, cytotoksyczną aktywnością dopełniacza niezależną od przeciwciał, fagocytozą oraz nieswoistą reaktywnością komórek T wobec wirusów; ² – limfocyty te są w tym miejscu prezentowane, ze względu na ich cytotoksyczność niezależną od MHC; ³ – substancje wytwarzane w drugiej i dalszej kolejności przez dany element UO.

prionowymi (PrP – prion protein), po raz pierwszy opublikował Stanley B. Prusiner w 1982 r. [13,40]. 15 lat później za odkrycie prionów otrzymał on Nagrodę Nobla w dziedzinie medycyny i fizjologii [11,13,32]. Priony są białkami, które pod względem chorobotwórczości dzielimy na priony fizjologiczne PrP^C (C – cellular) oraz priony patogeniczne PrP^{Sc} (Sc – scrapie) (tab. 2). Badania wykazały, że informacja genetyczna o budowie prionów jest zawarta w genomach wielu organizmów [13,16,32,39,46], a białko prionowe (PrP^C) jest syntetyzowane przez komórki nie tylko ssaków, ptaków, niektórych owadów, ale także drożdży i grzybów nitkowatych [13,32,44,46]. Udowodniono także, że wszystkie jak dotąd przebadane pod tym kątem kręgowce, mają gen *prnp* kodujący peptyd PrP^C [39]. Białko prionowe PrP^C jest syntetyzowane w komórkach, tak jak inne białka organizmu i przechodzi obróbkę potranslacyjną, po czym jest wynoszony na powierzchnię komórki, z którą jest związane morfologicznie i czynnościowo. Białka te (PrP^C) nie są chorobotwórcze dla organizmu, w którym występują [16,29,39,44]. Te sialoglikoproteidy są zbudowane z około 255 aminokwasów (w zależności od gatunku, w którym występują) [13,44], a w strukturze przestrzennej dominuje u nich konformacja trzech α -helis, stanowiących aż 43% całości cząsteczki, natomiast konformacja β -harmonijki to zaledwie 3% (tab. 2). PrP^C ma trójwymiarowy, spiralny kształt, dzięki czemu to białko przyjmuje postać globularną [16,41]. Występuje ono przede wszystkim na powierzchni neuronów, komórek gleju w mózgu i rdzeniu kręgowym, ale również na kilku peryferyjnych tkankach (głównie limfoidalnych) oraz na leukocytach [7,13], a także na niedojrzałych immunocytach, komórkach T w grasicy oraz wczesnych komórkach progenitorowych i hematopoetycznych [44]. Większość komórek T i B w narządach limfatycznych nie ekspozuje proteiny PrP^C [11,23,44]. Gen *prnp* kodujący je ulega naturalnej ekspresji również w makrofażach mięśniowych, komórkach trzustki, żołądka, jelitach, sercu i płucach [11,13,32]. Przypuszcza się, że ze względu na miejsce występowania PrP^C, białko to może brać udział w adhezji i rozpoznaniu, asymilacji ligandów i sygnalizacji transbłonowej, a także we wzroście i różnicowaniu się komórek oraz cyklu dobowym [13,29,32,41,46]. Również związenie ich z jonami miedzi Cu²⁺, może sugerować udział tego białka w metabolizmie tego pierwiastka oraz ochronie przed stresem oksydacyjnym i samobójczą śmiercią komórki [41,44,46].

Patogenna izoforma białka prionowego PrP^{Sc} w 30% zbudowana jest ze struktury α -helikalnej i aż w 43% ze struktury β -wałdowanej, co w znacznym stopniu wpływa na jej budowę przestrzenną i właściwości [7,13,32]. Wynikiem przewagi domen β -pofałdowanych są łańcuchy aminokwasów układające się względem siebie równolegle, przez co tworzy się postać liniowa oporna na czynniki fizykochemiczne i enzymatyczne [16,32]. Prawidłowo w komórkach źle złożone białka, które przeważnie nie są funkcjonalne, są rozkładane w lizosomach przez proteiny. W przypadku PrP^{Sc} konformacja tej patologicznej proteiny jest bardzo spłaszczona, co prawdopodobnie w pewnym stopniu uodparnia ją na trawienie proteinazą K i tym samym uniemożliwia jej degradację [7,10,11,13,32]. Są również doniesienia o wpływie na aktywność proteinazy K jonów miedzi Cu²⁺, występujących także w strukturze proteiny prionowej PrP^{Sc}, które przyczyniają się do inhibicji tego enzymu [45]. Wykazano, że białko to jest również



Ryc. 1. Model transformacji prionu fizjologicznego PrP^C w prion patologiczny PrP^{Sc} [2,3,32,41,46]; **A** – tworzenie heterodimeru między PrP^C a PrP^{Sc}; **B** – wymuszona transformacja postaci fizjologicznej w patologiczną i utworzenie homodimeru PrP^{Sc} – PrP^{Sc}; **C** – dysocjacja podjednostek homodimeru na pojedyncze PrP^{Sc}; **D** – łączenie się powstałych podjednostek PrP^{Sc} z kolejnymi postaciami fizjologicznymi

odporne na działanie wysokich temperatur, promieniowanie UV, substancje chemiczne oraz na standardową sterylizację [13,16,39]. Jednocześnie zaobserwowano, że obecność komórkowego białka prionowego PrP^C jest podstawą do namnożenia czynnika powodującego schorzenia określane jako TSE (transmissible spongiform encephalopathy) i akumulacji jego nieprawidłowej postaci patogenicznej PrP^{Sc} w zainfekowanych tkankach, a tym samym do zaistnienia chorób prionowych [1,10,11,13,16,27,39,41,44,46]. Co więcej, postać patologiczna proteiny prionowej (PrP^{Sc}) ma powinowactwo do fizjologicznej izoformy (PrP^C), z którą łatwo tworzy heterodimery i wymusza zmiany konformacyjne na natywnej postaci, a to z kolei prowadzi do replikacji czynnika infekcyjnego (ryc.1).

Zaobserwowano również, że powstające proteiny PrP^{Sc} łączą się ze sobą tworząc złogi białka w postaci płytek lub włókien amyloidowych, prowadząc do śmierci komórek, w których występują [11,13,39,41,46]. Tak powstający konglomerat białkowy jest chorobotwórczy dla człowieka i zwierząt [11,13,39,46]. Próby prowadzone w kierunku unieczynnienia patogennych białek prionowych doprowadziły do odkrycia ich wrażliwości na gotowanie w siarczanie dodecyłu sodu (SDS), co obniża ich infekcyjność [11,44]. Częściowe unieczynnienie tych białek można uzyskać podczas sterylizacji w temperaturze 132°C przez 30–60 min lub w temperaturze 134°C przy podwyższonym ciśnieniu do 1,5–2 atmosfer przez 2 godziny [13,16]. Natomiast całkowite zniszczenie następuje po traktowaniu 1N NaOH przez 1–2 godziny lub 2N NaOH przez 1 godzinę [13,16].

Choroby prionowe to neurodegeneracyjne schorzenia występujące u ludzi i zwierząt (tab. 3). Przebiegają one w trzech następujących po sobie fazach:

- 1) infekcji i peryferyjnej replikacji czynnika zakaźnego w tkankach limfoidalnych;
- 2) transmigracji z obwodowych obszarów organizmu do ośrodkowego układu nerwowego (OUN) oraz
- 3) postępującej neurodegradacji prowadzącej do śmierci danego osobnika [1,2,17].

Charakterystycznymi zmianami zachodzącymi w mózgu zainfekowanych patogennymi prionami organizmów jest

Tabela 2. Porównanie wybranych cech prionów fizjologicznego (PrP^C) i patogennego (PrP^{Sc}) [10,13,41]

Prion cecha	Prion fizjologiczny PrP ^C	Prion patogenny PrP ^{Sc}
Umiejscowienie genu kodującego białko	jądro komórkowe	jądro komórkowe
Trójwymiarowa struktura przestrzenna	spiralna	płaska
Procentowa zawartość postaci α	43	30
Procentowa zawartość postaci β	3	43
Obecność części cukrowej	ma	ma
Efekt działania proteazy K	degradacja	utworzenie PrP ²⁷⁻³⁰
Stabilizacja łańcuchów polipeptydowych	duża	mała
Trwałość w komórce	3–6 godzin	>24 godziny
Umiejscowienie w komórce	membrana	lizosomy, endosomy
Zdolność tworzenia złogów amyloidu	brak	ma
Właściwości chorobotwórcze	brak	ma
Denaturacja	podatne	wysoce odporne

Tabela 3. Choroby prionowe występujące u ludzi i zwierząt [12,32,41,46]

Choroby występujące u ludzi	Rok pierwszego odnotowania	Choroby występujące u zwierząt	Rok pierwszego odnotowania
Sporadyczna choroba Creutzfeldta-Jakoba	1920/21	scrapie	1732
Rodzinna choroba Creutzfeldta-Jakoba	1924	zakaźna encefalopatia nerek	1947
Choroba Gerstmana-Sträusslera-Scheinkera	1928/36	chroniczna wyniszczająca choroba zwierzyny płowej	1967/83
Kuru	1956/57	encefalopatia gąbczasta bydła	1985/86
Jatrogenna choroba Creutzfeldta-Jakoba	1974	encefalopatia egzotycznych zwierząt kopytnych	1987
Śmiertelna rodzinna bezsenność	1992	gąbczasta encefalopatia kotów	1990
Postępująca podkorowa glejoza	1997		
Wariant choroby Creutzfeldta-Jakoba	1996		
Sporadyczna odmiana śmiertelnej rodzinnej bezsenności	1999		

wakuolizacja, akumulacja złogów patologicznej postaci prionowej oraz utrata neuronów w ośrodkowym układzie nerwowym z jednoczesną proliferacją astrocytów [1,7,10,13,16,32]. Wynikiem tych zmian jest swoisty obraz histopatologiczny tkanki mózgowej, której struktura przypomina gąbkę, w obszarze której zalegają liczne agregaty [1,7,9,10,32,39]. Białka prionowe (PrP^{Sc}), powodujące liczne choroby (tab. 3), nie zawierają w swojej budowie żadnych kwasów nukleinowych, a mimo to wykazują zdolność do namnażania się i tworzenia złogów w zainfekowanej tkance [10,11,13,16,23,32,44]. Choroby prionowe (tab. 3) mogą się pojawiać w organizmie endogennie lub egzogennie [16]. Encefalopatie powstające endogennie wiążą się ze spontanicznymi mutacjami w komórkach gospodarza, a egzogennie – w wyniku dostania się proteiny PrP^{Sc} do organizmu przez wszczepienie bądź zjedzenie zainfekowanej tkanki, transfuzję krwi lub jako zakażenie szpitalne [1,10,12,13,16,23,32,39]. Znane są doniesienia o możliwości przedostania się tego patogenu przez skórę [35].

Jednak niezależnie od sposobu pojawienia się prionowego czynnika infekcyjnego PrP^{Sc}, nie zaobserwowano indukcji swoistych przeciwciał [27]. Dowiedziono natomiast, że po pojawieniu się patogennego białka PrP^{Sc} w organizmie, pierwszymi ośrodkami akumulacji i namnażania się są tkanki systemu limfoidalnego [1,7,10,11,13,16,23,27,28,29,30,44], choć nie zaobserwowano wyraźnych zmian, sygnalizujących obecność tych białek w organizmie tuż przed ich dostaniem się do OUN [32,44].

UKŁAD ODPORNOŚCIOWY A PRIONY

Powszechnie przyjmowano, że UO nie odpowiada na priony patogenne PrP^{Sc}, po ich pojawieniu się w organizmie [10,11,32], chociaż dowiedziono [13], że odpowiedź immunologiczna powstaje po zakażeniu prionami. Sugeruje się, że brak odpowiedzi immunologicznej wiąże się z konserwatywnym białkiem prionowym syntetyzowanym przez wiele organizmów oraz znaczną (wynoszącą 84–97%) ho-

mologią tej proteiny, między poszczególnymi gatunkami ssaków [7,13,32]. Również brak reaktywności w stosunku do fizjologicznej postaci tej proteiny (PrP^{Sc}) oraz minimalne różnice w sekwencji PrP^C i PrP^{Sc}, mogą być także przyczyną braku reaktywności UO w stosunku do patogenu PrP^{Sc} [32,46]. Obserwacje prowadzone nad zdolnością łamania barier międzygatunkowych przez białka prionowe PrP^{Sc} wykazują, że zjawisko to zależy od stopnia homologii między genami *prnp* kodującymi białko prionowe gatunków, między którymi następuje pasaż, co sugeruje że propagacja prionów PrP^{Sc} zależy od efektywnej interakcji między prionem fizjologicznym PrP^C a jego izoformą patogenną PrP^{Sc} [7], co także może być przyczyną braku odpowiedzi układu odpornościowego [7,11,13,32,46]. Wydaje się, że aby odpowiedzieć na pytanie czy w zaatakowanym ustroju powstaje odpowiedź immunologiczna, trzeba przyjrzeć się poszczególnym organom i komórkom UO u organizmów doświadczalnie zainfekowanych białkiem prionowym PrP^{Sc} lub jego fragmentami. Trzeba dodać, że ze względu na liczbę i różnorodność elementów UO, prowadzone badania ograniczają się tylko do komórek, na których prawidłowo występują w dużym stężeniu fizjologiczne postaci białka prionowego (PrP^C) lub w których wyraźnie zaobserwowano ich akumulację [29]. Obecnie przypuszcza się, że akumulacja tego czynnika (PrP^{Sc}) w tkankach układu limfoidalnego, może być głównym elementem patogenezы chorób TSE [1,3,4,5,7,19,26,28,29,31,44]. Liczne badania wskazują, że w okresie inkubacji choroby, priony PrP^{Sc} mogą być powielane bezobjawowo poza komórkami nerwowymi, np. w tkance limfoidalnej migdałków, kępków Peyera, węzłów chłonnych krezkowych oraz śledzionie [2,3,4,5,17,28,29,31,32,44]. Wykazano, że bardzo istotne w rozwoju chorób TSE są foliularne komórki dendrytyczne (FDC), będące głównym rezerwuarem patogennego białka PrP^{Sc} [1,4,7,10,17,23,28,29,30,31,37,38,44]. Komórki FDC wydają się ekspozować na swojej powierzchni duże stężenie proteiny PrP^C, co może wyjaśniać dlaczego neuroinwazja czynnikiem PrP^{Sc} jest zależna od tych właśnie komórek [1,2,10,28,29,30,31]. Podstawową funkcją komórek FDC jest wychwytywanie antygenów, wiązanie ich na swojej powierzchni w natywnej postaci oraz bardzo długie ekspozowanie ich komórkom UO (miesiące, a nawet lata) [4,18,27,28,29]. Antygeny te wychwytywane są albo w postaci kompleksu immunologicznego, zawierającego receptory Fc- γ albo jako antygeny zopsonizowane przez C3d/C4b z receptorami antygenowymi CD21/CD35, co w przypadku PrP^{Sc} może się przyczynić do przekazywania tego patogennego czynnika również innym komórkom immunokompetentnym [1,17,18,27,28,29,44]. Wyniki badań wskazują, że aktywacja swoistych składników komplementu jest zaangażowana w początkowe wychwytywanie białek prionowych w narządach limfoidalnych zaraz po infekcji [27,29,29,44]. Układ dopełniacza jest prawdopodobnie zaangażowany w umiejscowienie czynnika TSE na komórkach FDC, a brak składnika C3 dopełniacza lub receptorów CD21/CD35, powoduje osłabienie akumulacji proteiny PrP^{Sc} w śledzionie, przedłużając czas przeżycia zainfekowanego osobnika [23,27,28,29,44]. Elementy dopełniacza wykryto również w mózgu, jako odpowiedź mikrogleju na infekcję prionową, jednak mimo badań nie do końca poznano ich funkcję po zainfekowaniu prionami PrP^{Sc} [27].

Wykazano, że replikacja białka PrP^{Sc} jest również warunkowana obecnością dojrzałych limfocytów B, które nie tylko inicjują i kontrolują odpowiedź immunologiczną,

ale również dostarczają substancji pobudzających do dojrzewania i utrzymania już dojrzałych komórek FDC oraz mikroarchitektury obwodowych struktur limfoidalnych [1,10,13,19,28,29,30,31,36,38,44]. Obecnie wydaje się, że najistotniejsze w patogenezы prionowej są limfotoksyna β (LT β) oraz czynnik martwicy nowotworu (TNF- α) [1,7,19,28,30,31,37,38]. Te cytokiny przyczyniają się do dojrzewania komórek FDC oraz utrzymania ich w stanie dojrzałym, co z kolei przyczynia się do propagacji infekcji prionowych. Wykazano, że brak TNF- α lub LT β , powoduje zahamowanie gromadzenia się PrP^{Sc} w tkance śledziony [10,28,29,30,31,36,37,38]. Również IL-6 wytwarzana także przez komórki FDC jest ważna w utrzymaniu struktury centrum rozmnażania GC (germinal center) w narządach limfatycznych, chociaż wykazano, że jej brak nie hamuje gromadzenia się patogennej proteiny w tkance limfoidalnej [29,30]. Dalsze badania wpływu prozapalnych i przeciwzapalnych cytokin na rozwój chorób TSE, wykazały dość istotny wpływ IL-10 na ich patogenezę [47]. Badając zmutowane myszy z deficytem interleukin IL-4, -10, -13 oraz z jednoczesnym brakiem interleukin IL-4 i -13, dowiedziono, że myszy z niedoborem IL-10 są bardzo podatne na rozwój zakażenia białkiem PrP^{Sc}, u których czas wylegania choroby jest krótszy [47]. Poza tym przy braku IL-10 następuje wcześniejsza niż u myszy niezmutowanych, ekspresja genu kodującego TNF- α [1,30,44,47]. Natomiast badania prowadzone na myszach z deficytem limfocytów B (SCID – severe combined immunodeficient mice) wykazały, że nie mają one również dojrzałych komórek FDC, w wyniku czego infekcja prionowa nie kumuluje się w śledzionie [10,28,30,44]. Ponadto śledzionowe limfocyty B nie są miejscami kompetentnymi replikacji prionów, a proteiny prionowe PrP^{Sc}, nabywają od sąsiednich komórek – przeważnie od komórek FDC – z którymi blisko współpracują [36]. Mimo iż ekspresja PrP^C na limfocytach B nie jest wymagana do prionowej neuroinwazji, to komórki B okazały się niezbędne do jej ułatwienia po obwodowej infekcji białkiem PrP^{Sc} [7,29,36]. Tak więc prawidłowo działający układ odpornościowy oraz obecność dojrzałych limfocytów B i komórek FDC, są wręcz niezbędne do rozwoju neuroinwazji czynnikiem PrP^{Sc} u zakażonych doświadczalnie myszy [1,7,10,17,27,28,29,30,36,44,47].

Wykazano, że limfocyty T również ekspozują na swojej powierzchni proteinę PrP^C [27]. Trzeba jednak dodać, że umiejętność poszczególnych typów komórek UO do pomocy w replikacji czynnika PrP^{Sc}, nie jest tylko zależna od rozmiaru ekspresji PrP^C. Jak się okazało, niektóre komórki nie potrafią replikować białka PrP^{Sc}, pomimo dużej ekspresji proteiny PrP^C [10,27]. Wykazały to badania na modyfikowanych myszach, u których limfocyty T, a także i B, wykazywały nadekspresję proteiny prionowej PrP^C [27] i mimo to w obu przypadkach nadekspresja ta okazała się niewystarczająca do promowania replikacji czynnika patogennego PrP^{Sc} przez te komórki [27,36]. Doświadczenia prowadzone pod kątem limfocytów T i B wykazały, że brak limfocytów T nie ma większego wpływu na patogenezę prionową [29,36]. Odnotowano jednak, że limfocyty T CD4 i CD8 są wykrywane w mózgu kilka tygodni po zainfekowaniu czynnikiem scrapie, co jest uzależnione od ekspresji molekuł MHC klasy I i II oraz dużego stężenia chemokin, zwłaszcza makrofagowej zapalnej proteiny I β (MIP 1 β), IFN- γ indukującego proteinę 10 (MIP 10) oraz RANTES [24,33].

Są również doniesienia, że zachodząca we wczesnej fazie interakcja między białkiem prionowym PrP^{Sc}, a granulocytami obojętnochłonnymi i monocytami, łączy się ze zwiększoną syntezą anionu nadtleńkowego O₂⁻ [15,33,34,44], zmianą w koncentracji jonów wapnia Ca²⁺ i zwiększoną migracją leukocytów [15], i zachodzi to prawdopodobnie przed odpowiedzią humoralną organizmu. Zahamowanie funkcji fagocytarnych granulocytów obojętnochłonnych przez białko PrP^{Sc}, mogłoby wyjaśniać brak reakcji zapalnych w początkowych etapach zakażenia [34,44], ale jak dotąd kwestii tej nie rozstrzygnięto.

Jednak zaobserwowano, że wystąpienie stanu zapalnego może być przyczyną przyspieszenia patogenezy prionowej [19]. Organy, w których wystąpił taki stan, wykazują powinowactwo do akumulacji białka PrP^{Sc} na długo przed objawami klinicznymi choroby TSE. Zakażone patologiczną białkiem prionowym (PrP^{Sc}) narządy, nie tylko akumulują te białka, ale również są zdolne do transmisji czynnika patogenego PrP^{Sc} po przeniesieniu do zdrowego organizmu [19]. Sugeruje się, że komórki UO są także zaangażowane w proces przenoszenia patogenego białka prionowego PrP^{Sc} ze światła jelita, po doustnym podaniu czynnika infekcyjnego [1,3,10,28,27]. Doniesiono, że po przejściu przez śluzówkę jelit, priony patogenne wchodzi w kontakt z systemem limfoidalnym związanym ze śluzówką (MALT), włączając komórki Peyera, gdzie ich akumulację wykryto jako pierwszą [1,10,28,29]. Po zakażeniu *per os* PrP^{Sc}, głównymi miejscami pobierania ich przez MALT są komórki M, które są zdolne do przenoszenia PrP^{Sc} za pośrednictwem transcytozy, do błony podstawowej i kieszeni śródłonowych. W wyniku tych procesów antygeny znajdują się w bliskim kontakcie z limfocytami, makrofagami oraz komórkami dendrytycznymi (DC) [1,3,7,28,29]. Przypuszcza się, że cyrkulujące komórki krwi ekspozujące na swojej powierzchni PrP^C, mogą również transportować priony PrP^{Sc} z obwodowych części organizmu do narządów systemu limfoidalnego, akumulującego i replikującego białko PrP^{Sc}, choć nie do końca są poznane mechanizmy transportu patogenu PrP^{Sc} w obrębie organizmu zainfekowanego [2,7,22,31]. Wprawdzie stosując metodę immunohistochemiczną (IHC), nie wykryto w peryferyjnych leukocytach krwi zakażonych zwierząt białka PrP^{Sc}, jednakże może się to łączyć ze zbyt małą czułością tej metody i stąd przyjmuje się, że tylko makrofagi węzłów chłonnych, a nie leukocyty krwi obwodowej, akumulują białko PrP^{Sc} wykrywaną metodą IHC. Przypuszcza się również, że jest to związane z możliwością wiązania czynnika PrP^{Sc} we krwi poprzez plazminogen [7,20], choć inną ewentualnością tłumaczącą niewykrywalność PrP^{Sc} w leukocytach, jest krótki czas półtrwania tych komórek [20]. Przyjmując, że makrofagi i migrujące komórki szpikowe DC mają potencjał do transportu czynnika TSE [1,3,4,26,28], sugeruje się, że małe ilości białka PrP^{Sc} mogą być degradowane w makrofagach tkanek obwodowych w procesie fagocytozy, jednak duże ilości już nie i te są transportowane oraz amplifikowane [5,6,10,26,29,38,44]. Istnieją również przypuszczenia, że komórki DC przewodu pokarmowego mogą nabywać czynnika PrP^{Sc} w wewnątrzłonowych kieszeniach nabłonka jelitowego [3,7,26]. Wykazano bowiem, że komórki dendrytyczne pochodzenia limfoidalnego (CD11c⁺), są zdolne do akumulacji prionów PrP^{Sc}, co może być dowodem, że są one również pośrednikiem w transporcie prionów z jelita na obwód organizmu [4,7,26]. Poza tym,

komórki te są poddane ciągłej cyrkulacji i mają zdolność wiązania białka prionowego w natywnej postaci, co czyni je potencjalnymi komórkami transportującymi patogenne priony PrP^{Sc} do tkanek limfoidalnych [1,4,7,28,35]. Nadto zdolność komórek CD11c⁺ do akumulacji prionów, czyni je jednocześnie potencjalnymi czynnikami transportującymi patogenne PrP^{Sc} do OUN z obszarów peryferyjnych [4,7,26]. Dodatkowo badania prowadzone nad komórkami DC CD11c⁺ wykazały, że *in vitro* mogą się one przyczyniać do szybkiego degradowania prionów opornych na proteinazę K [25,26]. Zauważono także, że degradacja białka PrP^C różni się od degradacji jego chorobotwórczej izoformy PrP^{Sc} [25]. Komórki DC CD11c⁺ mają tę zdolność dzięki proteinazie cysteinowej, która umożliwia częściową degradację i usuwanie białka PrP^{Sc} [25]. Wykazano też, że fragmenty białka PrP^{Sc}, mogą stymulować migrację niedojrzałych komórek DC CD11c⁺ w kierunku skupiska patogenego białka, w co prawdopodobnie zaangażowana jest aktywność kinazy sфингоzynewej [22]. Również rezydujące w skórze komórki Langerhansa (LC), wykazujące zdolność do migracji w kierunku węzłów chłonnych, pierwotnie zostały hipotetycznie zakwalifikowane do elementów biorących udział w transporcie czynnika PrP^{Sc} ze skóry do tkanek limfoidalnych, jednak prowadzone badania szczegółowe wykazały, że komórki te w tym nie uczestniczą [35].

Wprawdzie niewiele wiadomo o mechanizmach neuroinwazji, jednak przypuszcza się, że zachodzi ona również poprzez dyfuzję białka PrP^{Sc}, bądź z udziałem niewykrytych dotąd mobilnych komórek, bezpośrednio z miejsc akumulacji patogennej białka PrP^{Sc} na zakończenia nerwowe unerwiających narządy układu limfoidalnego [3,7,10,27,37]. Wyniki tych badań wskazują na korelację pomiędzy prędkością neuroinwazji, a odległością innych komórek FDC od zakończeń neuronów [1,2,3,37]. Ze względu na brak możliwości ruchu tych komórek, nie mogą one tworzyć synaps z nerwami peryferyjnymi, stąd jest mało prawdopodobne, aby odpowiadały za bezpośrednie przeniesienie patogenu PrP^{Sc} na zakończenia nerwowe [2,3,37]. Mimo to nadal przyjmuje się, że neuroimmunologiczna transmisja zakażenia białkiem PrP^{Sc} zachodzi poprzez nerwy współczulne, unerwiających organy limfoidalne, a następnie transportem wstecznym – aksonalnym poprzez rdzeń kręgowy do OUN [3,10,17,28,29,30,37,44]. Taka droga przejścia PrP^{Sc} w makroorganizmie tłumaczyć może długi okres inkubacji choroby bez wyraźnych objawów chorobowych [10,17,37]. Dowiedziano nadto, że unerwienie organów limfoidalnych jest niezbędne w procesie neuroinwazji tych patogennej białek z obszarów peryferyjnych organizmu do mózgu [1,2,3,17,27,37], co powoduje, że od tej chwili rozpoczyna się szybki proces neurodegradacji, prowadzący do śmierci zainfekowanego organizmu [1,17,27]. Niektóre analizy wykazują, że komórki glejowe, takie jak astrocyty i komórki mikrogleju, również mogą brać udział w patogenezie TSE [9,33,43,44]. Wykazano, że aktywowane agregatami białka PrP^{Sc}, mikroglej w zakażeniach TSE, prawdopodobnie odgrywa istotną rolę w rozwoju choroby i jest potencjalnym mediatorem neurodegradacji [33,42,43], z tym że w tej sytuacji neurotoksyczność może następować bez kontaktu między czynnikiem PrP^{Sc} a neuronami [33,43]. Zaobserwowano, że mechanizm neurotoksyczności jest włączany już po pierwszym kontakcie między agregatami PrP^{Sc} i komórkami mikrogleju [33]. Doświadczalnie

wykazano, że komórki mikrogleju w następstwie spotkania się z PrP^{Sc} mogą działać cytotoksycznie przez uwalnianie cytokin i będzie to aktywacja w odpowiedzi na pierwotną ich neurodegradację [9,13,33,43]. Wydaje się także, że infekcja prionowa komórek glejowych powoduje uwalnianie przez nie cytokin i chemokin jako mediatorów dla nich samych i/lub bezpośrednio oddziałujących cytotoksycznie na neurony, w których indukują apoptozę [8,33,43]. Wśród czynników powodujących ich cytotoksyczność należy wymienić m.in. komponenty dopełniacza, jednak ich rola nie jest do końca poznana [27]. Wykazano, że proliferacja mikrogleju i astrocytów zachodzi w wyniku oddziaływania proteiny PrP^{Sc}, choć jak się okazało proliferacja astrocytów jest zależna od mikrogleju i wymaga obecności białka PrP^C na powierzchni tych komórek [42,43]. Badania wskazują, że mikroglej w wyniku działania PrP^{Sc} syntetyzuje IL-1 i -6 [42] oraz że IL-1 kieruje aktywacją astrocytów [43], które to zjawiska nie są podstawą do letalnej neurodegradacji [9,42,43]. Doświadczalnie udowodniono, że w komórkach mikrogleju ludzkiego, mysie białko PrP^{Sc} indukuje IL-6 i TNF- α , ale nie IL-1 [42]. Natomiast mysie komórki mikrogleju zainfekowane czynnikiem PrP^{Sc}, syntetyzowały IFN- γ , komponenty dopełniacza, oraz aktywowały metabolizm lipidów i cholesterolu, a także kilka innych proteaz działających cytotoksycznie [42]. Inne badania u myszy niezmodyfikowanych zaszczepionych czynnikiem PrP^{Sc} wykazały wzrost ilości, takich cytokin jak TNF- α i IL-1 β , IL-10, IL-13 oraz czynnik wzrostu β [47]. U myszy zainfekowanych czynnikiem zakaźnym ludzkiego TSE zaobserwowano w ich mózgu zwiększoną ekspresję TNF- α oraz IL-1 α [8,30]. Udowodniono także, że wytwarzane przez aktywny mikroglej cytokiny, poprzedzają apoptozę w neuronach mózgu, co sugeruje że substancje te warunkują zmiany patologiczne w OUN, powstałe w procesie apoptozy [8,9,30,42,44,47], który to proces uważany jest za główny mechanizm prowadzący do niszczenia neuronów w chorobach TSE [9,21,41]. Aktywacja apoptozy zależnej od kaspaz może powstawać w wyniku oddziaływania stresu mitochondrialnego lub w wyniku stresu retikulum endoplazmatycznego (ER), który prowadzi do zaburzeń homeostazy wapniowej lub akumulacji białek, w wyniku czego dochodzi do aktywacji m.in. kaspazy 12 występującej w ER [21]. Histologiczna i biochemiczna analiza tkanki mózgu wykazała obecność aktywnej kaspazy 12 oraz cha-

peronów wywołujących stres ER, w obszarach mózgu wywołujących wzrost zanikania neuronów [21,33]. Wykazano także, że taka indukcja apoptozy, po inkubacji komórek nerwowych z czynnikiem PrP^{Sc}, zależy od kaspazy 3 [21]. W badaniach tych dowiedziono, że w trakcie tych procesów podtrzymywane jest uwalnianie wapnia z ER, wskutek interakcji PrP^{Sc} z niewykrytym do tej pory receptorem błonowym na komórce nerwowej, co prowadzi do przekazania sygnału do ER oraz indukcji w nim stresu i uwalniania wapnia [21]. Przyjęto, że PrP^{Sc} może sam migrować bezpośrednio do ER, indukując tym samym stres ER [21]. Stres ten może wpływać na pewne białka chaperonowe z rodziny protein regulujących glukozę (GRPS), o pewnej aktywności neuroochronnej, które z kolei aktywują występującą w ER kaspazę 12, a ta prowadzi do degradacji białek komórek nerwowych i ich śmierci [21]. Najprawdopodobniej wzbudzenie chaperonów ER powstaje jako następstwo poprawiania źle złożonego białka PrP^{Sc} lub prób jego usunięcia w wyniku degradacji proteosomalnej [21,33].

PODSUMOWANIE

Niezależnie od sposobu pojawienia się czynnika PrP^{Sc} w komórkach organizmu, nie zaobserwowano syntezy swoistych przeciwciał na białko PrP^{Sc}, jednakże stwierdzono wyraźną reaktywność UO przy chorobach prionowych. Wykazano, że po pojawieniu się patogennego białka PrP^{Sc}, pierwszym ośrodkiem akumulacji i namnażania są tkanki UO. Jednakże obecnie nie można jednoznacznie stwierdzić, czy UO reaguje na patogenne białko prionowe PrP^{Sc}, czy na zmiany patologiczne, jakie powoduje ta proteina. Liczne doświadczenia wykazują, że głównym rezerwuarem patologicznej proteiny (PrP^{Sc}) w chorobach TSE, są komórki dendrytyczne – FDC, a syntetyzowane przez komórki UO cytokiny, takie jak TNF- α i IL-1 α , -6, -10 wydają się najważniejszymi mediatorami uszkodzeń obserwowanych w chorobach prionowych w komórkach OUN, które głównie giną w procesie apoptozy. Jak wynika z powyższych analiz, poprawnie funkcjonujący UO odgrywa znaczącą rolę w patogenezie chorób prionowych, przyczyniając się na pewno do rozprzestrzeniania białka prionowego PrP^{Sc} w zainfekowanym organizmie. Stąd zarówno komórki UO, jak i substancje przez nie wytwarzane, są istotnymi mediatorami w patogenezie chorób prionowych.

PIŚMIENICTWO

- [1] Aguzzi A., Heikenwalder M.: Prions, cytokines, and chemokines: a meeting in lymphoid organs. *Immunity*, 2005; 22: 145–154
- [2] Aguzzi A., Heikenwalder M., Miele G.: Progress and problems in the biology, diagnostics, and therapeutics of prion diseases. *J. Clin. Invest.*, 2004; 114: 153–160
- [3] Aguzzi A., Sigurdson C.J.: Antiprion immunotherapy: to suppress or to stimulate? *Nat. Rev. Immunol.*, 2004; 4: 725–736
- [4] Aucouturier P., Geissmann F., Damotte D., Saborio G.P., Meeker H.C., Kacsak R., Kacsak R., Carp R.I., Wisniewski T.: Infected splenic dendritic cells are sufficient for prion transmission to the CNS in mouse scrapie. *J. Clin. Invest.*, 2001; 108: 703–708
- [5] Beringue V., Couvreur P., Dormont D.: Involvement of macrophages in the pathogenesis of transmissible spongiform encephalopathies. *Dev. Immunol.*, 2002; 9: 19–27
- [6] Beringue V., Demoy M., Lasmézas C.I., Gouritin B., Weingarten C., Deslys J.P., Andreux J.P., Couvreur P., Dormont D.: Role of spleen macrophages in the clearance of scrapie agent early in pathogenesis. *J. Pathol.*, 2000; 190: 495–502
- [7] Blättler T.: Transmission of prion disease. *APMIS*, 2002; 110: 71–78
- [8] Campbell I.L., Eddleston M., Kemper P., Oldstone M.B., Hobbs M.V.: Activation of cerebral cytokine gene expression and its correlation with onset of reactive astrocyte and acute-phase response gene expression in scrapie. *J. Virol.*, 1994; 68: 2383–2387
- [9] Cronier S., Laude H., Peyrin J.M.: Prions can infect primary cultured neurons and astrocytes and promote neuronal cell death. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2004; 101: 12271–12276
- [10] Daude N.: Prion diseases and the spleen. *Viral Immunol.*, 2004; 17: 334–349
- [11] Denys A.: Niekonwencjonalne czynniki infekcyjne – priony. *Lek. Wojsk.*, 2002; 78: 268–272
- [12] Deptuła W., Pawlikowska M.: Charakterystyka chorób prionowych – wybrane dane. *Medycyna Wet.*, 2000; 56: 11–14
- [13] Deptuła W., Pawlikowska M.: Priony i ich znaczenie u zwierząt i ludzi. *Medycyna Wet.*, 1999; 55: 711–717
- [14] Deptuła W., Tokarz-Deptuła B., Stosik M.: Immunologia dla biologów. Wydanie nowe. Wydawnictwo Naukowe US, Szczecin 2008

- [15] Diomede L., Sozzani S., Luini W., Algeri M., De Gioia L., Chiesa R., Lievens P.M., Bugiani O., Forloni G., Tagliavini F., Salmons M.: Activation effects of a prion protein fragment [PrP-(106-126)] on human leukocytes. *Biochem. J.*, 1996; 320: 563–570
- [16] Gadomska A.: Priony i choroby prionowe. *Laboratorium – Przegląd Ogólnopolski*, 2004; 5: 48–50
- [17] Glatzel M., Klein M.A., Brandner S., Aguzzi A.: Prions: from neurografts to neuroinvasion. *Arch. Virol. Suppl.*, 2000; 16: 3–12
- [18] Gołąb J., Jakóbsiak M.: *Immunologia*. Red.: Gołąb J., Jakóbsiak M., Lasek W., Wydawnictwo Naukowe PWN, Warszawa 2004, 169–171
- [19] Heikenwalder M., Zeller N., Seeger H., Prinz M., Klöhn P.C., Schwarz P., Ruddle N.H., Weissmann C., Aguzzi A.: Chronic lymphocytic inflammation specifies the organ tropism of prions. *Science*, 2005; 307: 1107–1110
- [20] Herrmann L.M., Baszler T.V., Knowles D.P., Cheevers W.P.: PrPSc is not detected in peripheral blood leukocytes of scrapie-infected sheep: determining the limit of sensitivity by immunohistochemistry. *Clin. Diagn. Lab. Immunol.*, 2002; 9: 499–502
- [21] Hetz C., Russelakis-Carneiro M., Maundrell K., Castilla J., Soto C.: Caspase-12 and endoplasmic reticulum stress mediate neurotoxicity of pathological prion protein. *EMBO J.*, 2003; 22: 5435–5445
- [22] Kaneider N.C., Kaser A., Duzendorfer S., Tilg H., Wiedermann C.J.: Sphingosine kinase-dependent migration of immature dendritic cells in response to neurotoxic prion protein fragment. *J. Virol.*, 2003; 77: 5535–5539
- [23] Larska M., Polak M.P.: Rola krwi w transmisji chorób prionowych. *Med. Weter.*, 2003; 59: 670–672
- [24] Lewicki H., Tishon A., Homann D., Mazarguil H., Laval F., Asensio V.C., Campbell I.L., DeArmond S., Coon B., Teng C., Gairin J.E., Oldstone M.B.: T cells infiltrate the brain in murine and human transmissible spongiform encephalopathies. *J. Virol.*, 2003; 77: 3799–3808
- [25] Luhr K.M., Nordström E.K., Löw P., Ljunggren H.G., Taraboulos A., Kristensson K.: Scrapie protein degradation by cysteine proteases in CD11c⁺ dendritic cells and GT1-1 neuronal cells. *J. Virol.*, 2004; 78: 4776–4782
- [26] Luhr K.M., Wallin R.P., Ljunggren H.G., Löw P., Taraboulos A., Kristensson K.: Processing and degradation of exogenous prion protein by CD11c⁺ myeloid dendritic cells *in vitro*. *J. Virol.*, 2002; 76: 12259–12264
- [27] Mabbott N.A.: The complement system in prion diseases. *Curr. Opin. Immunol.*, 2004; 16: 587–593
- [28] Mabbott N.A., Bruce M.E.: Follicular dendritic cells as targets for intervention in transmissible spongiform encephalopathies. *Semin. Immunol.*, 2002; 14: 285–293
- [29] Mabbott N.A., Bruce M.E.: The immunobiology of TSE diseases. *J. Gen. Virol.*, 2001; 82: 2307–2318
- [30] Mabbott N.A., Williams A., Farquhar C.F., Pasparakis M., Kollias G., Bruce M.E.: Tumor necrosis factor alpha-deficient, but not interleukin-6-deficient, mice resist peripheral infection with scrapie. *J. Virol.*, 2000; 74: 3338–3344
- [31] Mabbott N.A., Young J., McConnell I., Bruce M.E.: Follicular dendritic cell dedifferentiation by treatment with an inhibitor of the lymphotoxin pathway dramatically reduces scrapie susceptibility. *J. Virol.*, 2003; 77: 6845–6854
- [32] Malinowska A.: Współczesne poglądy na mechanizm rozwoju chorób prionowych. *Życie Wet.*, 2002; 77: 406–441
- [33] Marella M., Chabry J.: Neurons and astrocytes respond to prion infection by inducing microglia recruitment. *J. Neurosci.*, 2004; 24: 620–627
- [34] Miragliotta G., Fumarulo R., Fumarola D.: Inhibition of neutrophil functions by scrapie prion protein: description of some inhibitory properties. *Acta Virol.*, 1990; 34: 517–522
- [35] Mohan J., Bruce M.E., Mabbott N.A.: Neuroinvasion by scrapie following inoculation via the skin is independent of migratory Langerhans cells. *J. Virol.*, 2005; 79: 1888–1897
- [36] Montrasio F., Cozzio A., Flechsig E., Rossi D., Klein M.A., Rüllicke T., Raeber A.J., Vosshenrich C.A., Proft J., Aguzzi A., Weissmann C.: B lymphocyte-restricted expression of prion protein does not enable prion replication in prion protein knockout mice. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2001; 98: 4034–4037
- [37] Prinz M., Heikenwalder M., Junt T., Schwarz P., Glatzel M., Heppner F.L., Fu Y.X., Lipp M., Aguzzi A.: Positioning of follicular dendritic cells within the spleen controls prion neuroinvasion. *Nature*, 2003; 425: 957–962
- [38] Prinz M., Montrasio F., Klein M.A., Schwarz P., Priller J., Odermatt B., Pfeffer K., Aguzzi A.: Lymph nodal prion replication and neuroinvasion in mice devoid of follicular dendritic cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2002; 99: 919–924
- [39] Prusiner S.B.: Na tropie choroby szalonych krów. *Świat Nauki*, 2004; 8: 58–66
- [40] Prusiner S.B.: Novel proteinaceous infectious particles cause scrapie. *Science*, 1982; 216: 136–144
- [41] Riesner D.: Molecular basis of prion diseases. *J. Neurovirol.*, 2002; 8 (Suppl.2): 8–20
- [42] Rock R.B., Gekker G., Hu S., Sheng W.S., Cheeran M., Lokensgard J.R., Peterson P.K.: Role of microglia in central nervous system infections. *Clin. Microbiol. Rev.*, 2004; 17: 942–964
- [43] Schultz J., Schwarz A., Neidhold S., Burwinkel M., Riemer C., Simon D., Kopf M., Otto M., Baier M.: Role of interleukin-1 in prion disease-associated astrocyte activation. *Am. J. Pathol.*, 2004; 165: 671–678
- [44] Siwicki A.K., Deptuła W.: Priony a układ immunologiczny. W: *Immunologia Weterynaryjna. Wybrane zagadnienia*. Red. A.K. Siwicki, W. Deptuła, Wydawnictwo Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego, Olsztyn 2001; 7–9
- [45] Stone L.A., Jackson G.S., Collinge J., Wadsworth J.D., Clarke A.R.: Inhibition of proteinase K activity by copper(II) ions. *Biochemistry*, 2007; 46: 245–252
- [46] Telling G.C.: Prion diseases of humans and animals. In: *Viral Ecology*. Ed: Hurst C.J. Academic Press 2000, 593–619
- [47] Thackray A.M., McKenzie A.N., Klein M.A., Lauder A., Bujdosó R.: Accelerated prion disease in the absence of interleukin-10. *J. Virol.*, 2004; 78: 13697–13707