

**KARACABEY MERİ NOSU KOÇLARDA  
PRİ ON PROTEİN (PrP) GEN POLİ MORFİZMİNİN  
SAPTANMASI ÜZERİ NE BİR ARAŞTIRMA**

**Yalçın YAMAN**

**Doktora Tezi**

**Zootekni Anabilim Dalı**

**Danışman: Prof. Dr. M. İhsan SOYSAL**

**2012**

T.C.  
NAMIK KEMAL ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

DOKTORA TEZİ

**KARACABEY MERİ NOSU KOÇLARDA  
PRİON PROTEİN (PrP) GEN POLİMORFİZMİNİN  
SAPTANMASI ÜZERİNE BİR ARAŞTIRMA**

Yalçın YAMAN

ZOOTEKNİ ANABİLİM DALI

DANIŞMAN: Prof. Dr. M. İHSAN SOYSAL

TEKİRDAĞ-2012

Her hakkı saklıdır

Prof. Dr. M. İhsan SOYSAL danışmanlığında, Yalçın YAMAN tarafından hazırlanan bu çalışma aşağıdaki jüri tarafından, Zootekni Anabilim Dalı'nda Doktora tezi olarak kabul edilmiştir.

Juri Başkanı : Prof. Dr. M. İhsan SOYSAL

*İmza :*

Üye : Prof. Dr. Muhittin ÖZDER

*İmza :*

Üye : Doç. Dr. Cemal ÜN

*İmza :*

Üye : Prof. Dr. Cengiz ELMACI

*İmza :*

Üye : Yrd. Doç. Dr. Emel ÖZKAN

*İmza :*

Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu adına

Doç. Dr. Fatih KONUKÇU

**Enstitü Müdürü**

## ÖZET

Doktora Tezi

### KARACABEY MERİNOSU KOÇLARDA PRİON PROTEİN (PrP) GEN POLİMORFİZMİNİN SAPTANMASI ÜZERİNE BİR ARAŞTIRMA

Yalçın YAMAN

Namık Kemal Üniversitesi  
Fen Bilimleri Enstitüsü  
Zootekni Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. M. İhsan SOYSAL

Bu projede, “Ülkesel Merinos Geliştirme Projesi” kapsamında kullanılmakta olan 93 baş Karacabey Merinosu koç ve koç adayı, *PRNP* genindeki 136, 154 ve 171. kodon yönünden genotiplendirilerek scrapie hastalığına karşı doğal dirençle ilişkisi bulunan allel ve genotiplerin frekansları belirlenmiştir. Çalışmada ARR, ARQ ve VRQ olmak üzere üç allel, ARR/ARR, ARR/ARQ, ARQ/ARQ, ARR/VRQ ve ARQ/VRQ olmak üzere beş genotip tespit edilmiştir. Risk gruplarına göre genotip frekansları 1. grup için 0.086, 2. grup için 0.376, 3.grup için 0.452, 4.grup için 0.011 ve 5. grup için 0.075 olarak bulunmuştur.

Çalışmada ayrıca 141 ve 154. kodondaki polimorfizmlerle ilişkili olan atipik scrapie risk grupları incelenmiş, en az risk barındıran grup 1 için frekans 0.837, grup 2 için 0.076, grup 3 için 0.022, grup 4 için 0.065 ve grup 5 için 0.00 bulunmuştur. Bunların dışında, PrP geninde, amino asit değişimi olan dört ek polimorfizm (Q101R, L141F, H143R ve P241S) ve aminosit değişimi olmaksızın sadece baz değişimi olan iki ek polimorfizm (R231R, L237L) tespit edilmiştir.

**Anahtar kelimeler:** Scrapie, Doğal direnç, PrP, Polimorfizm,  
Karacabey Merinosu

**Yıl 2012 sayfa 120**

## ABSTRACT

Ph.D. Thesis

### A RESEARCH ON THE DETERMINATION OF PRION PROTEIN (PrP) POLYMORPHISM ON THE KARACABEY MERİNO RAMS

Yalçın YAMAN

Namık Kemal University  
Graduate School of Natural and Applied Sciences  
Department of Animal Science

Supervisor: Prof: Dr. M. İhsan SOYSAL

In this project, the 93 Karacabey Merino rams and ram candidates which have been used within “National Merino Improving Project” were genotyped according to codons 136, 154 and 171 of the PrP coding gene *PRNP*. The allele and genotype frequencies which associated with natural resistance to scrapie were determined. Three alleles (ARR, ARQ and VRQ) and five genotypes (ARR/ARR, ARR/ARQ, ARQ/ARQ, ARR/VRQ and ARQ/VRQ) were identified. According to risk groups, genotype frequencies were found to be 0.086 for group 1, 0.376 for group 2, 0.452 for group 3, 0.011 for group 4 and 0.075 for group 5.

In addition, risk groups of the atypical scrapie which is associated with polymorphisms at codon 141 and 154 were analyzed. Atypical scrapie risk group frequencies were found to be 0.837 for group 1 that is highly resistant to the disease, 0.076 for group 2, 0.022 for group 3 and 0.065 for group 4 and 0.00 for group 5 respectively. Also four different additional polymorphisms (Q101R, L141F, H143R and P241S) and two silent polymorphisms (R231R, L237L) were determined on the *PRNP* gene.

**Keywords :** Scrapie, Natural resistance, PrP polymorphism,  
Karacabey merino

Year 2012 pages 120

## ÖNSÖZ

Doktora eğitimim boyunca ve bu tezin hazırlandığı süreçte, zamanını, bilgisini ve hoş görüşünü benden esirgemeyen, tez danışmanım, değerli hocam Prof. Dr. M. İhsan SOYSAL'a,

Her an değerli fikirlerine baş vurduğum, tez aşaması boyunca beni destekleyen ve yönlendiren, değerli hocam, Doç. Dr. Cemal ÜN'e,

Sayın Yrd. Doç. Dr. Emel ÖZKAN'a

Tez izleme jürisinde bulunma nezaketini gösteren, sayın hocam, Prof. Dr. Muhittin ÖZDER'e,

Tez aşaması boyunca hayatımı kolaylaştıran, Bandırma Koyunculuk Araştırma İstasyonu, Koyun Yetiştirme Şubesi işçilerine,

Beni bu günlere getiren aileme, her an özlemimi duyduğum rahmetli babama,

Her durumda beni destekleyen eşim Derya'ya,

ve, varlığıyla hayatıma ışık saçan, kızım Ada Eylem'e,

ve, su saatlerde hayata dönmesini tüm umudumla beklediğim canım anneme,

Sonsuz şükranlarımı sunarım.

ÖZET.....	i
ÖNSÖZ.....	ii
ABSTRACT.....	iii
İÇİNDEKİLER.....	iv
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ.....	vi
ŞEKİLLER ve ÇİZELGELER DİZİNİ.....	vii
1. GİRİŞ.....	1
2. KURAMSAL TEMELLER.....	3
2.1. Prion Proteinler.....	3
2.2 Prion Hipotezleri.....	6
2.2.1 Yavaş virüs hipotezi.....	6
2.2.2 Otoimmün hastalık hipotezi.....	6
2.2.3 Sadece protein hipotezi.....	7
2.3 Prion Proteinlerin Fonksiyonları ve Patogenezi.....	10
2.3.1 Prion proteinlerin sentezi ve fonksiyonları.....	10
2.3.2 Proteinlerin katlanması ve yanlış katlanma.....	11
2.3.3 Konformasyonel dönüşüm ve konformasyonel hastalıklar.....	12
2.3.4 Prion birikimi.....	13
2.3.5 Prion türleri.....	14
2.3.6 Tür bariyeri.....	15
2.4 Prion Geni Ailesi ve Prion Geni.....	17
2.4.1 Prion Geni- <i>PRNP</i> .....	17
2.4.2 <i>PRND-Doppel</i> .....	18
2.4.3 <i>SPRN</i> .....	19
2.4.4 <i>PRNT</i> .....	20
2.5 Prion Hastalıkları.....	21
2.6 İnsanların Prion Hastalıkları.....	21
2.6.1 Kuru.....	22
2.6.2 Creutzfeldt Jakob hastalığı (CJD).....	23
2.6.2.1 Sporadik Creutzfeldt Jakob hastalığı (sCJD).....	24
2.6.2.2 İatrojenik Creutzfeldt Jakob hastalığı (iCJD).....	24
2.6.2.3 Ailesel Creutzfeldt Jakob hastalığı (fCJD).....	25
2.6.3 Varyant Creutzfeldt Jakob hastalığı (vCJD).....	26
2.6.4 Öldürücü ailesel uykusuzluk (Fatal Familial Insomnia-FFI).....	28

2.6.5 Gerstmann-Straussler sendromu (GSS) .....	28
2.6.6 Alper hastalığı .....	29
2.7 Hayvanların Prion Hastalıkları .....	29
2.7.1 Kronik zayıflama hastalığı (Chronic Wasting Disease -CWD) .....	29
2.7.2 Minklerin bulaşıcı beyin dejenerasyonu .....	29
2.7.3 Sığırları süngerimsi beyin dejenerasyonu- (Bovine Spongiform Encephalopathy BSE) .....	29
2.7.4 Sığırların amyloiditik süngerimsi beyin dejenerasyonu- (Bovine Amyloidotic Spongiform Encephalopathy-BASE) .....	31
2.7.5 Skrapı .....	33
2.7.6 Skrapı hastalığının dünyada dağılımı .....	35
2.7.7 Skrapı ve genetik direnç .....	37
2.7.8 Skrapı hastalığında risk faktörleri .....	41
2.7.9 Skrapı eradikasyon programları ve skrapıye karşı dirençli yetiştiricilik.....	43
2.7.10 Dirençli yetiştiricilik programlarının muhtemel dezavantajları .....	59
2.7.11 Atipik skrapı (Nor98) .....	64
2.7.12 Atipik skrapı ve genetik direnç .....	65
3. MATERYAL ve YÖNTEM .....	68
3.1 Materyal .....	68
3.2 Yöntem.....	68
3.2.1 DNA izolasyonu .....	68
3.2.2 PCR İşlemi .....	69
3.2.3 DNA Dizi Analizi.....	70
3.3 İstatiksel analizler .....	72
4. ARAŞTIRMA BULGULAR VE TARTIŞMA .....	73
4.1 Allel ve Genotip Frekansları.....	73
4.2 Ek Polimorfizmler .....	85
4.3 Atipik Skrapı .....	90
5. SONUÇ ve ÖNERİLER .....	91
KAYNAKLAR .....	95
ÖZGEÇMİŞ .....	120



## SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

### SİMGELER DİZİNİ

sn	saniye
dk	dakika
µl	mikrolitre
°C	Santigrad
kDa	kilo dalton
ml	mililitre
nm	nanometre
α	alfa
β	beta

### KISALTMALAR DİZİNİ

BASE	Bovine Amyloidotic Spongiform Encephalopathy (Sığır Amyloiditik Süngerimsi Ensefalopati )
bp	baz çifti
BSE	Bovine Spongiform Encephalopathy (Sığır Süngerimsi Ensefalopati)
CJD	Creutzfeldt-Jakob Disease (Creutzfeldt-Jakob Hastalığı)
CWD	Chronic Wasting Disease (kronik Zayıflama Hastalığı)
DNA	Deoksiribonükleik asit
dNTP	Deoksiribonükleotid Trifosfat
Dpl	Doppel Proteini
EDTA	Etilendiamin tetra asetik asit
FFI	Ölümcül Ailesel Uyku Hastalığı (Fatal Familial Insomnia)
GPI	Glycophosphatidylinositol
kbp	1000 baz çifti
mRNA	mesajcı RNA
MSS	Merkezi Sinir Sistemi
NaOH	Sodyum Hidroksit
ORF	Open reading Frame (Açık Okuma Bölgesi)
PCR	Polymerase Chain Reaction (Polimeraz Zincir Reaksiyonu)
PMCA:	Protein Misfolding Cyclic Amplification
<i>PRNP</i>	Prion Proteini kodlayan gen
PrP	Prion Related Protein (Prionla ilgili protein)
PrP <sup>C</sup>	Cellular PrP (Hücrel PrP)
PrP <sup>SC</sup>	Scrapie PrP
RNA	Ribonükleik asit
SDS	Sodyum Dodesilsülfat (Sodium Dodecyl Sulphate)
<i>Sip</i>	Scrapie İnkubasyon Periyodu
TSE	Transmissible Spongiform Encephalopathy ( Bulaşıcı Süngerimsi Ensefalopati)
vCJD	variant CJD

## ŞEKİLLER ve ÇİZELGELER DİZİNİ

### ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1 Prion çeşitliliği ve tür bariyeri fenomeni.

Şekil 2.2 Yıllara göre BSE ve vCJD görülüş sıklığı arasındaki ilişki.

Şekil 2.3 1938-1977 yılları arasında skrapinin İngiltere’den dünyanın diğer bölgelerine yayılımı.

Şekil 2.4 1996-2004 arası dönemde skrapinin dünyada dağılımı.

Şekil 2.5 Koyun *PRNP* genindeki polimorfik noktalar.

Şekil 2.6 Fransa 2002-2008 yılları arası ARR allel frekansları.

Şekil 2.7 Hollanda 2005-2008 yılları arası Allel frekansları.

Şekil 2.8 Koyunlarda 13. kromozom üzerindeki genler ve kantitatif özellik (QTL) lokusları.

Şekil 2.9 Atipik skrapie teşhis edilen koyunlarda PrP genotip frekansları.

Şekil 3.1 FinchTv Programında koyun *PRNP* geni dizilerinin görüntülenmesi.

Şekil 3.2 Mega5 programında *PRNP* geni dizilerinin karşılaştırılması.

Şekil 4.1 Fransa ve Almanya’da yetiştirilen Merinos kökenli ırklar ile Karacabey Merinoslarının PrP allel dağılımı yönünden karşılaştırılması.

Şekil 4.2 Bazı Avrupa ülkelerinde yetiştirilen Merinos kökenli ırkların 2006 yılı ve sonrasına ait PrP allel profili.

Şekil 4.3 Türkiyede çalışılan ırkların PrP allelllerinin frekans ortalaması ile Karacabey Merinosları allel frekanslarının karşılaştırılması.

Şekil 4.4 Karacabey Merinosları ile Türkiye’deki PrP genotip frekans ortalamalarının risk gruplarına göre karşılaştırılması.

Şekil 4.5 Amerika, Avrupa, Avustralya ve Asya Kıtaları için PrP allel frekans ortalamaları ile Türkiye PrP allel frekans ortalamalarının karşılaştırılması.

## ÇİZELGELER DİZİNİ

- Çizelge 2.1 Prionların, tamamen olmasa da büyük çoğunlukta, nükleik asitten yoksun PrP<sup>SC</sup> moleküllerinden oluştuğu ile ilgili kanıtlar.
- Çizelge 2.2 İnsan ve hayvanlarda görülen prion hastalıkları ve ilk rapor edildiği tarihler.
- Çizelge 2.3 2003 yılına kadar dünya genelinde görülen İatrojenik CJD vakaları.
- Çizelge 2.4 PrP genotipine göre her milyon koyunda tahmin edilen skrapiye yakalanma riski.
- Çizelge 2.5 PrP genotiplerine göre skrapi dağılımı.
- Çizelge 2.6 İngiltere Ulusal Skrapi Planı
- Çizelge 2.7 İngiltere’de Ulusal Skrapi Planı ile 2002-2006 yılları arasında PrP allel dağılımındaki değişim.
- Çizelge 2.8 Farklı simülasyonlarda tahmin edilen ARR/ARR genotip frekansı
- Çizelge 2.9 ABD skrapi direnç indeksi.
- Çizelge 2.10.a Avrupa kıtası ülkelerinde ırklara göre PrP allel dağılımı.
- Çizelge 2.10.b Amerika ve Avustralya kıtası ülkelerinde ırklara göre PrP allel dağılımı.
- Çizelge 2.10.c Asya kıtası ülkelerinde ırklara göre PrP allel dağılımı.
- Çizelge 2.11.a PrP genotipi ve bir batındaki yavru sayısı arasındaki ilişki.
- Çizelge 2.11.b PrP genotipi ve kuzu büyüme özellikleri arasındaki ilişki
- Çizelge 2.11.c PrP genotipi ve konformasyon arasındaki ilişki.
- Çizelge 2.11.d PrP genotipi ve karkas kompozisyonu arasındaki ilişki.
- Çizelge 2.11.e PrP genotipi ve süt verim özellikleri arasındaki ilişki.
- Çizelge 2.12 Atipik skrapi ile ilişkili alleller.
- Çizelge 2.13 Atipik skrapi risk gurupları.
- Çizelge 4.1 Karacabey Merinoslarında PrP allellerinin frekansları.
- Çizelge 4.2 Karacabey Merinoslarında PrP genotip frekansları ve risk gurupları.
- Çizelge 4.3 Karacabey Merinoslarında skrapi risk gurupları.
- Çizelge 4.4 Kıvırcık koyunlarında tespit edilen PrP allel frekansları.
- Çizelge 4.5 Kıvırcık koyunlarında tespit edilen PrP genotip frekansları.
- Çizelge 4.6 Türkiye’de incelenen ırklarda PrP allel dağılımı.
- Çizelge 4.7 Türkiye’de yetiştirilen yerli ve melez ırklarda PrP genotip dağılımı.
- Çizelge 4.8 Karacabey Merinoslarında atipik skrapi risk gurupları.
- Çizelge 4.9 Karacabey Merinoslarında ek polimorfizmler.
- Çizelge 4.10 Türkiye’de şimdiye kadar bildirilen ek polimorfizmler.
- Çizelge 4.11 Aynı dizi üzerindeki diğer polimorfizmler.

## 1.GİRİŞ

Prion hastalıkları, diğer ismiyle bulaşıcı süngerimsi beyin dejenerasyonları (Transmissible Spongiform Encephalopathy- TSE), sporadik, enfeksiyöz veya kalıtsal kökenli olabilen, beyinde geri dönüşümü olmayan ve tedavi edilemeyen nörodejenerasyonlara neden olurlar. Enfeksiyon etkeni, insan ve hayvanlarda Prion Protein (*PRNP*) geni tarafından kodlanan prion proteinlerin, tam olarak aydınlatılmamış bir konformasyon süreci sonucunda patojenik hale gelen anormal izoformlarıdır. (Prusiner 1991, McKintosh ve ark. 2003).

Skrapı, koyun ve keçilerde beyinde boşluklar oluşumu şeklinde dejenerasyonlara sebep olan, bilinen en eski ve en yaygın prion hastalığıdır (Goldmann ve ark. 1990, Detwiler 1992, Cloucard ve ark. 1995, Benestad ve ark. 2003, Cosseddu ve ark. 2007).

Skrapı, insanlarda ve hayvanlarda görülen TSE hastalıklarının prototipi olarak kabul edilmektedir. Skrapı ve diğer TSE'lerde görülen ortak karakteristik özellikler şunlardır: Hastalık aylardan yıllara kadar değişen uzunlukta inkübasyon süresine sahiptir. Merkezi sinir sistemi (MSS)'de vakuolizasyon, sinir hücresi ölümü, astrositozis ve amyloid plak oluşumuna neden olur. Yangı ve immun yanıt görülmez. Progresif ve daima öldürücüdür (Detwiler 1992).

Yapılan çalışmalarda, skrapıye neden olan prionların her koyunda hastalık oluşturmadığı, bu hastalığa karşı genetik olarak direnç sözkonusu olduğu bulunmuştur. İnsanlarda 20 farelerde 2 ve koyunlarda 13. kromozom üzerinde bulunan *PRNP* genindeki polimorfizmlerin skrapıye ve diğer bazı TSE'lere karşı genetik direnç veya hassasiyeti belirlediği tespit edilmiştir. Koyunlarda *PRNP* genindeki 136, 154 ve 171. kodonların skrapıye dirençle ilişkili olduğu bilim dünyasında kabul görmektedir (Laplanche ve ark. 1993, Cloucard ve ark. 1995, Hunter ve ark.1997, Tranulis 2002, Gama ve ark. 2006, Watts ve Westaway 2007).

Skrapının insan sağlığı açısından doğrudan bir tehdit olduğu konusunda bilimsel kanıtlar olmasa da; 1986 yılında ortaya çıkan Sığırların süngerimsi beyin dejenerasyonu (Bovine Spongiform Encephalopathy-BSE) salgını ve BSE'nin insanlarda teşhis edilen varyant Creutzfeldt-Jakob hastalığı (CJD) ile bağlantısının ortaya konulması, dahası 1996 yılında BSE'nin deneysel olarak koyunlara bulaşabilirliğinin kanıtlanması Avrupa ülkelerini skrapı hastalığı ile ilgili eradikasyon programları oluşturmaya zorlamıştır (Palhière 2004).

1998 yılında, Norveç’de, histopatolojik incelemeler ve Western-blot analizlerinde, bilinen hiçbir skrapi ve TSE etkenine benzemeyen yeni bir prion türü keşfedilmiş, koyunlarda hastalık oluşturan bu etkenin daha çok klasik skrapiye karşı dirençli olduğu düşünülen genotiplerde ortaya çıktığı rapor edilmiştir. Nor98 olarak adlandırılan bu yeni prionun oluşturduğu hastalık atipik skrapi olarak isimlendirilmiştir. İlerleyen araştırmalarda, *PRNP* geninde 141. ve 154. kodonlardaki polimorfizmlerin, atipik skrapiye karşı doğal direnç veya duyarlılık ile ilişkisi olduğu tespit edilmiştir (Benestad ve ark. 2003, Moum ve ark. 2005, Lühken ve ark. 2007, Benestad ve ark. 2008).

## 2. KURAMSAL TEMELLER

### 2.1. Prion Proteinler

Prion proteinler; MSS başta olmak üzere, canlılarda çeşitli hücrelerde sentezlenen ve Prion Protein( Prion related Protein-PrP) olarak adlandırılan hücresel proteinlerdir. Bu proteinin PrP<sup>C</sup> formu, normal hücresel PrP'yi ifade ederken, PrP<sup>SC</sup> formu, prion hastalıkları ile ilişkili patojenik PrP'yi ifade etmektedir. Patolojik PrP, prion hastalıklarıyla ilişkisine göre PrP<sup>TSE</sup> veya PrP<sup>d</sup>, enfeksiyöz özelliğine göre PrP<sup>SC</sup>, toksitesine göre PrP<sup>tox</sup> veya PrP<sup>L</sup> ve proteaza direncine göre PrP<sup>res</sup> olarak isimlendirilir. PrP'nin normal formu (PrP<sup>C</sup>), genellikle tek parçalı yapıya sahip bir glikoproteindir. Proteaz enzimine duyarlı olan PrP<sup>C</sup>, glycoposphatidylinositol (GPI) çapa ile hücre membranlarına bağlanır. Hücre yüzeyindeki PrP'lerin yarı-ömrü 3-6 saat arasındadır. Üç boyutlu yapısında  $\alpha$ -sarmalı bakımından zengin olan PrP<sup>C</sup>, mekanizması tam olarak ortaya konulamamış konformasyonel bir değişikliğe uğrayarak  $\alpha$ -sarmalı bakımından fakir, aksine  $\beta$ -yaprağından zengin PrP<sup>SC</sup>'ye dönüşmekte ve enfeksiyöz özellik kazanmaktadır. PrP<sup>C</sup>'nin patolojik formu olan PrP<sup>SC</sup> yapısal olarak çok parçalı ve proteaz enzimine PrP<sup>C</sup>'den daha dirençlidir. PrP<sup>C</sup> ve PrP<sup>SC</sup> kimyasal olarak özdeş olmasına rağmen, çözünürlükleri, ikincil yapıları ve stabiliteleri gibi biyofiziksel özellikleri birbirinden tamamen farklıdır. Bu karakteristik özellikler, patolojik PrP'nin, bir araya gelerek amyloid fibriller oluşturma yeteneğinin yanı sıra, Alzheimer, Parkinson ve Huntingon gibi proteinlerin yanlış katlanması (protein misfolding) mekanizmasına sahip hastalıklarda görülen anormal protein birikimi ile benzerliklerini ortaya koymaktadır. TSE hastalıklarının etkeninin yalnızca PrP<sup>SC</sup> den ibaret olduğu varsayımı araştırmacılar arasında geniş olarak kabul görse de, bu konuda ki araştırmalar, PrP<sup>C</sup>'nin PrP<sup>SC</sup>'ye konformasyonel dönüşümünde başka moleküllerin komponent ya da kofaktör olarak görev yapıyor olabileceğini göstermiştir (Stahl ve ark 1987, Caughey ve ark 1989, Riesner 2003, Thackray ve ark. 2003, Thackray ve ark. 2006, Caughey ve Baron 2006, Michel ve Bakovic 2007, Solfrosi ve ark 2007, Kupfer ve ark. 2009).

Prionlar, nükleik asitten yoksun, yalnızca modifiye bir proteinden (PrP<sup>SC</sup>) oluşan bulaşıcı partiküllerdir. Normal hücresel prion protein (PrP<sup>C</sup>), çevrilme süreci sonrasında yüksek  $\beta$  yaprağı içeriği kazanarak PrP<sup>SC</sup>'ye dönüşür. Skrapi, BSE ve insanlarda CJD'nin de dahil olduğu TSE olarak bilinen prion hastalıkları, çevrilme süreci sonrasında modifiye olan hücresel prion proteinlerin birikmesi sonucu oluşmaktadır (Prusiner 1997).

Nükleik asitte değişikliğe neden olan pek çok inaktivasyon prosedürüne direnç gösteren, protein yapısındaki enfeksiyöz partikülleri ifade eden “*Prion*” terimi ilk olarak araştırmacı Prusiner (1982) tarafından kullanılmıştır.

Crick (1958), proteinlerin asıl fonksiyonlarının, canlı organizmalardaki hemen hemen tüm kimyasal reaksiyonları katalizleyen enzimler olarak görev yapmak olduğunu ve bilinen tüm enzimlerin protein yapısında olduğunu bildirmiştir. Araştırmacı, her ne kadar o yıllarda bu konuda yeterli kanıt bulunmasa da, genetik materyalin temel görevinin direkt ya da indirekt olarak protein sentezi olduğunu ileri sürmüştür.

Araştırmacı o yıllarda iki hipotezden bahsetmiştir.

1-Sekans hipotezi; Bu hipoteze göre; nükleik asitler yalnızca kendilerini oluşturan baz dizilimleri ile ifade edilmişlerdir ve bu baz dizileri özel bir proteinin aminoasit diziliminin kodlarıdır.

2-Santral Dogma; Bu hipoteze göre ise; bilgi, nükleik asitten nükleik asite veya nükleik asitten proteine transfer edilebilir, ancak bilginin proteinden proteine veya proteinden nükleik asite transferi mümkün değildir.

Başka bir ifadeyle nükleotidlerin dizilimi aminoasit dizilimini belirler ancak bunun tersi mümkün değildir (Morange 2008).

Sonraki yıllarda bilim dünyasındaki gelişmeler, Crick’in bahsettiği hipotezler ile ters düşmüştür. Reverse transkriptazın keşfedilmesi, protein katlanmasında chaperonların rolü, genetik bilginin DNA’dan proteine aktarılması sürecinde, DNA’nın epigenetik modifikasyonu, RNA müdahalesi gibi yeni fenomenlerin tespiti ve süngerimsi beyin dejenerasyonlarında prionların rolü gibi, “santral dogma” hipotezi ile çelişen keşifler yapılmıştır (Morange 2008).

Prion hastalıklarına neden olan etiyolojik ajan uzun zaman boyunca bilinmezliğini korumuştur. 1960’ların sonlarına doğru, koyun ve keçilerin nörodejeneratif bir hastalığı olan ve yaklaşık 200 yıldır (Gravenor ve ark. 2000) bilinen skrap hastalığına neden olan etkenin iyonize radyasyon ve ultra viyole (UV) ışınlarına karşı direnç göstermesinin keşfedilmesi, o dönemlerde popüler olan, skrap hastalığının etkeninin bir virüs olduğu yönündeki hipotezin kuşkuyla karşılanmasına neden olmuştur. Griffith (1967), hastalık etkeninin genetik materyal taşımadığını, hücrel bir proteinin değişikliğe uğramış bir formu olduğunu, otokatalitik bir mekanizma ile kendi devamlılığını sağladığını ileri sürmüştür (Shkundina ve Ter-Avanesyan 2007). Skrap etkeninin moleküler ağırlığını belirlemek için yapılan radyobiolojik ve

fotobiyoloji deneylerde, başlangıçta (her ne kadar sıra dışı özelliklere sahip olsa da) etkenin bir virüs olduğu varsayılarak, en küçük virüsleri inaktive etmeye yetecek dozda iyonize radyasyona maruz bırakılmıştır. Etkeninin inaktivasyonu için gereken hem iyonize radyasyon hem de ultraviyole ışın dozunun, replikasyon için nükleik aside bağımlı, bilinen tüm biyolojik olarak aktif partiküllerin inaktivasyonu için gerekenden çok daha büyük olduğunun keşfedilmesi, hastalık etkeninin bir virüs olduğu varsayımı konusunda aştıricılarda şüphe uyandırmıştır (Alper 1972).

1982 yılının başlarında, Prusiner ve ekibi, hasta hayvanlardan skrapi etkenini izole ederek bazı özelliklerini ortaya koymuşlardır. Araştırmacılar, skrapi etkeninin, ısı muamelesine karşı dirençli olduğu, proteinaz K ile muamele edildiğinde aktivitesini sürdürdüğü, üre ve sodyum dodesil sülfat (SDS) ile DNA hasarına neden olan nükleaz ve psoralensa karşı dirençli olduğu, aynı zamanda ortamda oksijen varlığında iyonize radyasyona duyarlılık gösterdiği, sonuç olarak, etkenin, lipit bağlı hidrofobik proteinlerin tipik özelliklerini gösterdiği yönünde bulgular elde etmişlerdir. Araştırmacılar, insan ve hayvanlarda, yavaş ilerleyen ancak MSS'de öldürücü dejenerasyonlara yol açan hastalıklardan sorumlu bu enfeksiyöz ajanı "Prion" olarak isimlendirmişlerdir. "Prion" terimi, "*proteinaceous infectious particle*" kelimelerinin baş harfleri ile Yunanca "*on*" (elektron ve interferon'da olduğu gibi) son ekinden türetilmiştir (Prusiner 1982, Cavallo ve ark. 2002, Shkundina ve Ter Avanesyan 2007).

1972 yılında San Francisco'da, Kaliforniya Üniversitesi'nin Nöroloji Bölümü'nde uzmanlık eğitimine başlayan Stanley Benjamin Prusiner, CJD tanısı konan bir kadın hastanın kısa sürede ölmesi sonucunda bu hastalığın sıra dışı doğası ve tam olarak tanımlanamayan etkenine karşı ilgi duymaya başlamıştır. Araştırmacı, etkenin moleküler yapısını belirlemenin en iyi yolunun etkenin saflaştırılması olduğunu düşünerek bu konuda uzun ve zahmetli çalışmalar yapmıştır. Başlangıçta virüs olduğunu varsayarak saflaştırdığı etken nükleik asit içermiyor, her seferinde proteinden ibaret oluyordu. Yaklaşık on yıl boyunca bu konuda yaptığı çalışmaları bir makale olarak yayınlamış ve bu makalede ilk defa "prion" terimini kullanarak hastalık etkenini aslında bir virüs değil, enfeksiyöz protein partikülleri olduğunu öne sürmüştür. Bu hipotez bilim dünyasında oldukça ses getirmiş ve hastalık etkenin protein olduğunu düşünmeyen bilim adamları bunun tersini ispatlama arayışlarına girmişlerdir. Prusiner, bu durumu "*Bir çokları tarafından, etkende nükleik asit bulunmamasına ilişkin şiddetli suçlamalara rağmen, aslında Detlev REINSER ve ben nükleik asit bulabilmek için herkesten fazla uğraştık*" sözleriyle ifade etmiştir. Bir hastasının ölümüyle başlayan macera,



uzun çalışmalar sonucunda, prion hastalıklarının etkenini ve enfeksiyon mekanizmasını ortaya koymasıyla, araştırmacıya 1997 yılında Nobel Tıp ödülü kazandırmıştır (Demirpençe 2008, Anonim 2011h).

Günümüzde prion terimi, sadece TSE'lerin etiyolojik etkeninin ifadesi olarak sınırlandırılmamakta, kendi devamlılığını sağlayabilecek bir konformasyona dönüşebilen herhangi bir protein için de kullanılmaktadır (Uptain ve Lindquist 2002).

## **2.2 Prion Hipotezleri**

### **2.2.1 Yavaş virüs hipotezi**

“Yavaş (Slow) virus” terimi ilk olarak Sigurdsson (1954) tarafından, araştırmacının İzlanda’da, koyunlarda visna ve skrapi üzerine çalıştığı dönemde kullanılmıştır. Bundan yaklaşık beş yıl sonra Hadlow, Yeni Gine kabilelerinde görülen kuru hastalığının skrapi ile büyük oranda benzerlik taşıdığını, bu hastalığın da slow virüs enfeksiyonları çerçevesinde değerlendirilmesi gerektiğini bildirmiştir (Prusiner 1998) .

Skrapi hastalığı, alışılmadık şekilde uzun inkübasyon süresine sahip olması ve yapılan bazı araştırmalarda skrapi ile enfekte farelerin beyin dokularında virüs benzeri partiküller izole edilmesi nedeniyle başlangıçta slow virüs olarak kabul edilmesine rağmen konuyla ilgili daha sonraki araştırmalarda hastalığın etkeninin virüs ve bilinen diğer hastalık etkenlerinden tamamen farklı olduğu ortaya konulmuştur (Cho 1976, Soto ve Castilla 2004)

### **2.2.2 Otoimmün hastalık hipotezi**

Ebringer ve ark. (1997, 1998), BSE'nin nedeninin, hayvan yemlerinde bulunan biyolojik ajanlar (*Agrobacterium tumefaciens*, *Ruminococcus albus*, *Acitenobacter calcoaceticus* vb.) ile miyelin proteinleri arasındaki moleküler benzeşmeler sonucunda ortaya çıkan otoimmün bir reaksiyon olduğunu ileri sürerek, “Otoimmün hastalık” hipotezini geliştirmişlerdir. Araştırmacılar, bu hipoteze göre; sığırlardaki BSE hastalığının, hayvan yemlerinde bulunan ve beyin dokusu ile moleküler olarak benzer antijenler taşıyan ajanların neden olduğu otoimmün bir hastalık olduğunu bildirmişlerdir. BSE hastalığındaki nörolojik hasarın muhtemelen iki aşamada oluştuğunu, ilk aşamada nöronların etrafını saran miyelinin hasara uğradığı ve bu hasarın sinir dokusuna yayıldığını, ikinci aşamada nöronal hasarın, hidrolize edilemeyen protein birikimi ile beraber şekillendiğini bildirerek, BSE veya skrapiden etkilenmiş hayvanların imha edilmesinin gereksiz olduğunu, hayvan yemlerindeki

bu patojenlerin uzaklaştırılmasının hastalığın eradikasyonunda yeterli olacağını iddia etmişlerdir.

### 2.2.3 Sadece protein hipotezi

Griffith (1967), ilk olarak, proteinlerin kendi başına enfeksiyöz nitelikte ve TSE hastalıklarının etiolojisinden sorumlu olabileceğini bildirmiştir (Aguzzi ve ark. 2007). Yapılan ilk çalışmalarda, skrapie ile enfekte farelerin beyin ekstraktlarına UV ışını uygulanmış, hastalığa neden olan ajanın replikasyon için nükleik aside bağımlı olmadığını doğrulanmıştır. Bununla beraber bu ajanın bir proteinle ilişkili olduğunu gösteren herhangi bir kanıt elde edilememiştir (Alper ve ark. 1967).

Stanley B. Prusiner; skrapie ile enfekte farelerin beyin dokularından prionları saflaştırmayı başararak, TSE etkenlerinin, nükleik asidi modifiye edebilecek nitelikteki birçok inaktivasyon prosedürlerine dayanıklılık gösteren, nükleik asit içermeyen, moleküler büyüklükleri 27.000-30.000 dalton arasında ve proteaza dirençli, tamamen değilse bile büyük oranda PrP<sup>SC</sup> moleküllerinden oluşan protein yapısında enfeksiyöz partiküller olduğunu rapor etmiştir (Prusiner 1982, Bolton 1982, Prusiner 1999).

“Sadece protein” hipotezine göre; hücrel PrP<sup>C</sup>, konformasyonel bir değişim geçirerek patojenik form olan PrP<sup>SC</sup>’ye dönüşmektedir. PrP<sup>C</sup>’deki  $\alpha$ -sarmalı yapısı, PrP<sup>SC</sup>’de  $\beta$ -yaprağı yapısına çevrilmekte, sonuç olarak, endojen PrP<sup>C</sup>’yi patojenik izoforma dönüştürme yeteneği olan, proteazlara karşı dirençli ve enfeksiyöz nitelikte yeni PrP<sup>SC</sup> molekülleri oluşmaktadır. PrP<sup>SC</sup> varlığında bu dönüşüm, otokatalitik bir süreç ile devam etmektedir (Laurent 1996, Zou ve Gambetti 2005). Sadece protein hipotezini destekleyen kanıtlar çizelge 2.1’ de sıralanmıştır (Prusiner 1998).

---

Çizelge 2.1 Prionların, tamamen olmasa da büyük çoğunlukta, nükleik asitten yoksun PrP<sup>SC</sup> moleküllerinden oluştuğu ile ilgili kanıtlar

---

- 1-Biyokimyasal ve immunolojik prosedürler kullanıldığında, skrapie enfeksiyonundan PrP<sup>SC</sup> saflaştırılır.
  - 2- PrP<sup>SC</sup>'nin alışılmadık özellikleri, prionların özelliklerinin benzeridir. PrP<sup>SC</sup>'yi modifiye ya da hidrolize eden birçok farklı prosedür prionları inaktive eder.
  - 3- PrP<sup>SC</sup> miktarı, prion titresi ile direkt orantılıdır. Denatüre edilmemiş PrP<sup>SC</sup>'nin skrapie etkeni prionlardan ayrımı mümkün değildir.
  - 4- Skrapie enfeksiyonlarında, virus partikülü veya nükleik asidi bulunması ile ilgili herhangi bir bulgu yoktur.
  - 5- Skrapie için patognomik olan PrP amyloid plakları da dahil, PrP<sup>SC</sup> birikimi değişmez bir biçimde prion hastalıklarının patolojisi ile ilişkilidir.
  - 6- *PRNP* genindeki mutasyonlar kalıtsal prion hastalıkları ile genetik olarak bağlantılıdır. Bu mutasyonlar, PrP<sup>SC</sup> formasyonuna neden olurlar.
  - 7- PrP<sup>C</sup>'nin fazla miktarda sentezlenmesi, PrP<sup>SC</sup> formasyon oranını artırır. Bu durumda hastalığın inkübasyon süresi kısalır. *PRNP* geninin işlevsiz hale getirilmesi, PrP<sup>SC</sup> formasyonu oluşumu için gerekli substratları elemine eder, prion replikasyonundan ve prion hastalığı oluşumundan korur.
  - 8- *PRNP* gen dizinindeki türlere özgü varyasyonlar, prionların bir konakçıdan bir başka konakçıya pasajlanması ile ortaya çıkan tür bariyeri ile en azından bir miktar ilişkilidir.
  - 9- PrP<sup>SC</sup>, tercihen homoloğu olan PrP<sup>C</sup>'ye bağlanır. Bunun sonucunda yeni PrP<sup>SC</sup>'ler oluşur ve prion infektivitesi meydana gelir.
  - 10- Chimeric ve kısmi olarak silinmiş *PRNP* geni, farklı türlerin prionlara karşı duyarlılığını değiştirir, yeni özelliklere sahip, doğada bulunmayan yapay prionların üretimine olanak tanır.
  - 11- Prion türleri, PrP<sup>SC</sup> konformasyonları içerisinde kodlanır. Bu türler, farklı *PRNP* genlerine sahip konakçılarda pasajlanarak üretilebilir ve PrP<sup>C</sup>/PrP<sup>SC</sup> etkileşimleri ile devamlılıklarını korurular.
  - 12- Ailesel CJD (fCJD) ve öldürücü ailesel uykusuzluk (Fatal Familial Insomnia-FFI) hastalarından elde edilen prionlar, Chimeric ve transgenik farelerde, prion türü oluşum mekanizmasına kanıt olabilecek nitelikte farklı özellikler gösterirler.
-

Günümüzde, prionlar üzerine çalışmalar yapan bilim adamlarının büyük çoğunluğu, PrP'nin prion enfeksiyonlarında tek başına olmasa bile esas ve gerekli komponentler olduğu konusunda hemfikirdirler. Ancak, PrP dışında, başka hücrenel komponentlerin rolü olup olmadığı, var ise ne şekilde rol oynadıkları konusundaki sorular hala devam etmektedir. Bahsedilen hücrenel komponentler iki ana grup altında toplanabilir. Bunlardan birincisi; PrP<sup>SC</sup>'nin yapısal stabilitesi için gerekli olan ve PrP<sup>SC</sup>'nin yapısal bileşeni halinde bulunan kofaktörler, ikincisi ise; PrP<sup>C</sup>'nin PrP<sup>SC</sup>'ye dönüşümünde rol alan, ancak PrP<sup>SC</sup> agregatlarının yapısal bileşeni halinde bulunmayan kofaktörler olarak sıralanabilir (Baskakov 2007).

İlk gurupla ilgili olarak, Dumpitak ve ark. (2005), hamsterlere ait PrP<sup>SC</sup> ve farelerde ScN2a prionlarında %5-15 oranında polisakkarit tespit ederek, bu polisakkaritlerin hamster ve farelerde prionların genel sekonder komponentleri olduğunu, Klein ve ark. (1998), yüksek saflıktaki infektif prionlarda sphingolipidler tespit ettiklerini, bu lipidlerin ya prion fonksiyonları için gerekli olduğunu ya da PrP'nin spesifik lipid raftları içerisindeki hücrenel lokasyonunun kalıntıları olabileceğini bildirmişlerdir.

İkinci gurupla ilgili olarak ise; TSE'ler üzerine yapılan araştırmaların büyük çoğunluğu enfeksiyon ajanının nükleik asitten yoksun olduğu hipotezine desteklemesine rağmen, Deleault ve ark. (2003), yaptıkları denemelerde; *in vitro* şartlarda PrP<sup>C</sup>'nin PrP<sup>SC</sup>'ye transformasyonunda spesifik RNA moleküllerinin gerekli olduğunu, şaşırtıcı şekilde memeli RNA preparatlarının PrP<sup>SC</sup>'nin *in vitro* amplifikasyonunu stimule ederken, omurgasız türlerden elde edilen RNA preparatlarının böyle bir işleve sahip olmadıklarını, bu durumda konakçı tarafından kodlanan stimule edici RNA moleküllerinin TSE hastalıklarının patogeneğinde rol oynayabileceğini bildirmişlerdir.

Bir başka örnek olarak; endojen, sülfatlı glikozamin glikanlar, PrP<sup>SC</sup> birikimi ile ilişkilidir ve muhtemelen PrP<sup>SC</sup> formasyonunu hızlandırmaktadırlar. Örneğin heparan sülfat ve pentosan sülfat PrP<sup>SC</sup> formasyonunu teşvik etmektedir. Yüksek ısı PrP<sup>C</sup>'den PrP<sup>SC</sup>'ye konformasyonel dönüşümü daha da kamçulamaktadır. Diğer yandan, bazı eksojen sülfatlı glikanlar PrP<sup>SC</sup> birikimini belirgin bir şekilde kısıtlayarak, proflaktik anti-TSE bileşikleri gibi görev yapmaktadır (Wong ve ark. 2001).

## 2.3 Prion Proteinlerin Fonksiyonları ve Patogenezi

### 2.3.1 Prion proteinlerin sentezi ve fonksiyonları

PrP<sup>C</sup>, hücrede endoplazmik retikulumda sentezlenir, buradan golgi aygıtına yönlendirilir, golgi aygıtı boyunca hareketi esnasında modifiye olur ve daha sonra olgun formda hücre yüzeyine taşınır (Borchelt ve ark. 1992, Caughey ve Baron 2006).

PrP<sup>C</sup>, çoğunlukla MSS'de sentezlenen bir membran sialoglycoproteinidir. Yapılan araştırmalarda, MSS yanısıra, mide, bağırsaklar, akciğerler, böbrekler, dalak, lenf nodülleri, adrenal bez, abomasum, meme bezleri ve uterus gibi organ ve dokularda bu proteine rastlanmış, buna karşılık, karaciğer dokusunda ne PrP<sup>C</sup>, ne de PrP mRNA tespit edilememiştir (Horiuchi ve ark. 1995, Fournier ve ark. 1998).

Memelilerin yanı sıra, tavuk, kaplumbağa, kurbağa türlerinde ve hatta mayalarda hücrel prion protein bulunmaktadır. Bu türlerdeki hücrel prion proteinlerin amino asit dizilimleri, memelilerdekiler ile %30 oranında özdeştir ve memeli prion proteinleri ile aynı moleküler yapıya sahiptirler (Calzolari ve ark. 2005, Inoue 2009).

Yapılan araştırmalarda, prion proteinlerin; hücrel madde alışverişi, oksidatif strese karşı koruyuculuk görevi, hücre adezyonu, hücrelerinin farklılaşması, haberleşmesi ve yaşam süreleri ile, özellikle demir, bakır ve çinko olmak üzere metal iyonlarının regülasyonu ile ilgili fonksiyonları olduğu yönünde bulgular elde edilmiştir (Hornshaw ve ark. 1995, Brown ve ark. 1997, Martins ve ark. 2002, Cathryn ve ark. 2006, Andrew ve ark. 2006, Zhang ve ark. 2006, Krebs ve ark. 2007, Singh ve ark. 2009, Singh ve ark. 2010, Pushie ve ark. 2011).

Maya prionları üzerine yapılan çalışmalardan elde edilen bulgular, prion ve amyloid fibrillerin karakteristiğinin anlaşılmasına büyük katkılarda bulunmuştur (Inoue 2009). Susan ve ark.(2002), *Saccharomyces cerevisiae* ve *Podospora anserina* mayalarına ait dört prion proteinin, nitrojen regülasyonu, diğer prionları indükleyebilmesi ve heterokaryon uyumsuzluğu gibi farklı biyolojik süreçleri etkilediğini, prion olabilme yeteneğini evrimsel olarak koruma altında olduğunu, maya prionu olan *PSI<sup>+</sup>*'in, çevresel değişime yanıt olarak, genetik varyasyon ve fenotipik farklılık için bir mekanizma sağladığını ve prionların epigenetik olarak birçok önemli biyolojik süreci düzenlediğini bildirmiştir. Araştırmacılar, proteinin konformasyonel değişikliği sonucu ortaya çıkan prionun, proteinin fonksiyonu ve hücre fenotipini değiştirdiğini, prion durumundaki proteinin anne hücreden yavru hücreye transferi ile değişen fenotipin de jenerasyondan jenerasyona aktarıldığını, böylece, maya prionlarının,

biyolojik olarak önemli fenotipik değişikliklere yol açan ve nükleik asitte herhangi bir değişiklik olmaksızın bu fenotipik değişiklikleri kalıtım yoluyla aktarılabilen, protein temelli genetik elementler olarak rol oynadığını ifade etmişlerdir.

### 2.3.2 Proteinlerin katlanması ve yanlış katlanma

Proteinler üç boyutlu bir yapıya sahiptir ve fonksiyonları sahip oldukları bu yapıya bağlıdır. Doğal globuler proteinlerde, polipeptid zinciri tam olarak uzamamış, aksine zayıf fiziksel bağlarla devamlılığını sürdüreceğ şekilde katlanmıştır. Bu katlanma biçiminin belirli tür proteinlerin her kopyasında hemen hemen aynı olduğu düşünülmektedir. Eğer ısı veya başka metodlarla bu katlanma biçimi bozulursa, proteinler bilinen adıyla denatüre olur. Birçok proteinin biyolojik özellikleri, bilhassa enzimlerin katalitik aksiyonları, protein yüzeylerindeki kesin uzamsal düzenlemeye bağlıdır. Polipeptit zincirlerindeki katlanmalarda meydana gelebilecek herhangi bir değişiklik, proteinin biyolojik özelliğinin tahrip olması anlamına gelir (Crick 1958, 1970).

Proteinlerin yapısı, kendilerine özel aminoasit dizilimi ile belirlenir. Aminoasit dizinlerinden oluşan polipeptid zinciri proteinlerin birincil yapısını oluştururken, proteinin katlanma sürecinin ilk adımı olan ve  $\alpha$ -sarmalı ve  $\beta$ -yaprağı olarak tanımlanan tipik modeller proteinin ikincil yapısını oluşturur. Bir proteinin fonksiyonel olarak aktif olabilmesi için, katlanma süreci sonunda, kendine özgü üç boyutlu yapısını kazanması gerekir. Buradaki kritik soru proteinlerin nasıl katlanabildiğidir. Chaperon adı verilen proteinlerin, daha büyük proteinlerin uygun bir şekilde katlanmasına yardım eden bir fonksiyona sahip oldukları gösterilmiştir. Organizmada birçok protein, katlanma sürecini kendiliğinden doğru olarak tamamlayamaz, ancak moleküler chaperonlar yardımı ile bu süreci tamamlayabilir. Moleküler chaperonlar, diğere proteinlerin katlanma süreçlerine dahil olarak onların yanlış katlanmalarının önüne geçerler ve böylece yanlış katlanma nedeniyle agregat oluşumunu engellemiş olurlar. Chaperonlar, hücrede çeşitli noktalarda bulunurlar ve hedef proteinlerin doğru ya da yanlış katlandığını ayırdına varabilecek yetenektedirler. Bu mekanizma henüz anlaşılammıştır. Yanlış katlanma veya aminoasit diziliminde herhangi bir mutasyon sonucu kendi doğal üç boyutlu yapısını kazanamayan proteinler, moleküler chaperonlar ve bir çeşit proteozom sisteminden oluşan ve “protein kontrol sistemi” olarak adlandırılan bir sistem tarafından fark edilerek yıkılma sürecine sokulur (Chaudhuri ve Paul 2006, Lupi ve Peryassu 2007, Scott 2009).

Günümüzde, aynı proteinin farklı stabil formlarının, hücre içerisindeki farklı fonksiyonlara katılabileceğ genel olarak kabul görmektedir. Proteinlerin katlanma sürecinde

ortaya çıkan hataların farklı hastalıklara yol açtığı gösterilmiştir. Yanlış katlanma (misfolding) olarak tabir edilen bu hatalı katlanma durumu, proteinin doğal formundan tamamen farklı stabil bir formasyona kavuşmasına neden olmaktadır. Yanlış katlanma muhtemelen, daima hücre içerisinde, stoplazma ve endoplazmik retikulumda protein üretimi esnasında meydana gelmektedir. PrP<sup>C</sup>'nin PrP<sup>SC</sup>'ye dönüşümünün hücredeki lokasyonun belirlemek için, hücre içi protein trafiği selektif olarak bozulmuş ve PrP<sup>SC</sup> ile enfekte edilmiş sinir hücresi hatlarında yapılan araştırmalarda, prion dönüşümünün, hücre içinde endosomal geridönüşüm kompartmanında gerçekleştiği ortaya konulmuş, bu durumun, proteinlerin aminoasit dizininde, yanlış katlanmaya neden olan bir mutasyonda da kaynaklanabileceği bildirilmiştir. Yanlış katlanan proteinler, proteasomal dejenerasyon sürecinde tesbit edilir ve yıkımlanırlar, böylece bu proteinlerin birikmesi ve hastalıklara neden olması engellenir. Hücre tarafından yıkımlanamayan yanlış katlanmış proteinler kümeleşme ve uzun ince fibriller oluşturma eğilimindedir. Hücre içi katlanma mekanizmasındaki hatalar veya yanlış katlanan ya da katlanmamış proteinleri tespit eden ve yıkımlayan kalite kontrol mekanizmasındaki hatalar konformasyonel hastalıklar (Alzheimer, Parkinson, çoğu sistemik amyloidosis vakası ve bazı TSE'ler) olarak ifade edilen bir dizi patolojik bozukluğa neden olmaktadır (Lupi ve Peryassu 2007, Marijanovic ve ark. 2009).

Prion enfeksiyonlarında, hücrel prion proteinlerin katlanma sürecinde, PrP<sup>SC</sup> şablon olarak görev yapar ve hücrel protein olan PrP<sup>C</sup>'nin hatalı katlanmasını katalizler. Yanlış katlanma sonucu oluşan PrP<sup>SC</sup> molekülleri, proteaz enzimi tarafından yıkımlanamaz ve amyloid fibriller halinde agregatlar oluşturarak nörodejenerasyona neden olurlar. Prionlar, aynı aminoasit dizinine sahip *PRNP* geni tarafından kodlanmasına rağmen, farklı biyolojik ve fizyokimyasal özelliklere sahip, farklı türde formlar halinde bulunmaktadır (Zamponi ve Stys 2009, Kupfer ve ark. 2009, Fischer 2010).

### **2.3.3 Konformasyonel dönüşüm ve konformasyonel hastalıklar**

Protein Konformasyonel hastalıkları, ya da diğer ismiyle Amyloidosis, Alzheimer's, Parkinson's, Prion Ensefalopatileri ve Huntington's, Gaucher's gibi nörodejeneratif hastalıklar ile kistik fibrosis ve sistemik amyloidosis gibi hastalıkları kapsamaktadır. Bu tür hastalıkların çoğunda proteinlerin, yanlış katlanması ve konformasyonel değişikliklere uğraması esas etken olarak bilinmektedir. Yanlış katlanan ve konformasyonel dönüşüm uğrayan proteinler çözünmeyen amyloid fibriller halinde bir araya gelerek spesifik organlarda birikmektedirler. Konformasyonel hastalıklarda, protein birikintileri oluşmasının moleküler

temeli bu proteinlerin belirli koşullarda yanlış veya kısmen katlanmalarıdır (Soto 2003, Lin ve Liu 2006, Chaudhuri ve Paul 2006, Aguzzi ve Tracy 2010).

Lupi ve Peryassu (2007), alzheimer, parkinson ve tip II diyabet gibi bir amyloid hastalığı olan sistemik amyloidozisin, fareler arasında, prion benzeri bir mekanizma ile bulaşıcılığının kanıtlanması ile birlikte en azından bazı amyloid hastalıkların prionlarla ilgili hastalıklarla benzer şekilde bulaşıcı olduğunu bildirmiştir.

Pan ve ark. (1993), PrP<sup>C</sup>'nin yüksek  $\alpha$ -sarmalı (%42) ve düşük  $\beta$ -yaprağı (%3) içerdiğini, buna karşılık PrP<sup>SC</sup>'nin %30  $\alpha$ -sarmalı ve %43  $\beta$ -yaprağı içerdiğini, prion enfeksiyonlarının kaynağının bu konformasyonel değişiklik olduğunu rapor etmişlerdir.

Cordeiro ve Silva (2005), konakçıya ait nükleik asidin, protein mobilitesini azaltarak ve protein-protein etkileşimini mümkün kılarak, PrP<sup>C</sup>'nin PrP<sup>SC</sup>'ye dönüşümünü katalizleyebileceğini rapor etmişlerdir.

### 2.3.4 Prion birikimi

Prion hastalıklarının ortak özellikleri, PrP<sup>SC</sup> birikimi, akrosistozis ve vakualizasyon şeklindedir. Prion replikasyonu ilk olarak genellikle lenforetiküler sistemde olmakta, sonra prionlar periferel sinir nöronları vasıtasıyla beyine doğru göç etmekte ve beyin dokusunda birikerek nöronların ölümüne neden olmaktadır (Sakudo ve Ikuta 2009). Yapılan araştırmalarda; PrP<sup>SC</sup>'nin, hem çözünebilir oligomerler hem de çözünmeyen fibriller olmak üzere çeşitli formlarda birikintilere neden olduğu ortaya konulmuştur (Fontaine ve Brown 2009).

DeArmond ve ark. (1987), normal hamsterların beyinde PrP<sup>C</sup>'nin öncelikli olarak sinir hücreleri gövdesinde lokalize olduğunu, ancak skrapinin son safhalarında PrP aktivitesinin çoğu sinir hücrelerinde kaybolduğu ve bu aktivitenin nöropillere kaydığını bildirerek, skrapisi ile enfekte beyin dokusu gri maddesinde prion proteinlerin üniform dağılım göstermediğini, aksine spongiform dejenerasyonun bulunduğu bölgelerde yoğunlaştığını ifade etmişlerdir.

Skrapisi ile enfekte edilmiş farelerin nöroblastomalarında (ScN2a) ve yine skrapisi ile enfekte edilmiş hamsterların beyin hücrelerinde (ScHaB), PrP<sup>SC</sup> öncelikli olarak hücre stoplazması içerisinde, özellikle de sekonder lizozomlarda birikme eğilimi gösterirken, hücresel PrP<sup>C</sup>, bir glycoinositol phospholipid çapa aracılığı ile plazma membranının eksternal yüzeyine bağlandığı gözlenmiştir (McKinley ve ark. 1991, Taraboulos ve ark. 1994).



Yokoyama ve ark. (2001), prionlarla enfekte edilmiş beyin dokusunda yalnızca PrP<sup>SC</sup> birikimi olmadığını, bunun yanında PrP<sup>C</sup> fonksiyonunun kaybolduğunu ifade ederek, bu durumun prion hastalıklarının patogeneğinde önemli olabileceğine değinmiştir.

### 2.3.5 Prion türleri

Prion hipotezindeki en büyük problemlerden birisi, etkenin farklı türlerinin mevcut olmasıdır. Prion türleri biyokimyasal karakteristiklerine göre, glikosilasyon profili, elektroforetik hareketliliği, proteaz enzimlerine karşı gösterdiği direnç ve sedimentasyon gibi yöntemlerle ayırt edilebilirken, *in vivo* olarak, klinik belirtiler, inkubasyon periyodu ve hasta hayvanların beyindeki lezyonlara göre belirlenebilir. Genetik duyarlılığa göre ise, Valin bağımlı ve Valinden bağımsız olarak guruplandırılmaktadır. Koyunlarda, *PRNP* geni kodon 136'da Valin kodlanması, Valin bağımlı skrapie ajanına (SSPB/1) karşı duyarlılığı artırırken, 171. kodonda homozigot Glutamin kodlanması, Valinden bağımsız skrapie ajanına (CH1641) karşı duyarlılığı artırmaktadır. Prion türlerindeki çeşitlilikler, prion proteinlerdeki kalıtsal konformasyonel esneklik, PrP polimorfizmi ve türler arası bulaşabilirlik gibi nedenlerden kaynaklanmaktadır. Prionların çeşitli türlerinin olması; bu konudaki bilimsel çalışmalarda zorluklara neden olmakla beraber, prion türleri arasındaki etkileşimler sonucu daha fazla sayıda prion türü ortaya çıkma potansiyeli ile asıl halk sağlığına yönelik büyük bir tehdit oluşturmaktadır (Morales ve ark. 2007, Evoniuk ve ark. 2005).

Prion türlerinin oluşturdukları hastalığın klinik seyri, nöropatolojisi ve bulaşabilirliği farklılık gösterirken fiziko-kimyasal özellikleri birbirleri ile benzerdir (Weissmann 2004).

Genetik olarak tanımlanmış farelerde, oluşturdukları hastalıkların karakteristiklerine göre ayrımı yapılabilen çok sayıda skrapie ajanı türü bulunmaktadır. Aynı fare türünde, farklı skrapie ajanı türlerini izole edilmesi, bu ajanların, konakçıdan bağımsız, bilgi moleküllerine sahip olduğunu göstermektedir (Bruce 1993).

Marcelo ve ark. (2009), standart protein misfolding cyclic amplification (PMCA) prosedürünü modifiye ederek, başlangıçta PrP<sup>SC</sup> molekülleri olmaksızın, yalnızca PrP<sup>C</sup> moleküllerinden PrP<sup>SC</sup> molekülleri üretmeyi başarmışlardır. Elde edilen PrP<sup>SC</sup> moleküllerinin yabani tip hamsterlerde enfeksiyona neden olduğunu bildiren araştırmacılar, enfeksiyonun klinik, nöropatolojik ve biyokimyasal özellikleri bakımından bilinenlerden çok farklı olduğunu, prion çeşitliliğinin günümüzde bilinenlerle sınırlı olmadığını ve muhtemelen prion hastalıklarının yeni formlarının ortaya çıkacağını, ayrıca bu çalışmanın, sporadik prion hastalıkları için basit bir model olabileceğini bildirmişlerdir.

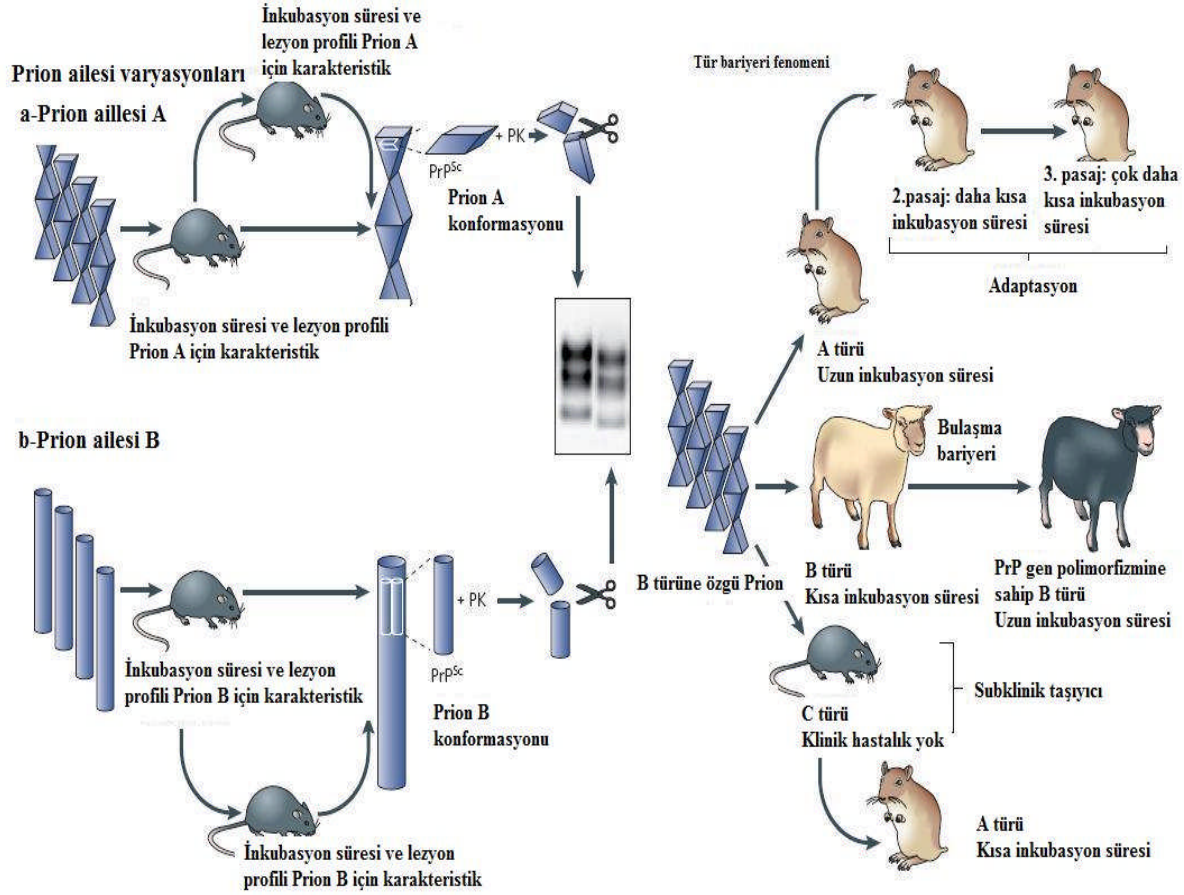
### 2.3.6 Tür bariyeri

İnsan prion proteini sentezleyen transgenik farelere, kalıtsal veya sporadik prion hastalıklarından biri ile enfekte insanlara ait beyin dokusu ekstraktı inoküle edilerek PrP<sup>C</sup>'nin PrP<sup>SC</sup>'ye transformasyonunun mekanizması anlaşılmaya çalışılmıştır. Bu araştırmalarda; transgenik farelerin yüksek düzeyde insan PrP'si sentezlemesine karşın, insan prionlarına dirençli olduğu, ancak fare *PRNP* geninin çıkarılmasıyla bu hayvanların insan prionlarına karşı duyarlı hale geldiği gösterilmiş, bu ve daha önceki çalışmalardan elde edilen bulgular ışığında, protein X olarak tabir edilen, türlere özel bir makromolekülün prion formasyonuna katıldığı, üstelik, PrP<sup>SC</sup>'nin PrP<sup>C</sup> üzerinde 96 ile 167. kodonlar arasındaki kısıtlı bölgeye bağlanmasının çeşitli araştırmalarda gösterilmesiyle, PrP<sup>C</sup>'nin aynı zamanda C-terminus aracılığıyla protein X'e bağlandığı, protein X'in, PrP<sup>SC</sup> formasyonunda moleküler bir chaperon olarak fonksiyonu olabileceği yönünde düşünceler ortaya çıkmıştır (Glenn ve ark. 1995).

Prion bulaşmasında tür bariyerinin; ortalama inkubasyon süresinin uzaması, hastalıktan klinik olarak etkilenen hayvanların oranında düşme gibi biyolojik etkileri vardır. Memeli türleri arasında Prion bulaşması, enfeksiyöz materyal ile konakçı prion proteinlerinin primer yapıları arasındaki farklılığa bağlı olarak sınırlı olduğu düşünülmektedir. Hil ve ark. (2000), fareler için patojenik olmadığı bilinen hamster prionunu farelere inokule etmişler, klinik semptomlar görülmemesine rağmen bu hayvanlarda yüksek oranda prion replikasyonu tespit etmişlerdir. Araştırmacılar, bu şekilde subklinik prion enfeksiyonu varlığının sağlıklı görünen insanlar arasında iatrojenik yoldan bulaşabileceğini, hayvan türleri ve insanlar arasında bu tip bulaşmaların halk sağlığını ciddi anlamda tehdit edeceğini bu yüzden, klinik semptomları üzerinden tanımlanan tür bariyerinin tekrar değerlendirilmesi gerektiğini bildirmişlerdir.

PrP'nin katlanış biçimi türler arasında oldukça korunmuş olmakla beraber, amino asit dizisindeki farklılıklar yapısal çeşitliliğe yol açmaktadır. Prion proteinin üç boyutlu yapısındaki  $\beta_2$ - $\alpha_2$  arasındaki düğüm bölgesi türler arasında farklılıklar sergilemektedir. Aminoasit diziliminde 170 ve 174. pozisyonlardaki polimorfizmin, bahsedilen düğüm bölgesini etkilediği ve bu düğümdeki devingenliğin prion hastalıklarına karşı direnç ile ilişkili olduğu bulunmuştur. Türler arasında amino asit dizilimindeki tek polimorfizmin de prion hastalıklarına karşı duyarlılığı etkilemekle birlikte, bu etki, PrP'de biyofiziksel farklılıklar oluşturmaktan ziyade, hüresel PrP'nin patojenik PrP ile kendini ilişkilendirmesi ve  $\beta$ -yaprağından zengin, oligomerik ve amyloid benzeri forma dönüşmesini engellemek yönünde

olmaktadır. Duyarlılığı belirleyen en büyük faktör, hücrel PrP'nin yanlış katlanmış forma kendini adapte ederek konformasyonel değişikliklere ön ayak olabilmeye yeteneği olduğu bildirilmektedir (Sweeting ve ark. 2010, Sigurdson ve ark. 2010 ).



Şekil 2.1 Prion çeşitliliği ve tür bariyeri fenomeni (Aguzzi ve ark. 2007).

Şekil 2.1'deki gibi, A ve B şeklinde farklı prion izolatlarının genetik olarak özdeş konakçılara bulaştırılması, inkubasyon zamanı ve lezyon profili gibi hastalığa özel belirtiler açısından farklı sonuçlar doğurur. Bu özellikler aynı türden yeni konaçlara yapılan seri pasajlarda da korunur. Bir türden izole edilen prionlar, genellikle diğer türler için daha az enfeksiyözdür. Bu olayın muhemel nedeni; konakçıya ait PrP dizisinin benzer olmamasıdır. Seri pasajlardan sonra, inkubasyon süresi kademeli olarak kısalmaya bu durum adaptasyon fenomeni olarak adlandırılmaktadır. Bazı durumlarda ise tür bariyeri o kadar güçlüdür ki, diğer türlere ait prionlarla inokulasyondan sonra herhangi bir klinik semptom görülmez. Ancak bu dirençli konakların beyin dokularından elde edilen izolatların duyarlı konakçılara bulaştırılması hastalığa neden olur. Aynı türe ait konakçılar arasında, orijinal izolatın

inokülasyonunu takiben, bazı bireylerde inkubasyon süresinin belirgin şekilde uzun olması, *PRNP* genindeki belirli polimorfizmlerden kaynaklanır ve bu olay “bulaşma bariyeri” olarak nitelendirilir (Aguzzi ve ark. 2007).

## 2.4 Prion Geni Ailesi ve Prion Geni

Prion gen ailesi, *PRNP*, *PRND*, *SPRN* ve *PRNT* olmak üzere dört üyeden oluşmaktadır. Bunlardan *PRNP*, prion hastalıkları ile ilişkili olan ve PrP<sup>SC</sup>,nin öncüsü PrP<sup>C</sup>,yi, *PRND*, testislere özel bir protein olan ve erkek üreme sisteminde bulunan Doppel proteinini ve *SPRN*, ekspresyonu Merkezi Sinir Sisteminde yapılan, yeni keşfedilmiş PrP<sup>C</sup> benzeri bir protein olan *Shadoo* proteinini kodlamaktadır. *PRNT*'nin ekspresyonu yalnızca erişkinlerin testis dokusunda bulunmaktadır. Prion proteinlerin kendi aralarındaki fonksiyonel ilişkileri ortaya koymak için yapılan çalışmalarda; Doppel proteinin beyin hücreleri için nörotoksik olduğu, geç dönemde ataksiye neden olduğu, bu yüzden PrP<sup>C</sup> veya Shadoo tarafından bloke ediliyor olabileceği yönünde bulgular elde edilmiştir (Moore ve ark. 1999, Silverman ve ark. 2000, Legnameve ark. 2002, Makrinou ve ark. 2002, Watts ve Westaway 2007)

Geniş biyoinformatik analizler sonucunda prion gen ailesi ile metal iyon transportunda görevli ZIP (Zrt-, Irt benzeri protein) ailesi arasında evrimsel bir bağlantı kurulmuştur (Ehsani ve ark. 2010).

### 2.4.1 Prion Geni-*PRNP*

*PRNP* geni insanlarda 20, farelerde 2 ve koyunlarda 13. kromozom üzerinde bulunur (Gama ve ark. 2006, Watts ve Westaway 2007). Koyun *PRNP* geni üç ekzon ve iki introndan oluşmaktadır. 768 baz çiftinden oluşan açık okuma bölgesi (Open Reading Frame-ORF) 3. ekzon üzerindedir ve 256 aminoasit kodlamaktadır (Tranulis 2002).

*PRNP*, ilk olarak, Basler ve ark. (1986) tarafından klonlanmıştır. Araştırmacılar, sağlıklı ve skrapie ile enfekte hayvanlarda PrP'nin aynı kromozomal gen tarafından kodlandığını göstermişlerdir. Büeler ve ark. (1992), farelerde *PRNP* genini homozigot olarak işlevsiz hale getirerek PrP knock-out (*PRNP*<sup>0/0</sup>) fareler üretmeyi başarmışlardır. Araştırmacılar, yedi ay boyunca gözlemledikleri bu farelerin gelişim ve davranışlarının normal olduğunu, her hangi bir immunolojik kusur göstermediklerini bildirmişlerdir. Bundan bir yıl sonra, Büeler'in de içinde bulunduğu bir başka ekip, *PRNP* knock-out farelere skrapie etkeni inoküle etmişler, kontrol grubu olan yabani genotipdeki farelerin tamamı altı ay içerisinde ölürken, *PRNP* knock-out farelerin 13 ay boyunca skrapie semptomu göstermediğini, şaşırtıcı şekilde, *PRNP*<sup>0/+</sup>

heterozigot farelerin de skrapie karşı direnç gösterdiğini bildirmişlerdir (Büeler ve ark. 1993).

Prion proteinlerin evrimsel korunmasını analiz etmek için, 20 toynaklı, 3 kemirgen, 3 karnivor, 1 deniz kenarında yaşayan memeli ve 9 kuş türü üzerinde yapılan araştırmalarda, memeli ve kuş türleri arasında aminoasit diziliminde yüksek derecede özdeşlik olduğu, ancak tam bir homoloji göstermediği, memeli ve kuş türleri 130 milyon yıldan beri farklı olarak evrimleşmesine rağmen, bu türler arasında çeşitli yapısal elementlerin korunduğu tespit edilmiştir (Wopfner ve ark. 1999).

Rongyan ve ark. (2008), *PRNP* geninde türler arasındaki evrimleşme ve farklılaşmayı incelemek için 83 türe ait 937 prion protein genini dizi analizi işlemine tabi tutmuşlardır. İncelenen türlerde *PRNP* geninin 567 ile 825 arasında baz çifti uzunluğunda olduğunu, bu durumunun temel nedeninin türler arasında bu gendeki tekrar bölgelerindeki insersion ve delesyondan kaynaklandığını, *Bos taurus*'un ortalama nükleotid farklılığı sayısı ve nükleotid çeşitliliği bakımından ruminantlar arasında en küçük varyasyona sahip olduğunu bildirmişlerdir.

İnsanlarda *PRNP* genindeki 102, 105, 117, 129, 178, 198, 200 ve 217. Kodonlarda meydana gelen bir bazı polimorfizmlerin insan TSE'lerine (Manetto ve ark. 1992, Ghetti ve ark. 1995, Parchi ve ark. 1998, Zerr ve Sigrud 2002, Collinge ve ark. 2006), koyun *PRNP* genindeki 136, 141, 154 ve 171. kodonlardaki polimorfizmlerin ise skrapie ve atipik skrapie hastalıklarının karşı genetik dirençle ilişkili olduğu (Laplanche ve ark. 1993, Clouscard ve ark. 1995, Hunter ve ark. 1997, Moum ark. 2005) bulunmuştur.

#### **2.4.2 *PRND-Doppel***

İnsanlarda 20. Kromozom üzerinde bulunan *PRND* geni, *PRNP* geninin, 5' →3' yönünde yaklaşık 20 kbp yakınında yer almaktadır. Yapısal ve biyokimyasal açıdan *PRNP* geni ile benzer özellikler taşıyan *PRND*, *Doppel* veya *Dpl* olarak adlandırılan membran bağlı bir glikoprotein kodlamaktadır. Ağırlıklı olarak testislerde bulunan *Doppel* proteini MSS'de bulunmamaktadır (Rognoni ve ark. 2010, Anonim 2011f).

Yabani tip *Dpl* ile PrP<sup>C</sup> arasında biyokimyasal ve yapısal bakımdan benzerlikler bulunmaktadır. *Dpl*, PrP<sup>C</sup>'de olduğu gibi α-sarmalı açısından zengin, intramoleküler disülfid bağlarıyla şekillenmiş ve glycosylphosphatidylinositol çapa ile hücre yüzeyine tutunmaktadır (Silverman 2000).

Mo ve ark. (2001), Prion benzeri protein olan *Doppel (Dpl)* ile hücrel prion protein olan PrP<sup>C</sup>'nin paralog (pseudogene) olduğunu, bu iki proteinin dizilerinin %25 civarında özdeş olmasına rağmen fizyolojik fonksiyonlarının farklı olduğunu, bu iki proteini sentezleyen genlerin muhtemelen aynı ata genden köken aldığını, ancak şu anda sadece yapısal olarak benzerlikleri olduğunu, fonksiyonlarında benzerliklerinin bulunmadığını ifade etmişlerdir.

Yapılan araştırmalarda; *PRND* geninde 174. kodondaki polimorizmin insanlarda CJD hastalığı ile ilişkisi olduğu(Schröder ve ark. 2001), *Dpl* proteinin akut myeloid leukaemia ve myelodisplastik sendrom (Travaglino ve ark. 2005) hastalıkları ile ilişkisi olduğu, MSS tümörlerinde tümörün kötü huylu tabiatını belirlediği (Comincini ve ark. 2004) yönünde bulgular elde edilmiştir.

Ayrıca *Dpl* proteininin, damar gelişiminde, özellikle de MSS'de kan-beyin bariyerinin olgunlaşmasında görevi olduğu (Li ve ark. 2000), ayrıca gametogenezis ve sperm-yumurta etkileşimlerinde rol oynayarak erkeklerde fertilitiyi düzenlediği (Behrens ve ark. 2002) şeklindegörüşler vardır

### 2.4.3 *SPRN*

İnsanlarda 10, farelerde 7. kromozom üzerinde bulunan *SPRN* geni, *PRNP* ve *PRND* genlerinin aksine Prion genomik lokusunda bulunmamaktadır (Watts ve Westaway 2007).

*SPRN*, Prion proteine çok benzeyen ve 130-150 aminoasit içeren ve shadoo (Japonca *shadow*-gölge) ismi verilen bir protein kodlayan, *PRNP* benzeri bir gendir. *SPRN* ilk olarak zebalarda tanımlanmış, daha sonra fare, rat ve insan gibi diğer memelilerde ve balıklarda tespit edilmiştir (Premzl ve ark. 2003, Uboldi ve ark. 2006, Premzl ve Gamulin 2007).

*SPRN* memeli türler arasında %81-96, balıklar ve memeliler arasında %54 oranında korunmuş bir gendir. Bu genin yüksek oranda korunmuş olması ve diğer yapısal özelliklerinin benzerliği nedeniyle PrP ve *Shadoo* proteinleri arasında fonksiyonel bir bağlantının varlığından söz edilmektedir (Premzl ve ark. 2003).

*Shadoo* proteinlerini, PrP benzeri sinir hücrelerini koruyucu aktivite gösterdiği (Lloyd ve ark. 2009), memeli embriyogenezinde kritik bir rolü olduğu (Young ve ark. 2009) ve *SPRN* geninde iki noktadaki polimorfizmin sporadik CJD hastalığı ile ilişkili olabileceği (Beck ve ark. 2008) bildirilmektedir

#### 2.4.4 *PRNT*

İnsanlarda, *PRND* geninin 5' →3' yönünde 3kb mesafede, *PRNT* olarak adlandırılan yeni bir gen tespit edilmiştir. Erişkinlerde testis dışında herhangi bir dokuda ekspresyonu bulunmayan bu genin, muhtemelen sertoli, leyding ve germ gibi testise ait hücre tiplerinde sınırlı kaldığı, fötusa ait testis dokusunda *PRNT* ekspresyonunun olmaması nedeniyle bu geninin fonksiyonunun pubertastan sonra, yani testis hücrelerinin sperma ve erkek seks hormonlarının üretimine aktif olarak katılmaya başladığı dönemde olduğu, *PRND* ve *PRNT* genlerinin ORF bölgeleri karşılaştırıldığında, *PRNT*'nin evrimsel olarak PrP'den ziyade *Dopple* genine daha yakın olduğu bildirilmiştir (Makrinou ve ark. 2002).

Choi ve ark. (2006), sığırlarda *PRNT* lokusunun bulunmadığını, bu genin insanlarda ve bazı primatlarda korunduğunu, Premzl ve Gamulin (2007), *SPRN* ve *PRNP* homologlarının tüm omurgalılarda bulunurken *PRND*'nin tetrapotlarda ve *PRNT*'nin ise primatlarda bulunduğu rapor etmişler,

## 2.5 Prion Hastalıkları

İnsan ve hayvanlardaki Prion hastalıkları ile ilk rapor edildiği tarihler çizelge 2.2’de gösterilmiştir (MacKnight 2001).

Çizelge 2.2 İnsan ve hayvanlarda görülen prion hastalıkları ve ilk rapor edildiği tarihler

<b>Hayvanların Prion Hastalıkları</b>	<b>İlk Rapor Edildiği Yıl</b>
Skrapi	1730
Bulaşıcı mink ensefalopatisi	1965
Elk'lerin kronik zayıflama hastalığı	1980
Sığırların süngerimsi ensefalopatisi (BSE)	1987
Ekzotik toynaklı hayvanlarında süngerimsi ensefalopati	1988
Kedilerin süngerims ensefalopatisi	1990
Esaret altındaki primatlarda süngerimsi ensefalopati	1996
<b>İnsanların Prion Hastalıkları</b>	<b>İlk Rapor Edildiği Yıl</b>
Creutzfeldt-Jacob hastalığı (CJD)	1920
Gerstmann-Straussler-Scheinker sendromu (GSS)	1928
Kuru	1957
Öldürücü ailesel	1986
Varyant Creutzfeldt-Jakob hastalığı (vCJD)	1996
Sporadik ailesel uykusuzluk	1999

## 2.6 İnsanların Prion Hastalıkları

İnsan prion hastalıklarına neden olan PrP<sup>SC</sup>, nin iki belirgin tipi vardır. Tip 1 ve Tip 2 PrP<sup>SC</sup> olarak adlandırılan patojenik prionlar, proteinaz-K’ya dirençli fragmentlerinin farklı elektroforetik hareket özellikleri ile birbirlerinden ayırt edilebilirler (Parchi ve ark. 2000).

Yapılan son araştırmalara göre; PrP genotipi ve PrP<sup>SC</sup> tipi, hem sporadik hem de ailesel prion hastalıklarında hastalık fenotipini belirleyen en büyük iki etkidir. Alzheimer's, Huntington's, Chorea ve Parkinson's hastalıkları gibi konformasyonel hastalıkların patolojik özellikleri oldukça homojen olmasına karşın, prion hastalıkları geniş bir histopatolojik spektruma sahiptir. Bu durumun nedenlerinden birisi, diğer konformasyonel hastalıklarının aksine, prion hastalıklarının enfeksiyöz nitelikte olmalarıdır. Enfeksiyonun organizmaya giriş yolu veya enfeksiyöz prionun orjinine bağlı olarak, ortaya çıkan hastalığın formu diğerlerinden oldukça farklı olabilmektedir. İatrojenik CJD ile varyant CJD hastalıklarının



birbirlerinden oldukça farklı patolojik özelliklere sahip olması bu duruma en iyi örnektir. Genetik olarak farklı ve çoğu kez hastalık fenotipi ile ilişkili çok sayıda mutasyon olması ve sporadik formdaki prion hastalıklarının yüksek derecede fenotipik heterojeniteye sahip olması diğer nedenler arasında sayılmaktadır (Gambetti ve ark. 2003).

### 2.6.1 Kuru

Kuru, Gajdusek ve Zigas isimli araştırmacılar tarafından rapor edilen, insanların ilk nörodejeneratif hastalığıdır (Liberski ve Gajdusek 1997). Hastalık ismini, yerel dilde korkudan ya da soğuktan titreme anlamına gelen “kuru” kelimesinden almıştır (Beck ve Daniel 1969).

Kuru, başlangıçta slow virus enfeksiyonu olarak kabul edilen, herhangi bir yangısal belirti göstermeksizin yıllar süren inkübasyon periyodundan sonra klinik olarak ortaya çıkan, progresiv akümülyasyona neden olan bir hastalıktır. Ekstremitelerde inkoordinasyon, konuşma bozukluğu ve titreme gibi sinirsel semptomlarla seyreden ve klinik semptomların görülmesinden sonra 6-24 ay içerisinde ölümlle sonuçlanan Kuru, insanların ilk kronik nörodejeneratif hastalığı olarak tanımlanmıştır (Goldfarb ve ark. 2004, Anonim 2011b).

Kuru, Papua Yeni Gine'nin doğusunda, yüksek bölgelerde yaşayan kabilelerde görülmektedir. Bu kabilelerde, cenaze törenlerinde, ölünün akrabaları tarafından, saygı ve kederin bir göstergesi olarak cesedin yenilmesi şeklinde bir gelenek bulunuyordu. Ritüel yamyamlık sonucu ortaya çıktığı düşünülen bu hastalıkla ilgili yapılan ilk araştırmalarda, 1957-1961 yıllarını kapsayan beş yıllık sürede yaklaşık 1000 kişinin kuru hastalığından öldüğü rapor edilmiştir. Hadlow, 1959 yılında kuru ve skrapi arasındaki nöropatolojik benzerliğe işaret ederek bu iki hastalığın bağlantılı olabileceğini, kuru hastalığının skrapi gibi bulaşıcı bir hastalık olabileceğini rapor etmiştir. 1967 yılında, kurunun cesetlerin yenmesi ile oral yolla bulaşan bir TSE olduğu keşfedilmiştir. İlkel kabilelerdeki ritüel yamyamlığın 1950'lerde yasaklanması sonucunda hastalığın epidemisinde azalma görülmüş, ancak 50 yıl gibi çok uzun bir inkübasyon periyoduna sahip olması nedeniyle hastalık 21.yüzyıla kadar taşınmıştır (Alpers 2008, Hadlow 1995, Hadlow 2008, Wadsworth ve ark. 2008).

Collinge ve ark. (2006), 1996-2004 yılları arasında Yeni Gine'de yaşayan ve yamyamlık ritüellerinin yasaklanmasından önce doğmuş olan 11 kabile üyesinde kuru teşhis etmişlerdir. Hastalığın inkübasyon süresini 39 ile 56 yıl arasında hesaplayan araştırmacılar, *PRNP* analizi sonucunda; hastaların çoğunun, kodon 129 yönünden heterozigot olduğunu, bu durumun hastalığın inkübasyon süresinin uzamasına neden olduğunu bildirmişlerdir.

Hasta kişilerin çoğunun akraba olması nedeni ile, önceden beri, kurunun genetik bir hastalık olduğu yönünde şüpheler bulunmaktaydı (Beck ve Daniel 1969). Yapılan son araştırmalarda, *PRNP* geni, 129. kodonda Metiyonin homozigot bireylerin kuru hastalığına karşı daha duyarlı olduğu, 129 Metiyonin/Valin ve 129 Valin/Valin taşıyan bireylerde ise inkubasyon periyodunun daha uzun olduğu ve klinik semptomların daha ileriki yaşlarda ortaya çıktığı gösterilmiştir (Goldfarb ve ark. 2004).

Gajdusek (1966), kurulu beyin materyalini şempanzelere inokule ederek deneysel enfeksiyon oluşturmayı başarmış ve kurunun bulaşabilirliğini göstermiştir (Prusiner 1999).

Wadsworth ve ark. (2008), insan PrP'si sentezleyen transgenik fareler ve kontrol grubu wild-type fareler üzerinde, kuru'ya neden olan prionlar ile sporadik, iatrojenik ve varyan CJD prionlarının bulaşma özelliklerini karşılaştırmışlar; elde edilen moleküler ve nöropatolojik verilerin, kuru prionunun vCJD prionundan farklı, ancak bulaşma özellikleri bakımından sporadik CJD ile aynı olduğunu bildirmişler, bu sonuçların kuru hastalığının ilk olarak, şans eseri sporadik CJD taşıyan bir cesedin kabile üyeleri tarafından tüketilmesiyle ortaya çıkmış olabileceğini rapor etmişlerdir.

### **2.6.2 Creutzfeldt Jakob hastalığı (CJD)**

May (1968)'in bildirdiğine göre; Creutzfeldt-Jakob (CJD) hastalığı, ilk olarak 1920 yılında Hans Gerhard Creutzfeldt ve hemen ertesini yıl Alfons Maria Jakob tarafından rapor edilmiş, 1923 yılında Jakob, gözlemlediği 8 vakaya dayanarak hastalığın klinik belirtilerini tarif etmiştir. Uzun yıllar boyunca bu hastalık, erken bunamanın bir formu olarak değerlendirilmiştir.

1922 yılında, Spielmeyer isimli araştırmacı, Creutzfeldt ve Jakob'un tarif ettiği, hızlı gelişen kas spazmları, ataksi ve bunama gibi belirtiler görülen bu nörolojik hastalığı "Creutzfeldt-Jakob disease" (CJD) olarak tanımlamıştır. 1950'li yıllarda Avustralya hükümetinin Papua Yeni Gine'nin yüksek kesimlerini keşfetmeye başlaması, bu bölgeye yapılan gezilerde, bölgede yaşayan kabilelerde "kuru" hastalığının keşfedilmesine neden olmuştur. Daha önceden bilinmeyen bu hastalık araştırmacıların dikkatini çekmiş, araştırmacılar bu hastalığın muhtemel çevresel ve genetik nedenlerini araştırmaya koyulmuşlardır. İlerleyen çalışmalarda kuru'nun bulaşıcı bir hastalık olduğu ve koyunlarda görülen skrapie ve insanlarda görülen CJD hastalıkları ile aynı patolojik bozukluklara neden olduğu bulunmuştur. TSE'lerin enfeksiyöz bir etiyolojiye sahip olduğu şeklindeki bu çok önemli buluş, 1970 yılında Dr. Carleton Gajdusek'e Nobel Tıp Ödülü kazandırmıştır (McKintosh ve ark. 2003).

İnsanlarda en çok görülen TSE, Creutzfeldt-Jakob hastalığıdır (CJD). Hastalığın; sporadik (sCJD), ailesel (fCJD), iatrojenik (iCJD) ve varyant (vCJD) olmak üzere dört formu bulunmaktadır (Glatzel ve ark. 2003).

#### **2.6.2.1 Sporadik Creutzfeldt Jakob hastalığı (sCJD)**

CJD vakalarının çoğu sporadik formda ortaya çıkmaktadır. sCJD, *PRNP* geninde kendiliğinden meydana gelen somatik mutasyon ya da PrP proteinindeki yapısal değişiklik sonucu meydana gelen nörodejeneratif bir hastalıktır. Hastalıkta klinik olarak, hızlı gelişen bunama, beyin hasarına bağlı kas hareketlerinde bozukluk ve en karakteristik olarak kas spazmları görülmektedir. Dünya genelinde, ortalama olarak yılda her milyon kişiden birinde bu hastalık teşhis edilmektedir. İngiliz halkı üzerine yapılan araştırmalara göre, sCJD hastalarının %68'inin kodon 129'da Metiyonin/Metiyonin homozigot, %16'sının Metiyonin/Valin heterozigot ve %16'sının Valin/Valin homozigot olduğu tespit edilmiştir. *PRNP* geni kodon 129'da homozigot Metiyonin varlığının sCJD için açıkça risk faktörü olduğu bildirilmiştir (Knight ve Wil 2004).

#### **2.6.2.2 İatrojenik Creutzfeldt Jakob hastalığı (iCJD)**

İatrojenik CJD, TSE taşıyan ancak teşhis edilmemiş kadavralardan elde edilen dokuların transplantasyonu veya bu kadavralardan elde edilen hormonların tedavi amaçlı insanlara verilmesi yoluyla bulaşmaktadır (Glatzel ve ark.2003).

İnsan hipofiz bezinden elde edilen büyüme hormonun, büyüme geriliği olan çocuklarda kullanımı 1950'li yıllarda başlamış ve 1985 yılına kadar dünya çapında yaklaşık 30000 kadar çocuğa bu hormon uygulanmıştır. Bu süre zarfında daha az sayıda da olsa, infertilite problemi olan kadınlarda, yine hipofizden elde edilen gonadotropin hormonu kullanılmıştır. 1985 yılında, ABD'de ve İngiltere'de tespit edilen 3 CJD vakasında hastaların daha önceki yıllarda büyüme hormonu almış olduğu anlaşılmış, ayrıca bu hastaların genç yaşta olmaları ile birlikte değerlendirilerek, CJD'nin büyüme hormonu ile bulaşmasının mümkün olabileceği yönünde güçlü kanıtlar elde edilmiştir. Sonraki yıllarda çeşitli ülkelerde, büyüme hormonu ile bağlantılı çok sayıda CJD vakası tespit edilmiş, bunun sonucu olarak da insan büyüme hormonu kullanımı uygulamadan kaldırılmıştır (Powell-Jackson ve ark. 1985, Cochius ve ark. 1990, Cochius ve ark. 1992, Will 2003).

İngiltere'de 1991 yılına kadar, prionla kontamine olduğundan şüphelenilen büyüme hormonu uygulanmış 1908 kişiden 6'sında CJD hastalığı ortaya çıkmıştır. Bu hastalarda *PRNP* geni analiz edildiğinde 4 hastanın 129. Kodonda Valin homozigot olduğu tespit

edilmiştir (Collinge ve ark. 1991). 2003 yılına kadar tespit edilen iCJD vakaları ve bulaşma yolları şekil 2.3'te gösterilmiştir (Will 2003).

Çizelge 2.3 2003 yılına kadar dünya genelinde görülen İatrojenik CJD vakaları

Bulaşma Şekli	Vaka Sayısı (n)	Ortalama İnkubasyon Süresi (yıl)
Sinir Cerrahisi	4	1.6
Derin Elektrod	2	1.5
Korneal Transplant	3	15.5
Dura mater	136	6.0
İnsan büyüme hormonu	162	12.0
İnsan gonadotropini	5	13.0

### 2.6.2.3 Ailesel Creutzfeldt Jakob hastalığı (fCJD)

Ailesel Creutzfeldt-Jakob, Gerstmann-Sträussler-Scheinker, Öldürücü ailesel uykusuzluk gibi Ailesel prion hastalıkları, genellikle, *PRNP* genindeki nokta mutasyonu sonucu, hücrel prion proteinlerin primer dizisi ve konformasyonunda değişikliklere neden olan, erişkinlerin kalıtsal hastalıklarıdır. Mutasyona uğramış PrP bazı durumlarda deneysel olarak insanlardan hayvanlara bulaştırılabilmektedir. PrP'de oluşan tüm mutasyonlar sinir hücreleri için toksik etkiye sahip olmakla birlikte, bunlardan yalnızca bazıları bulaşabilir niteliktedir (Prusiner ve ark. 1994, Warter 2001).

Zerr ve Sigrid (2002), *PRNP* geni 200. kodonda glutamik asit yerine lizin sentezine neden olan mutasyon taşıyan hastalarda, hastalığın klinik özelliklerinin sporadik CJD'ye benzediğini, ancak klinik semptomların sporadik CJD'den daha erken ortaya çıktığını bildirmişlerdir. Dünya çapında bu mutasyona sahip hastalar teşhis edilmiş, ilk hastalık bildirimleri; Slovakya, Libya ve İsrail'den gelmiştir.

Goldfarb ve ark. (1991), Slovakya, Polonya, Almanya, Tunus, Libya ve Şili kökenli ve CJD hastalığına yakalanmış bireylerde yaptıkları çalışmalarda; *PRNP* geninde 200. kodondaki Lizin mutasyonunun fCJD ile doğrudan ilişkisi olduğunu rapor etmişlerdir.

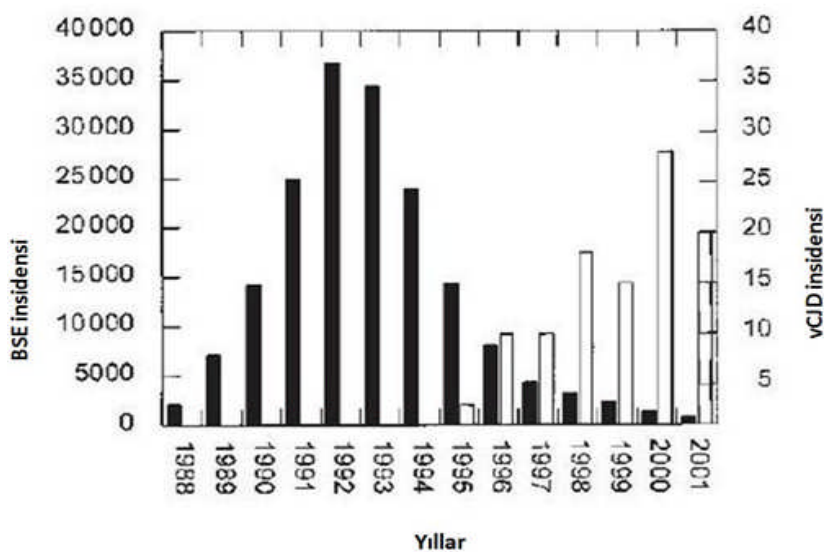
Colin ve ark. (1979), yaptıkları deneysel enfeksiyon çalışmalarında; CJD etkeninin insan dışı primatlarda hastalık oluşturabileceğini göstermişlerdir.

### 2.6.3 Varyant Creutzfeldt Jakob hastalığı (vCJD)

İngiltere’de sığırlarda ortaya çıkan BSE salgınından sonra, CJD hastalığının oluşumunda, BSE epidemisi ile ilgili olabilecek herhangi bir değişim olup olmadığını tespit etmek için 1990 yılında bir çalışma başlatılmıştır. Araştırmacılar bu çalışmada, hastalık semptomları ilk olarak 1994 ve 1995 yıllarında başlamış olan, klinik seyri ve elektroensefalogram özellikleri sporadik CJD’den farklı, daha çok genç insanları etkilemiş ve nöropatolojik bulguları açısından daha önce rapor edilmemiş on vakaya rastlamışlardır. Aynı tarihlerde, Fransa, Almanya, İtalya ve Hollanda’da benzer izleme programları oluşturulmuş ancak bu ülkelerde İngiltere’de olduğu gibi atipik CJD olgularına rastlanmamıştır. Araştırmacılar; tespit edilen bu vakaların CJD’nin yeni bir varyantı (vCJD) ve büyük bir olasılıkla BSE salgını ile ilişkili olduğunu rapor etmişlerdir (Will ve ark. 1996).

Kısa bir süre sonra, Bruce ve ark. (1997), BSE’li sığırlardan elde ettikleri prionlarla farelerde deneysel enfeksiyon oluşturmuşlar, oluşan enfeksiyonun kendine özgü karakteristikleri olduğunu ve diğer türlerde yaptıkları deneysel pasajlarda bu karakteristiklerin korunduğunu tespit etmişlerdir. Araştırmacılar, elde ettikleri araştırma bulgularının, vCJD ve BSE’ nin aynı prion türü tarafından oluşturulduğu yönünde önemli kanıtlar sağladığını rapor etmişlerdir.

Şekil 2.2’de yıllara göre BSE ve vCJD görülüş sıklığı arasındaki ilişki gösterilmiştir (Trevitt ve Singh 2003).



Şekil 2.2 Yıllara göre BSE ve vCJD görülüş sıklığı arasındaki ilişki.

2003 yılı itibariyle dünya genelinde İngiltere’de 135, Fransa’da 6, İrlanda’da 1, İtalya’da 1, ABD’de 1 ve Kanada’da 1 olmak üzere toplam 145 adet vCJD vakası rapor edilmiş, bu vakaların çoğunluğu 2000 yılında teşhis edilmiştir (Will 2003).

BSE’nin farklı hayvan türlerine bulaşabilirliğinin gösterilmesi, dünya çapında halk sağlığı ile ilgili büyük bir kaygı yaratmıştır. Hastalığın biyolojisi ve epidemiyolojisinde, örneğin inkubasyon periyodunun uzunluğu gibi bazı bilinmezlikler nedeniyle, potansiyel vCJD salgınının büyüklüğünü kestirmek henüz mümkün olmasa da, özellikle İngiltere’de BSE ile enfekte materyalin yoğun bir şekilde besin zincirine girmesi halk sağlığı açısından ciddi bir tehdit olarak değerlendirilmiştir (Ghani 2002, Trevitt ve Singh 2003).

vCJD ile sCJD arasında bazı belirgin farklılıklar bulunmaktadır. Bu farkları sıralamak gerekirse; vCJD daha genç yaşlarda görülür (ortalama 29 yaş) ve klinik seyri daha uzundur (9-35 ay). vCJD’de TSE’lere özgü genel nöropatolojik değişiklikler görülmekle birlikte, amyloid plak birimi daha fazladır. Ayrıca bu hastalıkta PrP<sup>SC</sup>, MSS yanı sıra lenforetiküler sistem de dahil olmak üzere dokularda daha geniş dağılım göstermektedir. sCJD’nin dünya genelinde dağılımı uniformdur ve skrapı insidensi ile bağlantılı değildir. Bunun yanında vCJD yalnızca sığırlarda BSE rapor edilmiş ülkelerde görülmektedir (Trevitt ve Singh 2003). İngiltere’de görülen vCJD vakalarının tamamında, *PRNP* geni kodon 129’da Metiyonin homozigot olduğu görülmüştür (Will 2003, Knight ve Will 2004).

İspanya’da, 1996-1997 yıllarında, bir teşhis yöntemi olan akciğer sintigrafisi işlemi için uygulanan ve İngiltere menşeyli bir ilacın, 1997 yılı sonlarında vCJD hastalığından ölmüş bir İngiliz vericiden elde edilen albuminden üretildiğinin gazetelerde yer bulması bu ülkede kaosa neden olmuştur (Bosch 2001).

CJD, kuru ve skrapı gibi önceden beri bilinen TSE’lerin yanı sıra, son yıllarda, Afrika’ya özgü ruminantlar olan nyala ve gemsbok’larda (Jeffrey ve Wells 1988), Arap yarımadası menşeyli antiloplarından oryx ve kudularda (Kirkwood ve ark. 1990) ve evcil kedilerde (Wyat ve ark. 1991) yeni TSE vakaları bildirilmiştir.

Collinge ve ark. (1996), vCJD etkeni olan prion türünün karakteristik özelliklerinin, diğer CJD tiplerine neden olan prionlardan farklı olduğunu, buna karşılık BSE’nin deneysel olarak bulaştırıldığı fareler, evcil kediler ve maymunlardakine benzer özellikler gösterdiğini bildirerek, son yıllarda tespit edilen TSE’lerin muhtemelen BSE’den orijin aldığını rapor etmişlerdir.

## 2.6.4 Öldürücü ailesel uykusuzluk (Fatal Familial Insomnia-FFI)

Medori ve ark. (1992), 1986 yılında, tedavi edilemeyen, uykusuzluk, istemli hareketlerde düzensizlik gibi klinik belirtiler gösteren ve patolojik olarak talamus çekirdeklerinde selektif atropi ile karakterize iki vaka rapor etmişler, hastalığı “Fatal familial insomnia” (öldürücü ailesel uykusuzluk ) olarak isimlendirmişlerdir.

Araştırmacılar daha sonraki çalışmalarında beş yeni vaka daha tespit ederek klinik ve patolojik yönden incelemişler, hastalığın başlama yaşının 37-61 arasında değiştiğini, ortalama 13 ay sürdüğünü, ilerleyen uykusuzluk, aşırı terleme, kas spazmı gibi belirtilerle seyrettiğini tespit etmişler, hastalığın otozomal dominant kalıtımla uyumlu olduğunu, muhtemelen bir prion hastalığı ya da bilinmeyen bir ajan tarafından oluşturulduğunu bildirmişlerdir. Yapılan araştırmalarda, Öldürücü ailesel uykusuzluk hastalığının *PRNP* geninde 178. kodonda bir mutasyonla ilişkisi olduğu tespit edilmiş, ayrıca hastalara ait beyin dokusu örneklerinde proteaza dirençli PrP izoformlarına rastlanmıştır. Bu bulgulara dayanarak, hastalığın genetik olarak belirlenen bir prion hastalığı olduğu bildirilmiştir (Manetto ve ark. 1992).

## 2.6.5 Gerstmann-Straussler sendromu (GSS)

Gerstmann-Straussler sendromu, vertikal yolla anadan yavruya bulaşabilen, ayrıca intraserebral inokülasyon yolu ile insan dışındaki primatlara ve rodentlere deneysel olarak bulaşabilirliği kanıtlanmış, nadir görülen ve nörodejenerasyona neden olan ailesel bir hastalıktır. Hastalığın görülüş sıklığı kesin olarak bilinmemekle birlikte, her yüzmilyon kişide 1 ile 10 arasında olduğu tahmin edilmektedir. İki ayrı pedigrinde yapılan araştırmalarda; *PRNP* geninde 102. kodondaki lösin→prolin amino asit değişiminin hastalığın gelişmesine öncülük ettiği, her ne kadar hastalığın enfeksiyöz özelliği gösterilmiş olsa da, aslen kalıtsal bir hastalık olduğu bildirilmiştir (Hsiao ve ark. 1989).

102. kodondaki mutasyonun yanı sıra, prion protein geninin açık okuma bölgesinde, 105, 117, 145, 198 ve 217. kodonlardaki polimorfizmler ve 51 ile 91. kodonlar arasındaki insersiyon mutasyonu da GSS ile ilişkili bulunmuştur. Mutasyonun hangi kodon veya kodonlarda olduğu hastalığın nöropatolojik karakterini belirlemektedir. 102. kodondaki mutasyonda, nöropatolojik olarak amyloidosis ve şiddetli spongiform dejenerasyon görülürken, 145, 198 ve 217. kodonlardaki mutasyonlar nörofibriler nitelikte dejenerasyonlara neden olmaktadır (Ghetti, ve ark. 1995, Parchi ve ark. 1998).

## **2.6.6 Alper hastalığı**

Alpers' sendromu, insan prion hastalıklarının, bebek ve küçük çocuklarda görülen formu olarak tarif edilen, otozomal resesif bir hastalıktır (Anonim 2011c, Anonim 2011d).

Bu hastalık ilk olarak, Alfons Maria Jakob tarafından fark edilmiş ve araştırmacının öğrencilerinden Souza, Freedom ve Alper tarafından yayınlanmıştır. Blackwood, 1963 yılında, bu hastalığı "Alpers' hastalığı" olarak tanımlamıştır (Blackwood ve ark. 1963, Anonim 2011e).

## **2.7 Hayvanların Prion Hastalıkları**

### **2.7.1 Kronik zayıflama hastalığı (Chronic Wasting Disease -CWD)**

CWD hastalığı geyiklerde görülen, skrapı benzeri bir TSE hastalığıdır. Skrapı ve BSE'den farklı olarak evcil olmayan hayvanlarda görülmektedir. Hastalığın klinik seyri ve lezyonları diğer TSE hastalıklarındakiler ile benzer şekildedir. Deneysel olarak, intaserebral yolla sığır koyun ve keçilere bulaştırılmış olmasına rağmen, CWD etkeninin oral olarak bu türlere bulaşabileceği konusunda kanıt bulunmamaktadır (Williams 2005).

### **2.7.2 Minklerin bulaşıcı beyin dejenerasyonu**

Skrapı ile bulaşıcı mink ensefalopatisi arasındaki klinik ve patolojik benzerlikler ve hastalık etkeninin fizikokimyasal özellikleri bakımından skrapiden ayırd edilememesi nedeni ile hastalığın kaynağının skrapı ile enfekte koyunlar olduğu düşünülmeye rağmen, deneysel olarak skrapı ile oral bulaşıma çabaları başarısız olmuştur (Marsh ve Hadlow 1992).

Bulaşıcı mink ensefalopatisi, kesin orjini bilinmeyen, gıdaların ruminant TSE'leri ile kontaminasyonu sonucu bulaştığı düşünülen minklerin bir TSE hastalığıdır. İlk olarak 1947 yılında, Kuzey Amerika'da görülmüş, 1947-1985 yılları arasında altı defa salgın yapmıştır (Baron ve ark. 2007).

### **2.7.3 Sığırları süngerimsi beyin dejenerasyonu-(Bovine Spongiform Encephalopathy BSE)**

BSE hastalığı ilk olarak 1986 yılında İngiltere'de teşhis edilmiş, 1997 yılı mayıs ayına kadar, 167000'den fazla vaka rapor edilmiştir (Ferguson ve ark. 1997).

Bir taraftan BSE hastalığının salgın hale gelmesi, diğer taraftan insanlarda teşhis edilen CJD'nin yeni formunun sığırlardaki BSE ile ilişkilendirilmesi, Avrupa ülkelerinde, tarım endüstrisi ve halk sağlığı yönünden ciddi etkiler yaratmıştır (Ferguson ve ark. 1997).



1970'li yıllarda, hayvansal yağ ve et-kemik unu üretimine rendering ürünlerinin girmesine izin verilmemekte, ayrıca hayvansal yağ üretiminde organik solvent kullanılmaktaydı. Daha sonra, hem yüksek enerji maliyetleri hem de işçi güvenliği gerekçeleri ile bu prosedür modifiye edilmiştir. Hastalığın epidemiyolojisi konusunda yaygın görüş; 1970'lerin sonu ve 1980'lerin başlarında, skrapı ile enfekte koyun dokularının rendering işleminden geçtikten sonra et-kemik unu üretimine dahil olduğu, organik solvent kullanımının terk edilmesi ile kontamine dokulardaki prionların canlılığının devam ettiği, bu yolla enfeksiyona maruz kalan sığırların yine aynı şekilde rendering sürecine dahil olması ile enfeksiyonun yayıldığı yönündedir. BSE' salgınının orijini ile ilgili diğer hipotezlerden biri, çok nadir olmakla birlikte sığırlarda BSE hastalığının önceden beri var olduğu, bu hastalıktan ölen sığırların rendering sürecine dahil olması ile birlikte hastalığın yayıldığı, bir başka hipotez ise insanlardaki sporadik CJD'de olduğu gibi sığırlarda da önceden beri sporadik seyirli bir atipik BSE hastalığı olduğu (BASE), bu hastalığı taşıyan havanların rendering sürecine girmesiyle hastalığın salgın hale geldiği şeklindedir (Nathanson ve ark. 1997, MacKnight 2001, Capobianco ve ark. 2007).

Torres ve ark. (2011), atipik BSE (BASE)'nin moleküler ve nöropatolojik özelliklerini analiz etmek için beş farklı atipik BSE izolatını sığır Prion proteini sentezleyen transgenik farelere inoküle etmişler, beklenmedik biçimde, bazı farelerdeki etkenin klasik BSE ajanına çok benzeyen özellikler kazandığını tespit etmişlerdir. Araştırmacılar, atipik sığır prionunun, klasik BSE ajanı benzeri özellikler kazanabileceğini, bu bulguların, BSE ajanının, atipik BSE taşıyıcısı bir sığır prionlarından köken aldığı yönündeki görüşleri desteklediğini rapor etmişlerdir.

1988 yılında, İngiltere'de rendering ürünlerinin ruminant beslemede kullanılması yasaklanmıştır. Yasaklamadan beş yıl sonra, hastalığın yaklaşık beş yıl olan inkubasyon periyoduna uygun olarak, BSE vakaları azalmaya başlamıştır (Nathanson ve ark. 1997).

Asante ve ark. (2002), insan PrP'si sentezleyen ve 129. kodonda Metiyonin homozigot olan transgenik farelere BSE ve vCJD prionları inoküle etmişler, BSE ajanı inoküle edilen farelerde vCJD benzeri fenotipler çıkması yanında, şaşırtıcı şekilde, vCJD'den farklı, ancak sporadik CJD'den ayırt edilemeyen fenotiplerin de görüldüğünü, birden fazla BSE kaynaklı prion türünün insanları enfekte edebileceğini, hatta sCJD taşıdığı düşünülen bazı hastaların, BSE salgınında bu enfeksiyona yakalanmış olabileceğini rapor etmişlerdir.

Bhakdi ve Bohl'un (2003)'un bildirdiğine göre, Anderson ve ark. (1996), yaptıkları epidemiyolojik çalışmalarda, İngiltere'de çalışmanın yapıldığı yıla kadar tahminen 750000

BSE'li sığırın gıda zincirine dahil olduğu ve milyonlarca insanın BSE ile kontamine etleri tükettiğini rapor etmişlerdir.

BSE hastalığı ilk olarak İngiltere'de tespit edilmiş olsa da, sonraki yıllarda İsrail, Japonya, Polonya, Slovenya ve İspanya gibi ülkelerde de bu hastalığa rastlanmış, BSE'nin dünya çapında başlangıçta tahmin edilenden daha yoğun bir görülüş sıklığına sahip olduğu ortaya çıkmıştır (Donnelly ve ark. 2002).

Foster ve Hope (1993), BSE ile enfekte sığırların beyin homojenatlarını, intraserebral ve oral yollarla Cheviot koyunlarına ve Anglo-Nubian ırkı keçilere inokule ederek BSE'nini deneysel olarak koyun ve keçilere bulaştırılabileceğini göstermişlerdir.

BSE ile enfekte edilmiş koyunlardaki hastalık belirtileri skrapie ile oldukça benzerlik göstermektedir. Skrapie, İngiltere'de 200 yıldan fazladır görülen bir hastalık olmasına rağmen, şimdiye kadar bu ülkede koyunlarda BSE tespit edilememiştir. Koyunlarda BSE'nin tespit edilememesinin muhtemel nedeninin, bu hayvanlarda BSE ile skrapinin ayrımındaki güçlüklerden kaynaklandığını ve BSE'nin koyunlarda yanlışlıkla skrapie olarak teşhis edildiğini düşünen araştırmacılar, İngiltere'de BSE salgınından önce, BSE salgını sırasında ve sonrasında skrapie görülüş sıklığını karşılaştırmışlar, BSE salgını ile skrapie görülüş sıklığı arasında bir ilişkinin bulunmadığını rapor etmişlerdir (Gravenor ve ark. 2000).

#### **2.7.4 Sığırların amyloiditik süngerimsi beyin dejenerasyonu-**

##### **(Bovine Amyloidotic Spongiform Encephalopathy-BASE)**

Uzun süre boyunca, sığırlarda BSE hastalığına neden olan prionun, birden fazla türünün olup olmadığı veya BSE ajanının doğal bulaşmadan sonra fenotipik varyasyona uğrayıp uğramadığı konusu bilinmezliğini korumuştur. Casalone ve ark. (2004), yaptıkları araştırmada, sığırlarda beyindeki PrP<sup>SC</sup>'nin bölgesel dağılımı ve topolojisi klasik BSE'den farklılık gösteren, Western blot analizlerinde, düşük moleküler kütleli glikofomların yoğunlukta ve proteaza dirençli fragmentleri düşük moleküler kütleyle sahip olan ikinci bir BSE ajanı tespit etmişlerdir. Araştırmacılar, bu yeni keşfettikleri BSE ajanının, insanlardaki sporadik CJD hastalığı etkeni ile moleküler anlamda oldukça benzer olduğunu, BSE'nin doğal ya da deneysel olarak diğer türlere bulaşması ile oluşan/oluşturulan enfeksiyonlarda, PrP-pozitif amyloid birikimi şeklinde nöropatolojik değişiklikler olmasına rağmen, BSE'li sığırlarda PrP-pozitif amyloid plak oluşmadığını, ancak tespit edilen bu yeni tür prionun beyinde PrP pozitif amyloid plaklar oluşturduğunu bildirmişler ve bu hastalığın adını;

“Bovine Amyloidotic Spongiform Encephalopathy” (BASE) olarak önermişlerdir (Casalone ve ark.2004).

ABD’de ilki 2003 ve ikincisi 2004 yıllarında olmak üzere iki BSE vakası tespit edilmiş, ilk vakada BSE için karakteristik patolojik değişiklikler görülürken, ikinci vakaya neden olan PrP<sup>Sc</sup> nin, klasik BSE etkeninde daha yüksek moleküler ağırlığa sahip olduğu gösterilmiştir (Richt ve ark. 2007).

BSE hastalığı, hastalık etkeni beyin dokusunu istila ettikten sonra teşhis edilebildiğinden, Avrupa ülkeleri, tüketicileri bu hastalıktan korumak için, mezbahalarda kesilen hayvanların beyin dokularını BSE yönünden inceleyerek rutin bir izleme programı uygulamaktadır. Bu izleme programı sayesinde şimdiye kadar bilinmeyen, BSE ve BSE bağlantılı hastalıklara neden olan prionlardan farklı bir PrP konformasyonu keşfedilmiştir. Araştırmacılar, “H-Type” olarak isimlendirilen bu yeni konformasyonun kesin etiyolojisini belirlemek için, sığır veya koyun PrP’si taşıyan transgenik farelere bulaşabilirliğini test etmişler, bu konformasyonun transgenik farelerde oldukça patojenik olduğunu göstermişlerdir. Araştırmacılar, bu ajanın, BSE inoküle edilen aynı farelerde görülenden farklı olarak, türe spesifik özellikler sergilediğini, bu özelliklerin yapılan pasajlarda da korunduğunu, dahası, bu konformasyonun, koyun PrP’si taşıyan transgenik farelerde pasajlanan tüm skrapı izolatlarından farklı olduğunu, bu bulgular ışığında; sığırlarda çeşitli prion türlerinin bulunabileceğini ya da BSE ajanının bazı hayvanlarda evrim geçiriyor olabileceğini belirtmişlerdir (Béringue ve ark. 2006).

Avrupa ülkelerinde yapılan geniş çaplı BSE tarama programlarında, atipik BSE ‘lerle ilgili elde edilen yeni bulgular ışığında; atipik BSE olguları iki gruba ayrılmıştır. Birincisi; proteaza dirençli fragmentlerinin moleküler ağırlığı klasik BSE’den yüksek olan H-type, ikincisi ise, Bovine Amyloidotic Spongiform Encephalopathy (BASE), diğer ifadeyle L-type olarak adlandırılmıştır (Aguzzi ve ark. 2007).

BSE ve BASE ajanlarının, sığır PrP’si sentezleyen transgenik fareler ile transgenik olmayan, akrabalı yetiştirilmiş fare hatlarına inokülasyonu denemelerinde; BASE etkeninin transgenik olmayan farelerde seri pasajlamalar sonucunda klasik BSE etkenine dönüşebildiği ortaya konulmuştur. Bu sonuçlara göre, sığırlarda prion hastalıklarının sporadik formu olarak değerlendirilen BASE’nin, BSE hastalığının orijini olabileceği rapor edilmiştir (Capobianco ve ark. 2007).

### 2.7.5 Skrapi

Skrapi, koyun ve keçilerin bulaşıcı, beyin dokusunda anormal PrP<sup>SC</sup> birikimine bağlı vakoulizasyon ve nörodejenerasyonlarla karakterize, uzun inkubasyon süresine sahip, bilinen en eski ve dünya çapında en yaygın prion hastalığıdır (Goldmann ve ark. 1990, Detwiler 1992, Cloucard ve ark. 1995, Benestad ve ark. 2003, Cosseddu ve ark. 2007).

Skrapi, insanlarda ve hayvanlarda görülen TSE hastalıklarının prototipi olarak kabul edilir. Skrapi ve diğer TSE'lerde görülen ortak karakteristik özellikler şunlardır: Hastalık aylardan yıllara kadar değişen uzunlukta inkubasyon süresine sahiptir. MSS'de vakuolizasyon, sinir hücresi ölümü, astrositozis ve amyloid plak oluşumuna neden olur. Yangı ve immun yanıt görülmez. Progresiv ve daima öldürücüdür (Detwiler 1992).

Skrapi ile ilgili kayıtlar yaklaşık 250 yıl öncesine dayanmaktadır. Brown ve ark. (1998)'nin bildirdiğine göre; 18.yüzyılda İngiltere'de en önemli ticari ürün yapağı idi. Sanayi devrimi ve ticaretin daha fazla önem kazanması ile birlikte iyi kaliteli yapağıya da rağbet artmıştır. Bu ortamda, 1755 yılında İngiltere Parlementosunda, koyunlarda bulaşıcı ve öldürücü bir hastalık ve bunun ekonomik etkileri ile ilgili bir tartışma yaşanmış ve hükümetten bu konuda birşeyler yapması istenmiştir. Bu olayla birlikte skrapi hastalığına ait ilk resmi kayıtlar başlamıştır.

Alman bilim adamı Leopoldt JG (1777), skrapi konusunda şu ifadelerle yer vermiştir; *"Bazı koyunlar skrapiden de acı çekmektedir. Etkilenen hayvanlar yere yatarlar, ayaklarını ve bacaklarını ısırırlar, sırtlarını kazıklara sürterler, gelişemezler, beslenemezler ve sonunda zayıf düşerler. Bu hayvanlar kendi kendilerine sürünürler, zamanla aşırı derecede zayıflar ve ölürler. Skrapi tedavi edilemez. Bu yüzden, skrapiden etkilenmiş bir hayvanı fark eden çobanlar; bu hayvanı derhal kasaplık ederek malikane sınırlarından uzaklaştırmalı ve asilzadelerin hizmetçilerinin tüketimine vermelidir. Çoban böyle bir hayvanı sağlıklı sürüden derhal ayırmalıdır, çünkü skrapi bulaşıcı bir hastalıktır ve sürüye ciddi zararlar verebilir"* (Steen 2011).

19.yy ortalarında İngiltere, Fransa ve Almanya'da Veteriner Hekimler sistematik nöropatolojik incelemeleri de içeren bilimsel çalışmalar başlatmış ve skrapiye neden olan patojeni tanımlamak için çaba sarfetmişlerdir. Bu araştırmalar sonunda, beyin dokusunda nöronal boşluklar oluşumunun hastalık için karakteristik olduğu fark edilmiştir. Hasta koyunlardan sağlamlara beyin dokusu inokulasyonu ve kan transfüzyonu yapılmış, hasta koyunlarla sağlıklı koyunları bir arada tutarak hastalık sağlıklı koyunlara bulaştırmaya

çalışılmıştır. Birkaç ay boyunca yaptıkları gözlemlerde rapor ettikleri negatif sonuçlar aslında enfeksiyonun sıradışı bir şekilde uzun olan presemptomatik fazını değerlendirememiş olmalarından kaynaklanmıştır. Bu hata, 70 yıl sonra insanlarda görülen spongiform ensefalopatilerin bulaştırılması konusundaki ilk deneysel çabaları da başarısızlığa uğratmıştır (Brown ve ark. 1998).

1931-1934 yılları arasında, İngiltere’de koyunların louping-ill hastalığına karşı immunizasyon çalışmaları sonucunda, üretilen aşının etkinliğinin kanıtlanması ile geniş çaplı aşılama programları oluşturulmuş ve 1935 yılında uygulamaya konulmuştur. Louping-ill aşısı, bu virusun koyunların beynine inokulasyonundan sonra beşinci günde bu hayvanların beyin, omurilik ve dalaklarının %10’luk tuzlu sudaki ekstraktlarından elde edilmekteydi. O yıllarda üç parti halinde üretilen aşı binlerce koyunda kullanılmıştır. Louping-ill aşılamaından yaklaşık ikibuçuk yıl sonra, bazı sürü sahiplerinden koyunlarında skrapie hastalığı çıktığı yönünde şikayetler gelmeye başlamıştır. O zamana kadar siyah başlı ırklarda skrapie gözlenmemesine karşın, şikayette bulunan sürü sahiplerinin koyunları siyah başlı ırklardandı ve ilginç bir şekilde yalnızca louping-ill aşısı yapılan koyunlarda skrapie çıkmıştı. Bakteriyolojist Dr. W.S. Gordon, bu beklenmedik durumun izini sürmeye başlamış ve araştırmacı, skrapie hastalığının 2 numaralı parti ile aşılanan hayvanlarda çıktığını keşfederek bu partide hazırlanan aşılarda elde edilmesinde beyin, omurilik ve dalak dokuları kullanılan koyunların bazılarının skrapie ile enfekte olduğunu keşfetmiştir. Yapılan aşı ile skrapie hastalığının ortaya çıkması arasında kuvvetli bir ilişki olduğunu öngören araştırmacı, skrapie ajanının, beyin, omurilik veya dalakta bulunduğunu, louping-ill virüsünü inaktife etmeye yeterli olacak formalin konsantrasyonlarına dayanıklı olduğunu, deri altı enjeksiyonla bulaşabileceğini ve inkubasyon periyodunun iki yıl ve daha fazla olabileceğini rapor etmiştir (Gordon 1946).

1939 yılında Fransız araştırmacıların skrapinin bulaşabilirliği konusunda yaptıkları küçük çaplı araştırmalar, Dr. Gordon’un bulgularıyla desteklenmiş, skrapinin bulaşabilirliği kesin olarak gösterilmiştir (Beck ve daniel 1969).

Günümüzde, skrapinin anadan yavruya vertikal yolla bulaştığı, enfekte hayvanların yavru zarları ve yavru sularının çevreyi kontamine ederek hastalığı duyarlı hayvanlara bulaştırdığı ve sürüler arası temasın bulaşmada etkili olduğu kabul edilmektedir (Philippe ve ark. 2005, Anonim 2007a).

Skrapinin insan sağlığı açısından doğrudan bir tehdit olduğu konusunda bilimsel kanıtlar olmasa da; 1986 yılında ortaya çıkan BSE salgını ve BSE’nin insanlarda teşhis edilen

vCJD ile bağlantısının ortaya konulması, dahası 1996 yılında BSE'nin deneysel olarak koyunlara bulaşabilirliğinin kanıtlanması Avrupa ülkelerini skrapie hastalığı ile ilgili eradikasyon programları oluşturmaya zorlamıştır (Palhière 2004).

Yapılan epidemiyolojik çalışmalarda; skrapieye direnç veya duyarlılığın büyük ölçüde genetik kontrol altında olduğu, *PRNP* geninde özellikle 136, 154 ve 171. kodonlardaki polimorfizmlerin hastalığa karşı genetik direnç konusunda önemli rol oynadığı ortaya konulmuştur (Laplanche ve ark. 1993, Cloucard ve ark. 1995, Hunter ve ark.1997).

### 2.7.6 Skrapie hastalığının dünyada dağılımı

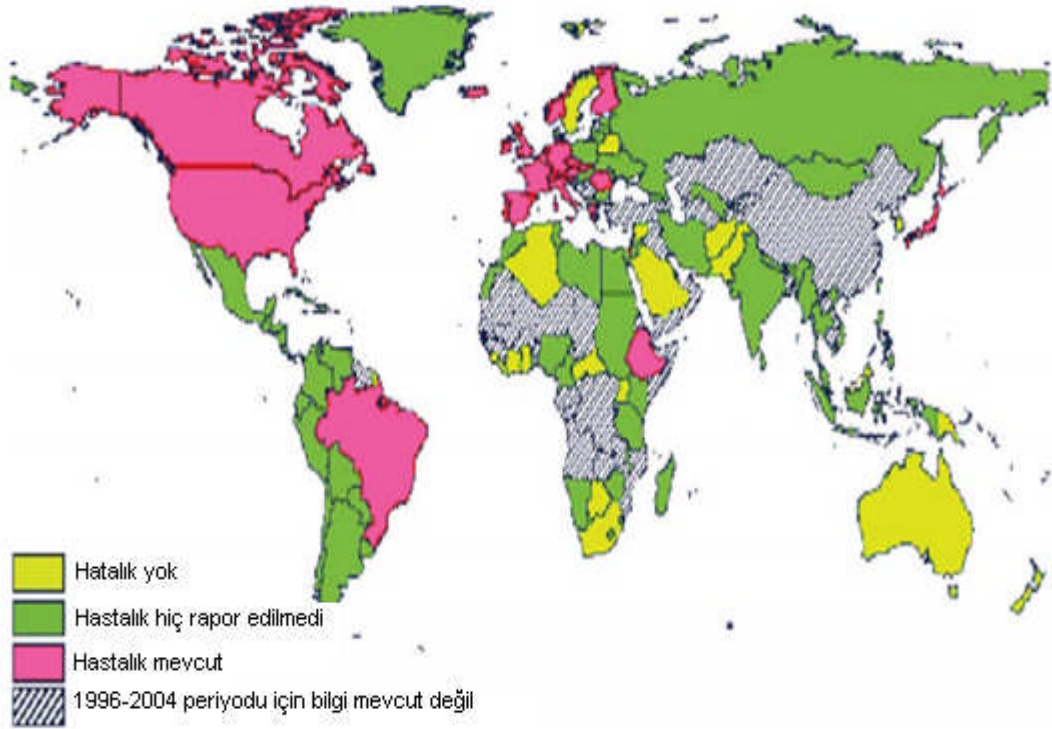
İngiltere ve daha sonra birçok Avrupa ülkesinde tespit edilen skrapie hastalığının, özellikle 2. dünya savaşı yıllarında, Merinos gibi ekonomik olarak önemli bazı ırkların, dünya çapında yayılması ile kıtalar arası bir dağılım alanı bulunduğu düşünülmektedir (Detwiler ve Baylis 2003, Detwiler 1992). Skrapie hastalığının İngiltere'den dünyaya dağılımı ve ilk tespit edildiği yıllar şekil 2.3'de gösterilmiştir (Detwiler ve Baylis 2003).



Şekil 2.3 1938-1977 yılları arasında skrapinin İngiltere'den dünyanın diğer bölgelerine yayılımı.

Avustralya	:	1952	Yeni Zellanda	:	1952-1954
Brezilya	:	1977	Norveç	:	1958-1959
Kanada	:	1938	Güney Amerika	:	1964-1972
Kolombiya	:	1968-1971	ABD	:	1947
Kenya	:	1970			

Bu ülkeler dışında, skrap hastalığı Orta Doğu, Asya kıtasında çeşitli bölgeler ile Japonya ve Kolombiya’da da rapor edilmiştir. Etkili izleme programlarının olmaması nedeniyle, birçok ülkede skrapinin yayılım durumu bilinmemektedir. Dünyada yalnızca Avustralya ve Yeni Zellanda skrapiden ari kabul edilmektedir. Bu ülkelerde, ithal edilen koyunlarda skrap salgını çıkmış ancak bu hayvanlar ve ait oldukları sürüler derhal imha edilerek hastalığın eradikasyonu sağlanmıştır (Anonim 2007b). 1996-2004 yılları arasında skrapinin dünya üzerinde gösterdiği dağılım şekil 2.4’de gösterilmiştir (Cosseddu ve ark. 2007).



Şekil 2.4 1996-2004 arası dönemde skrapinin dünyada dağılımı.

### 2.7.7 Skrapı ve genetik direnç

Skrapıye direnç konusundaki erken çalışmalarda *sA* ve *pA* olmak üzere iki alleli bulunan ve “*Sip*” (Skrapı inkübasyon periyodu) olarak tanımlanan bir genin skrapının inkübasyon süresi üzerine etkili olduğu rapor edilmiştir. Skrapı etkeniyle yapılan deneysel enfeksiyon çalışmalarında, kısmi olarak dominant *sA* allelleri taşıyan koyunlarda skrapı inkübasyon periyodunun daha kısa olduğu gözlenmiştir. Araştırmacılar, cheviot koyunlarında *PRNP* geninin protein kodlayan bölgesini dizi analizi işlemine tabi tutmuşlar, 112, 130 ve 147. kodonlarda polimorfizmler tespit etmişler ve 112 kodonda Valin kodlanmasının kısa inkübasyon periyodu ile bağlantılı olduğunu, PrP proteininin muhtemelen *sip* lokusunda kodlandığını rapor etmişlerdir (Goldman ve ark. 1991).

Dickinson ve ark. (1968), farelerde, skrapı etkeninin inkübasyon periyodunu kontrol eden, *s7* ve *p7* olmak üzere iki alleli bulunan bir gen izole etmişlerdir. Araştırmacılar bu gene, skrapı inkübasyon periyodunu sembolize eden “*sinc*” adını vermişlerdir.

Hope ve Hunter (1988), akrabalı yetiştirilmiş ve *sinc* genotipi bilinen farelerde yaptıkları çalışmalarda; PrP proteinlerinin *sinc* geni tarafından kodlanıyor olabileceğine ilişkin bulgular elde etmişlerdir.

Foster ve Dickinson (1988), doğal skrapı enfeksiyonuna yakalanmış bir cheviot koyunundan izole edilen ve CH164 olarak tanımlanan skrapı türünü farelere bulaştırmayı başaramadıklarını ifade ederek, cheviot koyunlarında, skrapı inkübasyon periyodunu kontrol eden *Sip* geninin iki allele sahip olduğunu, bunlardan *sA* allelinin inkübasyon periyodunu kısalttığını, *pA* allelinin ise inkübasyon periyodunun uzattığını, ancak CH164 izolatında, *sip* geninin farklı davranarak *pA* homozigot farelerde inkübasyon süresinin kısaltıldığını, bu yüzden *sip* genine ek olarak bir ya da daha fazla genin inkübasyon sürelerinde etkili olabileceğini bildirmişlerdir.

Hunter ve ark. (1989), deneysel enfeksiyon oluşturulan Cheviot koyunlarında, *SippApA* allellerinin hastalığın görülüş sıklığını azaltırken, *SipsAsA* veya *SipsApA* allellerinin artırdığını bildirmişlerdir.

Goldmann ve ark. (1990), farelerde, koyunlardaki *Sip* homologu olan *Sinc* geninin, sıçangillere ait tüm skrapı türlerinde, inkübasyon periyodunu belirleyen major bir gen olduğunu rapor etmişlerdir.



Goldmann ve ark. (1990), *PRNP* geninin doğal skrapideki rolünü incelemek için yaptıkları araştırmada; 256 aminoasitli bir protein kodlayan ve diğer türlerdeki *PRNP* geni ile oldukça homolog olan iki genomik DNA klonlamışlardır. Araştırmacılar bu gende 171. pozisyondaki Arjinin/Glutamin polimorfizminin *sip* geni allelleri ile bağlantılı olabileceğini rapor etmişlerdir

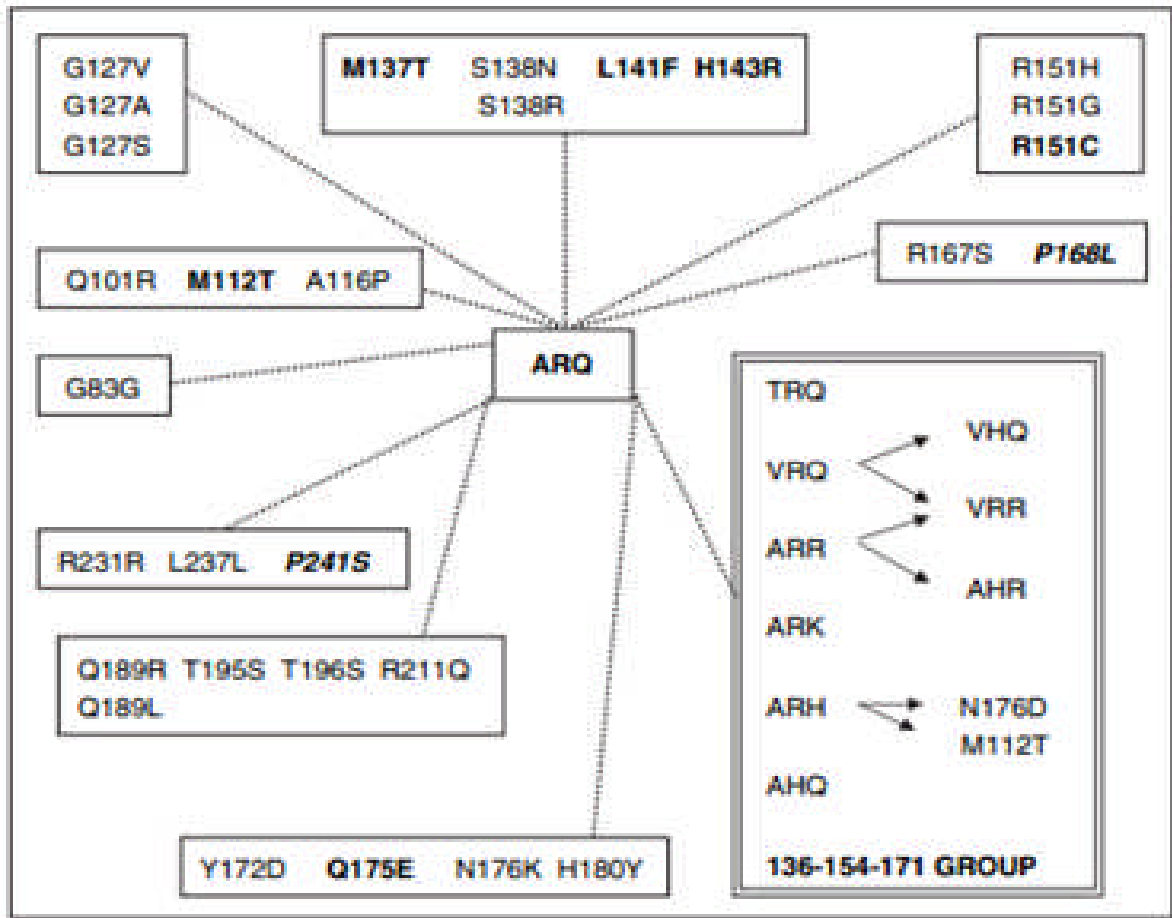
Özet olarak, İngiltere’de 1960’larda sürdürülen farklı denemelerde skrapiye karşı genetik dirençle, özellikle de “*sip*” (skrapi incubation period) olarak tarif edilen genle ilgili kanıtlar gözlemlenmiştir. 1991 yılına gelindiğinde bazı koyun ırklarında *PRNP* geninin polimorfizmi ve doğal skrapi görülme sıklığı arasındaki bağlantı tarif edilmiştir. 1990 ve 1996 yılları arasında yapılan çalışmalar; koyunlarda *PRNP* genindeki 136, 154 ve 171. kodonların skrapiye karşı direnç veya hassasiyet ile ilgili rolü olduğunu ortaya çıkarılmıştır (François ve ark. 2002).

Bu üç kodonda kodlanan en genel aminoasitler: kodon 136’da Alanin (A) veya Valin (V), kodon 154’te Arjinin (R) veya Histidin (H) ve kodon 171’de Glutamin (Q) veya Arjinin (R)’dir. Skrapi’ye karşı genetik direnç yalnızca koyunun prion genotipine değil aynı zamanda skrapi ajanına da bağlıdır. Bir skrapi türüne dayanıklı olan genotip bir diğerine duyarlı olabilir. Amerika’da görülen skrapi ile Avrupa’da görülen arasında farklılık görülmektedir. Avrupa’da yapılan çalışmalar 136. kodonda Alanin homozigot koyunların (AA), skrapiye karşı Valin homozigotlardan (VV) ve heterozigotlardan (AV) daha dayanıklı olduğunu göstermiştir. 154. kodondaki aminoasit değişikliğinin skrapi’ye duyarlılığa etkisi diğer iki kodondan daha az olduğu görülmekte ve çalışmalarda genetik duyarlılığın tutarsız olduğu belirtilmektedir. Skrapi insidansı bazı çalışmalarda Rarginine (R) allelerine sahip koyunlarda daha düşük, bazı çalışmalarda ise Histidin (H) alleleline sahip koyunlarda daha düşüktür bulunmuştur. Kodon 171 deki aminoasit değişikliği hem Avrupa hem de Amerika’da skrapi’ye duyarlılık yönünden büyük bir etkiye sahiptir. Amerika ve Avrupa’da Arjinin homozigot (RR) koyunlarda hemen hemen hiç skrapi bildirilmemiştir. Skrapili koyunlar arasında heterozigot (QR) koyunların frekansı da oldukça düşüktür. Bununla birlikte Glutamine homozigot (QQ) koyunlarda skrapi görülme sıklığı oldukça yüksektir (Thomas 2011).

Koyunlarda *PRNP* genindeki belirli polimorfizmlerle skrapi arasındaki ilişki açıkça tanımlanmış olmasına rağmen keçilerde durum bundan farklıdır. Yapılan araştırmalarda keçilerde *PRNP* geninde çok sayıda kodonda polimorfizm tespit edilmiştir. Özellikle 146, 154, 211 ve 222. kodonlardaki polimorfizmlerin skrapiye duyarlılıkla ilgili olabileceği

yönünde bulgular elde edilmiştir (Vaccari ve ark.2006, Acutis ve ark. 2006, Colussi ve ark. 2008, Barillet ve ark. 2009). Ancak bu veriler, keçilerde skrapiye karşı dirence dayalı yetiştiricilik programlarının oluşturulabilmesi için yeterli görülmemektedir (Anonim 2009)

Yapılan araştırmalarda koyun *PRNP* geninden çeşitli noktalarda çok sayıda polimorfizm tespit edilmiştir. İngiltere koyun ırklarındaki genotiplendirme çalışmalarında *PRNP* geninde 23 kodonda polimorfizm ve bunun sonucu olarak 38 farklı haplotip tespit edilmiştir(Şekil 2.5) (Goldmann ve ark. 2005).



Şekil 2.5 Koyun *PRNP* genindeki polimorfik noktalar.

Çeşitli ülkelerde skrapı teşhisi konulan koyunlarda, PrP genotipleri ve skrapı gelişimi arasındaki ilişki çizelge 2.5’de özetlenmiştir.

Çizelge 2.5 PrP genotiplerine göre skrapı dağılımı.

Direnç Seviyesi	PrP Genotipi /Frekans	ALMANYA n=8 Lühken ve ark. (2004)	NORVEÇ n=32 Tranulis ve ark. (1999)	İNGİLTERE n=21 Baylis ve ark. (2002)	İNGİLTERE n=59 Saunders ve ark. (2006)	BELÇİKA n=29 Roels ve ark. (2004)	FRANSA n=437 François ve ark. (2002)	FRANSA n=245 Fediaevsky ve ark. (2010)	İRLANDA n=154 O’doherly ve ark. (2002)	İTALYA n=34 Acutis ve ark. (2004)	HOLLANDA n=34 Belt ve ark. (1995)	İZLANDA n=101 Thor geirsdothir ve ark. (1999)	İSPANYA n=38 Acin ve ark. (2004)	YUNANİSTAN n=216 Billinis ve ark. (2004)	JAPONYA n=15 Ikeda ve ark. (1995)	KANADA n=249 O’Rourke ve ark. (2010)	Frekans Ortalaması
1	ARR/ARR	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.07	0.00	<b>0.004</b>
	ARR/AHQ	0.25	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.01	0.00	0.00	<b>0.017</b>
2	ARR/ARH	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.01	0.00	0.00	<b>0.001</b>
	ARR/ARQ	0.00	0.06	0.00	0.00	0.00	0.01	0.01	0.00	0.00	0.00	0.00	0.10	0.12	0.07	0.00	<b>0.024</b>
	ARQ/ARH	0.00	0.00	0.00	0.00	0.10	0.00	0.04	0.16	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	<b>0.020</b>
	ARQ/AHQ	0.38	0.00	0.14	0.02	0.00	0.02	0.00	0.00	0.06	0.00	0.00	0.00	0.18	0.00	0.00	<b>0.053</b>
3	AHQ/AHQ	0.38	0.06	0.00	0.02	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	<b>0.031</b>
	ARH/ARH	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.01	0.00	0.00	0.00	0.00	0.01	0.00	0.00	<b>0.001</b>
	AHQ/ARH	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	<b>0.000</b>
	ARQ/ARQ	0.00	0.03	0.00	0.14	0.03	0.21	0.37	0.42	0.94	0.09	0.47	0.00	0.51	0.87	0.92	<b>0.332</b>
4	ARR/VRQ	0.00	0.00	0.10	0.25	0.14	0.02	0.07	0.01	0.00	0.03	0.00	0.00	0.00	0.00	0.01	<b>0.042</b>
	AHQ/VRQ	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.01	0.01	0.00	0.00	0.35	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	<b>0.025</b>
5	ARH/VRQ	0.00	0.00	0.29	0.05	0.21	0.00	0.04	0.03	0.00	0.44	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	<b>0.070</b>
	ARQ/VRQ	0.00	0.16	0.48	0.41	0.38	0.46	0.37	0.36	0.00	0.00	0.41	0.00	0.00	0.00	0.05	<b>0.205</b>
	VRQ/VRQ	0.00	0.69	0.00	0.12	0.14	0.28	0.09	0.01	0.00	0.09	0.13	0.00	0.08	0.00	0.01	<b>0.109</b>

Yapılan saha tarama çalışmalarında, Fransa ve Almanya’da ARR/ARR genotipine sahip iki koyunda klasik skrapı teşhis edilmiştir (Groschup ve ark. 2007). Ikeda ve ark. (1995)’ın bildirdikleri vaka ile birlikte şimdiye kadar dünya genelinde ARR/ARR genotipine sahip üç koyuna klasik skrapı teşhisi konulmuştur.

### 2.7.8 Skrapı hastalığında risk faktörleri

Koyunlarda *PRNP* genindeki belirli polimorfizmlerin skrapı hastalığına karşı genetik direnci etkilediği genel olarak kabul görmektedir. Ancak bu durum duyarlı genotipe sahip hayvanların skrapı taşıdığı anlamına gelmemektedir. Skrapı hastalığı, duyarlı genotipe sahip koyunun skrapı etkenine maruz kalmasıyla ortaya çıkmaktadır (Foster ve ark. 2006).

İngiltere’de, PrP genotiplerine göre her milyon koyunda, tahmin edilen skrapıye yakalanma riski çizelge 2.4’de gösterilmiştir (Detwiler ve Baylis 2003).

Çizelge 2.4 PrP genotipine göre her milyon koyunda tahmin edilen skrapıye yakalanma riski.

PrP Genotipi	Her milyon koyunda skrapı çıkma ihtimal	Direnç Gurubu
ARR/ARR	0	1
ARR/AHQ	0.3	2
ARR/ARQ	0.4	2
ARR/ARH	0	2
AHQ/AHQ	5	3
ARQ/AHQ	9	3
AHQ/ARH	0	3
ARH/ARH	2	3
ARQ/ARH	5	3
ARQ/ARQ	37	3
ARR/VRQ	6	4
AHQ/VRQ	0.7	5
ARQ/VRQ	225	5
ARH/VRQ	405	5
VRQ/VRQ	545	5

Skrapı ile enfekte hayvanlar yaşamları boyunca hastalık etkeni prionun taşıyıcısıdır ve klinik semptom göstermeseler bile hastalığı bulaştırabilirler (Anonim 2007c).

Skrapinin yatay (hayvandan hayvana direkt veya indirekt) bulaşmasında en önemli yol oral yolla bulaşmadır. Skrapinin deneysel olarak deri skarifikasyonu ve konjunktiva yolu ile de bulaşabilirliği gösterilmiştir (Detwiler ve Baylis 2003).

Hastalık etkeni toprakta uzun yıllar boyunca enfeksiyöz özelliğini korumakta ve ağız yolu ile alındığında enfeksiyona neden olmaktadır (Brown ve Gajdusek 1991). Geyikler

üzerinde yapılan araştırmalarda; kronik zayıflama hastalığına neden olan prionun, enfekte karkas veya idrar ve dışkı gibi materyaller ile indirekt olarak bulaşabildiğı gösterilmiştir (Miller ve ark. 2004).

Skrapi hastalığının yayılmasında, PrP genotip profili, hayvan hareketleri, sürüler arasındaki doğrudan ya da dolaylı temaslar, sürü büyüklüğü, ortak mera kullanımı, doğum dönemi, plasenta ile bulaşık koyun altlıklarının toprağı kontamine etmesi ve toprak direnaji gibi faktörler büyük rol oynamaktadır (Healy ve ark. 2004, McIntyre ve ark.2008, Stevens ve ark. 2009, Taşkın ve ark. 2010)

Hastalığın anadan yarıya bulaşmasına plasenta aracılık etmektedir (Dickinson ve ark. 1974, Santucci' 2010). Skrapinin enfekte anadan yavruya kolostrum yoluyla geçebileceğini gösteren kanıtlar elde edilmiştir (Konold ve ark. 2008).

Lacroux ve ark.(2007), yaptıkları araştırmada; duyarlı genotipe sahip ve skrapi ile enfekte koyunların, taşıdıkları fötusun genotipine bağılı olarak, hem PrP<sup>SC</sup> pozitif hem de negatif plasenta geliştirebileceğini, ARR/VRQ genotipine sahip koyunların plasentalarında, fötusun genotipi ne olursa olsun PrP<sup>SC</sup> birikimi olmadığını rapor etmişlerdir. Araştıncılar ayrıca, VRQ/VRQ genotipine sahip ve skrapiili koyunun duyarlı genotipe sahip koç ile çiftleştirilmesi durumunda, plasentada PrP<sup>SC</sup> birikimi görülürken, duyarlı genotipe sahip ve skrapi ile enfekte aynı koyunun ARR/ARR genotipine sahip dirençli koçlar çiftleştirilmesinden meydana gelen ARR heterozigot fötusa ait plasentada PrP<sup>SC</sup> birikimi görülmediğini ve bu durumun skrapi kontrol çalışmalarında ARR genotipi yönünden seleksiyonun önemini artırdığını ifade etmişlerdir.

Yapılan çalışmalarda, koç spermasında, özellikle epididimis sıvısında ve sperm membranında fazla miktarda hücresel PrP<sup>C</sup> ye rastlanmış ancak, skrapi ile enfekte koçların spermalarında PrP<sup>SC</sup> tespit edilememiş ve VRQ alleli taşıyan transgenik farelere yapılan inokulasyonlarda skrapi gelişmediğı rapor edilmiştir (Sarradin ve ark 2008). Ancak suni tohumlama ve embriyo transferinde kullanılan alet ve ekipmanlar ile hayvan kaynaklı hormonların kullanımı yoluyla hastalığın taşınması ihtimali göz ardı edilmemektedir (Anonim 2010x). Bu yüzden sperm ithalatı yapan ülkeler donör olarak kullanılan koç veya tekelerin kendisi ve akrabalarının skrapiden ari ve dirençli genotipe sahip olmasını şart koşmaktadır (Anonim 2012).

Skrapi, İtalya'da geçmişten beri çok düşük yoğunluklarda seyretmesine rağmen 1997 yılında hastalığın görülüş sıklığı, özellikle skrapiye karşı göreceli olarak dirençli olduğu düşünülen keçilerde önemli derecede artmıştır. Yapılan araştırmalarda bu artışın, üretiminde koyunların meme ve beyin dokusu ekstraktı kullanılan *Mycoplasma agalactiae* aşısından kaynaklandığı rapor edilmiştir (Pocchiari 1997).

Prionların solunum yoluyla bulaşma yeteneğinin olmadığı yönündeki yaygın kanıya rağmen, Haybaeck ve ark. (2011), akrabalı yetiştirilen fareler ve yabani tip hibrid farelerde prionların aerosol yolla bulaşabildiğini ve bu yolla hastalığın geliştiğini, diğer bulaşma şekillerinin aksine, aerosol bulaşmada, lenfoid organlarda enfeksiyon için zorunlu olan prion replikasyon fazına gerek kalmadan, direkt sinir sistemi invazyonunun gerçekleştiğini rapor etmişler, özellikle prion teşhis laboratuvarlarında oluşturabileceği riskler yönünden bu durumun tekrar değerlendirilmesi gerektiğini bildirmişlerdir.

### **2.7.9 Skrapi eradikasyon programları ve skrapiye karşı dirençli yetiştiricilik**

Avrupa Topluluğu Komisyonu tarafından 1996 yılında “TSE Araştırmaları Üzerine Avrupa İnsiyatifi” adı altında yayınlanan raporda (COM 96- 582 final/2), İngiliz yetkililerin, sığırlarda görülen BSE ile etiyolojik bağlantısı olması muhtemel dokuz vCJD vakası bildirmesi üzerine, Avrupa Birliği üye ülkeleri arasında, geniş çaplı bir araştırma insiyatifinin oluşturulmasının kaçınılmaz olduğu bildirilmiştir. Raporda BSE ve BSE ile ilişkili hastalıklar konusunda araştırmalara ihtiyaç duyulduğu, özellikle; insanların TSE'leri ile ilgili klinik ve epidemiyolojik araştırmalar ile TSE etkenleri ve bulaşma mekanizmaları, TSE'lerde teşhis, risk değerlendirmesi, tedavi ve korunma üzerine araştırmaların gerekli olduğu belirtilmiştir.

İngiltere'de ortaya çıkan BSE krizinden sonra Avrupa Birliği, TSE hastalıklarının eradikasyonu amacıyla bir dizi politika geliştirmiştir. Avrupa Parlamentosu 2001 yılında, üye ülkelerin yıllık, BSE ve skrapi izleme programları oluşturması ve sonuçlarını Avrupa Birliği Komisyonu ve diğer üyelerle paylaşması yönünde karar almıştır (Anonim 2001b). İzleme programlarında büyükbaş ve küçükbaş hayvanlar için asgari gereklilikleri aşağıdaki şekilde sıralanmıştır.

Sığırlar için asgari gereklilikler;

- a- Zorunlu kesime tabi tutulmuş veya otopsi için gönderilmiş 24 ay ve üzeri yaştaki tüm sığırlar,

- b- İnsanların tüketimi için normal olarak kasaplık edilmiş 30 ay ve üzeri yaştaki tüm sığırlar,
- c- Çiftliklerde ölmüş veya kesilmiş 24 ay ve üzeri yaştaki tüm sığırlar BSE yönünden test edilmelidir.

Koyun ve keçiler için asgari gereklilikler;

- a- Koyun ve keçi varlığı 750000 ve daha fazla olan üye ülkelerde, insan tüketimi için kasaplık edilmiş koyun ve keçilerden yıllık en az 10000 adet örnekleme yapılarak TSE'ler yönünden test edilmelidir.
- b- TSE pozitif koyunların PrP genotiplerin belirlenmeli, A<sub>136</sub> R<sub>154</sub> R<sub>171</sub>/A<sub>136</sub> R<sub>154</sub> R<sub>171</sub> genotipine sahip koyunlar derhal Avrupa Komisyonuna rapor edilmeli, atipik skrapi için 141. kodon yönünden de genotiplendirilmelidir.
- c- Bu uygulamaya ek olarak, erişkin koyun varlığı 750.000'den fazla olan üye ülkelerde, yıllık en az 600 koyun bahsedilen kodonlar yönünden genotiplendirilmelidir. Bu örnekler, insanların tüketimi için kasaplık edilen koyunlardan, çiftliklerde ölen hayvanlardan ya da canlı hayvanlardan yapılabilir. Hayvan varlığı 750.000'den az olan ülkeler için genotiplendirilmesi gereken koyun sayısı en az 100 olmalıdır.
- d- TSE tespit edilen sürülerde, ARR/ARR genotipine sahip damızlık koçlar, en az bir ARR alleleline sahip ve VRQ alleli taşımayan damızlık koyunlar ile en az bir ARR alleli taşıyan ve sadece kasaplık amacıyla yetiştirilen koyunlar dışında tüm hayvanlar ve bunlara ait embriyo ve ovumlar imha edilmelidir.

Avrupa Parlamentosunun aynı sayılı kararında üye ülkelerin koyun popülasyonları için TSE'lere dirençli yetiştiricilik programları oluşturması gerektiği belirtilmiştir. Dirençli yetiştiricilik programları için asgari gereklilikler şu şekilde belirtilmiştir.

- a- Dirençli yetiştiricilik programları yüksek genetik değere sahip sürülere odaklanmalıdır.
- b- Programa dahil edilen sürülerde; her hayvanın ırkı, numarası ve sahip olduğu PrP genotipini içeren veri bankası oluşturulmalıdır.
- c- Bu sürüler için sertifikasyon sistemi oluşturulmalıdır.
- d- Dirençli yetiştiricilik programlarında ARR allel frekanslarının yükseltilmesi ve skrapiye duyarlılıkla ilgili allel frekanslarının azaltılması amaçlanmalıdır.
- e- VRQ alleli taşıyan koçlar kasaplık edilmeli veya kısırlaştırılmalıdır.

f- VRQ alleli taşıyan koyunların, kasaplık haricinde satışına izin verilmemelidir (Anonim 2001b).

Avrupa Parlamentosu daha sonraki yıllarda, genetik değeri yüksek her ırk için popülasyonu temsil edecek şekilde en az 50 koyunun PrP yönünden genotiplendirilmesi (2002/1003/EC), bu saha tarama çalışmasının sonuçlarına göre, 2004 yılına kadar üye ülkelerin kendi koyun ırkları için TSE'lere karşı dirençli yetiştiricilik programları başlatması, 2005 yılına kadar bu programa katılımın gönüllülük esasına göre yapılması, 2005 yılından sonra sürü sahiplerinin dirençli yetiştiricilik programlarına katılımlarının zorunlu hale getirilmesi yönünde karar almıştır (Anonim 2003b).

Üye ülkeler arasında veri toplanması ve teşhis kriterlerinin koordinasyonu ile TSE'ler konusunda bilimsel çalışmaları teşvik etme temelinde oluşturulan eylem planı çerçevesinde, üye ülkelerdeki 120 laboratuvarından farklı bilimsel disiplinlerde yoğun miktarda bilgi paylaşımı gerçekleştirilmiş, 54 bilimsel çalışmaya 50.700.000€ finans sağlanmıştır (Anonim 2001a, Anonim 2011i).

Dawson ve ark. (1998), İngiltere koyun ırkları için, PrP genotiplerine göre, klinik skrapieye karşı R1 en dirençli, R5 en duyarlı genotipleri ifade etmek üzere beş kademeli direnç skalası oluşturmuşlardır (Tsunoda ve ark. 2010).

İngiltere'de oluşturulan Ulusal Skrapie Planı çerçevesinde en genel 15 genotip ve direnç seviyeleri çizelgede 2.6'da gösterilmiştir (Anonim 2011g).



Çizelge 2.6 İngiltere Ulusal Skrapı Planı

<b>Genotip</b>	<b>Direnç Durumu</b>	<b>Direnç Grubu</b>
<b>ARR/ARR</b>	Skrapiye karşı en dirençli koyunlar	R1
<b>ARR/AHQ</b> <b>ARR/ARH</b> <b>ARR/ARQ</b>	Skrapiye karşı genetik olarak dirençli ancak yetiştirmede damızlık olarak kullanılması durumunda dikkatli bir seleksiyon uygulanması gereken koyunlar	R2
<b>ARQ/ARH</b> <b>ARQ/AHQ</b> <b>AHQ/AHQ</b> <b>ARH/ARH</b> <b>AHQ/ARH</b> <b>ARQ/ARQ</b>	Skrapiye karşı genetik olarak az dirence sahip ve damızlık olarak kullanılması veya satılması uygun olmayan koyunlar	R3
<b>ARR/VRQ</b>	Skrapiye karşı genetik olarak duyarlı olan, kontrollü ve onaylanmış yetiştirme programları dışında yetiştirmede kullanılmaması gereken koyunlar	R4
<b>AHQ/VRQ</b> <b>ARH/VRQ</b> <b>ARQ/VRQ</b> <b>VRQ/VRQ</b>	Skrapiye karşı yüksek derecede duyarlı ve yetiştirmede kullanılmaması gereken koyunlar	R5

İngiltere Ulusal Skrapı Planı, koçların genotiplendirilerek VRQ alleli taşıyanları kısırlaştırma veya kasaplık etme, ARR alleli taşıyanları damızlık olarak kullanma esasına dayanmaktadır. 2001 yılında başlatılan Ulusal Skrapı Planı kapsamında 2006 yılına kadar yaklaşık 12.000 sürüden ve 90 ırktan 700.000 koç genotiplendirilmiştir. 2002-2006 yılları arasında PrP allel dağılımındaki değişim çizelge 2.7’de gösterilmiştir (Dawson ve ark. 2008).

Çizelge 2.7 İngiltere’de Ulusal Skrapi Planı ile 2002-2006 yılları arasında PrP allel dağılımındaki değişim.

Allel	2002	2006	% fark
ARR	50,4	68,8	+36,5
AHQ	7,4	5,5	-25,7
ARH	9,9	5,6	-43,4
ARQ	29,2	18,9	-35,3
VRQ	3,0	1,2	-60,0

Fransa’da, 2001 yılında sistematik genotiplendirme programı başlatılmış, yalnızca ARR/ARR genotipli koçlar damızlık olarak kullanılarak doğan kuzulardaki ARR allel frekansı 2002 yılında 9%’dan ilerleyen yıllarda kademeli olarak 2003’de 12%, 2004’de 17%, 2005’de 19%, 2006’da 32%, 2007’de 43% ve 2008 yılında 45% oranına yükseltilmiştir. Yoğun miktarda suni tohumlama uygulanarak ARR alleli taşıyan koyunların oranı da artırılmış, 2006 yılından itibaren ARR/ARR genotipli koçlar ile ARR alleli taşıyan koyunlar çiftleştirilmeye başlanmış, böylece yeni jenerasyonlarda ARR frekansı hızla yükseltilmiştir. Başlangıçta dört yıl olarak planlanan skrapiye karşı dirençli yetiştiricilik programı 2007-2010 yıllarını kapsayacak şekilde üç yıl daha uzatılmış ve büyük ölçüde devlet finansmanı ile gerçekleştirilmiştir.

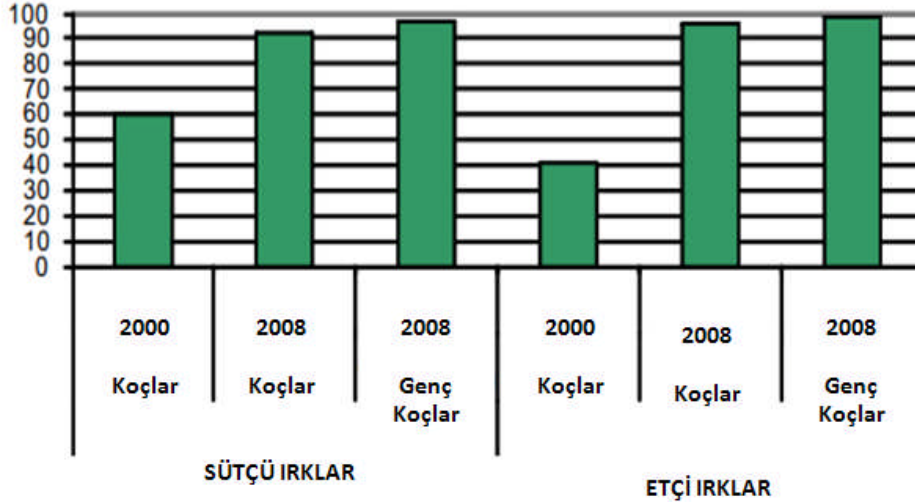
Elsen ve ark. (2002)’nin bildirdiğine göre; Fransa Tarım Bakanlığı skrapi eradikasyonu için tamamlayıcı dört eylem ortaya koymuştur.

- 1- Hastalığın klinik takibi: Bu şekilde 1996-2002 yılları arasında 94 sürü ve 2003 yılında 43 sürüde hastalık teşhis edilmiştir.
- 2- Mezbahada kesilen hayvanlara, Avrupa Birliği izleme programı çerçevesinde test uygulanmasını içeren aktif izleme: 2002 ve 2003 yıllarında yaklaşık 60.000 koyuna test uygulanmış, hastalığın yaygınlığı 2002 yılında %0.1-0.7, 2003 yılında %0.1-0.2 olarak tespit edilmiştir.
- 3- Skrapi rapor edilen sürülerde eradikasyon programı: 1996 yılında eradikasyon programına başlanmış, 2001 yılında PrP genotiplendirilmesi de dahil edilerek modifiye edilmiştir.
- 4- 2001 yılında beş yıllık süre ile tüm koyun ırklarında skrapiye dirençliliğe dayanan seleksiyon programlarını başlatmıştır (Palhière ve ark. 2004).

Fransa’da kayıtlı yetiştiricilik ve seleksiyonun çok önceden beri resmi organizasyon kontrolü altında uygulanması, skrapiye dirençli genotiplerin seçimine dayalı seleksiyon programlarının uygulamasının kolaylaştırmış ve hızlandırmıştır. Bu ülkede, küçükbaş hayvanların ıslahında piramid yapısında bir şema kullanılmaktadır. Her koyun ırkı iki guruba ayrılmıştır. Birinci gurubu seleksiyon çekirdeği (seçilmiş populasyon) oluştururken, populasyonun geri kalanı ikinci gurubu (temel populasyon) oluşturmaktadır. Verim ve pedigrî kayıtları, suni tohumlama ve projeni test gibi ıslah enstrümanları birinci grupta yoğun şekilde uygulanarak elde edilen genetik ilerlemenin suni tohumlama ve doğal aşım yoluyla temel populusyona aktarılması sağlanmaktadır. Bu nedenle skrapiye direnç konusunda yapılan seleksiyon çalışmalarının çekirdek populasyon üzerinde yoğunlaştırılmasının en uygun maliyeti sağlayacağına karar verilmiştir. Bu kapsamda 2002, 2003 ve 2004 yıllarında, finansmanı “Fransa Skrapiye Dirençli Seleksiyon Programı” tarafından sağlanarak yıllık ortalama 80-90.000 koç ve koyun *PRNP* geni yönünden genotiplendirilmiş, aynı zamanda bu dönemlerde toplamı yaklaşık 80.000’i bulan koç ve koyun özel sermaye finansmanı ile genotiplendirilmiştir. İki yıllık seleksiyon programının sonuçları değerlendirildiğinde; seleksiyonla elde edilen koç adaylarındaki ARR allel frekanslarının, aktif olarak kullanılmakta olan koçlara göre ortalama %40 arttığı tespit edilmiştir.

Fransa Ulusal Skrapi Planı çerçevesinde, 2002-2009 yılları arasında toplam 530.000 baş hayvan skrapiye direnç yönünden genotiplendirilmiş, partnerler arasındaki yakın işbirliği ve organize edilmiş genetik veri tabanı sayesinde, VRQ allelleri koçlarda tamamen, koyunlarda ise büyük ölçüde eradike edilmiştir. Uygulanan skrapiye dirençli yetiştiricilik programının, arzu edilen genetik parametreler üzerine olumsuz bir etkisi gözlenmemiştir (Sidani ve ark. 2012).

Fransa’da, 2000-2008 yılları arasında, etçi ve sütçü ırklarda ARR allelleri yönünden elde edilen genetik ilerleme şekil 2.6’da gösterilmiştir (Lagriffoul ve ark. 2010).

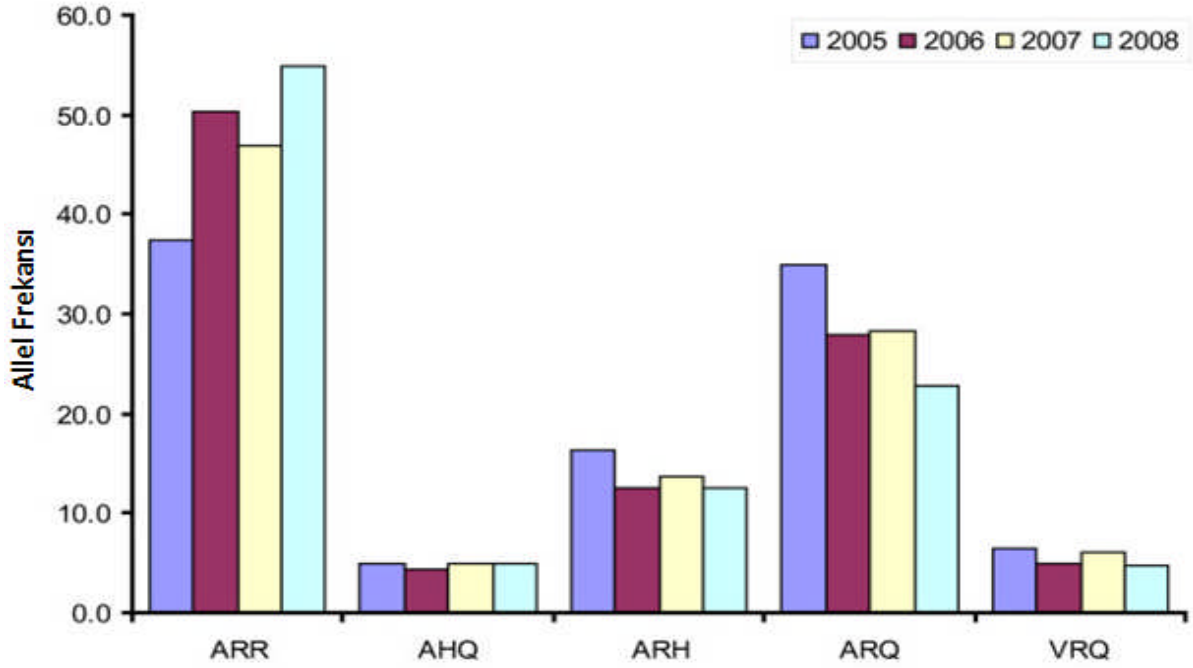


Şekil 2.6 Fransa 2002-2008 yılları arası ARR allel frekansları.

Hollanda'da skrapi hastalığı ile ilgili kronolojik gelişmeler aşağıdaki şekilde olmuştur.

- 1993 Skrapi, ihbarı mecbur hastalıklar kategorisine alınmıştır.
- 2002 Aktif izleme programı başlatılmıştır. (Avrupa Parlamentosu kararları gereği).
- 2003 Klasik skrapi görülen koyunların ait olduğu sürülerle ilgili kontrol önlemleri hayata geçirilmiştir.
- 2004 Büyüklüğü 10 koyundan fazla olan sürülerde ARR/ARR koçların kullanımı zorunlu hale getirilmiştir ( bazı nadir ırklar hariç).
- 2005 Tüm sürülerde ARR/ARR koç kullanımı zorunlu hale getirilmiştir ( bazı nadir ırklar hariç).
- 2007 ARR/ARR koç kullanma zorunluluğuna son verilmiştir.

Hollanda'da uygulanan Ulusal Skrapi Planı neticesinde 2005-2008 yılları arasındaki genetik ilerleme şekil 2.7'de gösterilmiştir (Hagenaars ve ark. 2010).



Şekil 2.7 Hollanda 2005-2008 yılları arası Allel frekansları.

Windig ve ark. (2004), Hollanda'nın nadir koyun ırkları için skrapiye karşı dirençli yetiştiricilik yönünde üç farklı seleksiyon metodunu simule etmişlerdir. Bu nadir ırkların PrP allel frekansları ve populasyon parametrelerinin kullanıldığı araştırmada, seleksiyon yöntemlerini; 1-ARR homozigot ve ARR heterozigot koçların ayırım yapılmadan kullanıldığı "hafif seleksiyon", 2- tercihan ARR homozigot koçları kullanıldığı ancak gerekli olduğu durumlarda ARR heterozigot koçların da kullanıldığı "orta dereceli seleksiyon" ve 3- "Ulusal Skrapi Planında" olduğu gibi yalnızca homozigot koçların kullanıldığı "ağır seleksiyon" şeklinde dizayn eden araştırmacılar, ağır seleksiyon koşullarında, incelenen ırklar için akrabalık derecesinin kabul edilemeyecek düzeyde arttığını ( her yıl için  $> 0.5\%$ ), bazı ırklarda orta dereceli seleksiyon simülasyonunun akrabalığı kabul edilebilir düzeyde artırırken bazı ırklarda ise ancak hafif dereceli seleksiyon simülasyonunda akrabalık derecesinin kabul edilebilir düzeyde olduğunu bildirmişlerdir. Araştırmacılar; beş yıl uygulanan program sonucunda orta dereceli seleksiyon ile ulaşılan ARR allel frekansının, ağır seleksiyon ile elde edilenden sadece 8% gibi küçük bir farkı olacağını, hafif seleksiyonda ise bu farkın büyük olacağını bildirmişler, ARR allel frekansının düşük olduğu ırklarda başlangıçta hafif seleksiyon programlarının uygulanmasının daha sonra populasyon büyüklüğüne ve ulaşılan ARR allel frekansına göre seleksiyon yönteminin kademeli olarak orta dereceli ve ağır seleksiyon şeklinde değiştirilmesinin uygun olacağını rapor etmişlerdir.

Molina ve ark. (2006), 3193 baş İspanya Merinosunu genotiplendirmişler, elde ettikleri genotip verilerini kullanarak skrapiye karşı dirençli yetiştiricilik için beş simülasyon üzerinde çalışmışlar, bu simülasyonlar şu şekilde dizayn etmişlerdir: 1- koç ve koyunları genotiplendirerek VRQ alleli ile ARQ/ARQ genotipi taşıyanları sürüden çıkarmak, 2-koçları genotiplendirerek, VRQ alleli taşıyanları sürüden çıkarmak, 3- koçları genotiplendirerek ARQ/ARQ genotipliler ile VRQ alleli taşıyanları sürüden çıkarmak, 4-koçları genotiplendirerek, ARR/ARQ genotipine sahip olanlar dışında, R3, R4 ve R5 risk guruplarına girenlerin hepsini sürüden çıkarmak ve 5- koçları genotiplendirerek R3, R4 ve R5 risk guruplarına girenlerin hepsini sürüden çıkarmak. Araştırmacılar bu simülasyonlarda, VRQ allellerinin tamamen elenmesini, ARQ/ARQ genotip frekansının  $< 0.5\%$  ve ARR/ARR genotip frekansının  $> 90\%$  olmasını hedeflemişlerdir. Yaptıkları değerlendirmede; ikinci simülasyonun en uygun strateji olacağı sonucuna varmışlardır.

Drögemüller ve ark. (2001), Almanya'da çeşitli ırklarda PrP genotiplendirme çalışmaları yapmışlardır. Araştırmacılar, koyunların PrP genotiplerinin bilinmediği, damızlık koçların ise 75% (A), 50% (B) ve 25% (C) ARR/ARR homozigot genotip frekansına sahip olduğu varsayılan üç farklı senaryoda gelecek jenerasyonlarda beklenen ARR/ARR genotip frekanslarını çizelge 2.8'deki gibi tahmin etmişlerdir.

Çizelge 2.8 Farklı simülasyonlarda tahmin edilen ARR/ARR genotip frekansı

Jenerasyon	A 75%	B 50%	C 25%
<b>R1</b>	50.0	50.0	50.0
<b>R2</b>	68.8	62.5	52.5
<b>R3</b>	80.5	71.9	54.9
<b>R4</b>	87.8	78.9	57.1
<b>R5</b>	92.4	84.2	59.3
<b>R6</b>	95.2	88.1	61.3

Portekiz'de yapılan bir genotiplendirme çalışmasında, Ile de France, Merino Branco ve Mondegueira ırklarında ARR allel frekansları sırasıyla 0.808, 0.375 ve 0.07 olarak hesaplanmış, dirençli yetiştiricilik stratejisi için geliştirilen simülasyonda, ARR allellerinin sabitlenerek skrapiye dirençli hatlar oluşturulmasının Ile de France için 4, Merino Branco için 8, en düşük ARR allel frekansına sahip Mondegueira ırkı için ise en az 11 yıl süreceği

hesaplanmıştır (Gama ve ark. 2006). Polonyada yapılan bir çalışmada; Polonya Merinoslarında ARR/ARR genotip frekası 7.1% olarak hesaplanmış, ARQ/ARQ genotipli koçların elenip yalnızca ARR/ARR homozigot koçların kullanıldığı ve koyunların genotipleri göz ardı edilerek yapılan çiftleştirme simülasyonunda, dördüncü jenerasyonda ARR/ARR genotip frekansının 87% oranına ulaşabileceği hesaplanmıştır (Wiśniewska ve ark. 2006). Polonya’da yapılan bir başka çalışmada, Polonya Merinosları ve Polonya dağ koyunlarından oluşan sürüler genotiplendirilmiş, bu iki sürüde ARR ve ARQ olmak üzere iki allel, ARR/ARR, ARR/ARQ ve ARQ/ARQ olmak üzere üç genotip tespit edilmiş, ARR/ARR genotip frekansları Merinoslar koçlar için 0, dağ koyunlarının koçları için 30%, ARR/ARQ ve ARQ/ARQ genotip frekansları ise yine koçlar için sırasıyla 48.42%, 40% ve 14.74%, 30% olarak hesaplanmıştır. Gelecek jenerasyonların taşıyacağı PrP genotipini tahmin etmek için bir simülasyon programı kullanılmıştır. Uygulanan simülasyonda, Polonya Merinosları için ilk çiftleştirmede yalnızca ARR/ARQ genotipli koçları kullanmak mümkün olmuş, Polonya Dağ koyunlarında ise ARR/ARR homozigot koçlar kullanılmış, her iki ırkta da ikinci ve daha sonraki jenerasyonlarda yalnızca ARR/ARR genotipli koçlar kullanılmış, performans özelliklerinin rastgele dağılımını sağlamak için eşleştirme programında koyunların PrP genotipleri dikkate alınmamıştır. Yapılan simülasyonda, bu tür bir eşleştirme programı uygulanarak, Polonya dağ koyunlarının dördüncü jenerasyonda ARR/ARR genotip frekansının teorik olarak 90%’ın üzerine çıkacağı, Polonya Merinoslarında ise beşinci jenerasyonda ARR/ARR frekansının 94.44% olacağı hesaplanmıştır (Wiśniewska ve Mroczkowski 2010).

Skrapiye karşı dirençli yetiştiricilik programları yalnızca Avrupa Birliği ülkelerinde değil, konunun önemi nedeniyle Kuzey Amerika’da da uygulamaya girmiştir.

2001 yılında ABD’de “Ulusal Hızlandırılmış Skrapi Eradikasyon Programı” başlatılmış, programa ayrılan ek bütçe ile birlikte skrapi eradikasyonu için yıllık 18 milyon dolar harcandığı ifade edilmiştir. Ayrıca “Skrapi Sürü Sertifikasyon Programı “ (SGCP ) oluşturulmuş, 2007 yılı itibariyle 1971 sürü programa dahil edilmiş, bu sürülerden 1543’ünün izleme fazı tamamlanmış ve 505 sürü skrapiden ari olarak sertifikalandırılmıştır (Anonim 2007d).

ABD’de, “Ulusal skrapi izleme planı” çerçevesinde, üç genel hedef ortaya konulmuştur. 1-Enfekte koyun ve keçilerin tespit edilmesi, 2-Enfekte hayvanların izinin sürülerek köken aldıkları sürü ve bölgelerin tespit edilmesi, 3-Test ve izleme programları için,

salgın çıkan ya da potansiyel salgın bölgelerinin tespit edilmesi. Bu genel hedeflerin gerçekleştirilebilmesi için yapılacak faaliyetler ise şu şekilde sıralanmıştır:

1-Pasif izleme ve ihbar; Eğitici program ve materyaller vasıtasıyla, hastalık ve hastalıkla ilgili klinik semptomlar, teşhis laboratuvarlarına uygun marazi madde gönderimi gibi konularda, yetiştirici ve veteriner hekimlerin farkındalığını üst seviyeye çıkarmak, bu konuda duyarlılık oluşturmak.

2-Laboratuvar izleme; Nekropsi için getirilmiş tüm yetişkin koyun ve keçilerden, konulan teşhis ne olursa olsun, skrapı teşhisi için uygun doku örnekleri alınması ve halk sağlığı laboratuvarlarında kuduz teşhisi için gelen örneklerin, kuduz negatif çıkması durumunda, skrapı testi için ilgili laboratuvarlara gönderilmesinin sağlanması.

3-Aktif izleme; bu kapsamda, halen yürütülmekte olan, skrapı testi için mezbahalardan örnek toplama uygulamalarını genişletmek. Yüksek risk altındaki hayyalardan skrapı testi için marazi madde alınmasına devam edilmesi ve yıllık değerlendirmeler yaparak bu hayvanlardan marazi madde alındığından emin olmak. Hedeflenen coğrafik alan veya sürülerde skrapı izleme programlarını geliştirmek, enfekte ve enfeksiyon potansiyeli yüksek olan sürülerin sürekli takip altında tutulması. “Skrapı sürü sertifikasyon programı” katılımcılarını da izleme programına dahil etmek ve yıllık olarak resmi makamlarca denetlenmesini sağlamak (Anonim 2010).

ABD’de görülen mevcut skrapı türü için kodon 171 de Arjinin (R) allelleri yönünden seleksiyon yeterli görülmektedir. Bu ülkede 136. ve 171. kodonlardaki allellere direnç seviyesine göre değerler verilmekte, bireyin genetik direnci sahip olduğu allelerin değerleri toplanarak belirlenmektedir. Bu amaçla; 136. Kodon için AA=3, AV=1, VV=0, 171. Kodon için RR=10, RQ=6, QQ=0 olarak puanlandırılmıştır. Örneğin 136AA, 171 QR olan bireyin skrapıye karşı genetik direnci  $3+6=9$  olarak hesaplanmaktadır (Çizelge 2.9). Bu indekse göre; en duyarlı genotipler 1, en dirençli genotipler 13 puana sahiptir (Thomas 2011 ).



Çizelge 2.9 ABD skrapi direnç İndeksi

Kodonlar			Direnç İndeksi	Kodonlar			Direnç İndeksi
136	154	171		136	154	171	
AA	RR	QQ	3	AV	RH	RR	11
AA	RR	QR	9	AV	HH	QQ	1
AA	RR	RR	13	AV	HH	QR	7
AA	RH	QQ	3	AV	HH	RR	11
AA	RH	QR	9	VV	RR	QQ	0
AA	RH	RR	13	VV	RR	QR	6
AA	HH	QQ	3	VV	RR	RR	10
AA	HH	QR	9	VV	RH	QQ	0
AA	HH	RR	13	VV	RH	QR	6
AV	RR	QQ	1	VV	RH	RR	10
AV	RR	QR	7	VV	HH	QQ	0
AV	RR	RR	11	VV	HH	QR	6
AV	RH	QQ	1	VV	HH	RR	10

Dünyada, Avrupa ülkeleri başta olmak üzere, Amerika, Avusturya ve kısmen Asya ülkelerinde PrP yönünden çok sayıda genotiplendirme çalışması yapılmıştır. Çizelge 2.10 a, b, c 'de yapılan genotiplendirme çalışmalarından, Kıta, ülke ve ırk bazında bazı örnekler verilmiştir.

Çizelge 2.10.a Avrupa kıtası ülkelerinde ırklara göre PrP allel dağılımı

İNGİLTERE						
IRK/ALLEL	n	ARR	ARO	ARH	AHQ	VRO
Scottish Bl.Faced		0.31	0.59	0.00	0.08	0.02
Welsh Mountain		0.47	0.22	0.00	0.21	0.10
Swaledale		0.33	0.42	0.00	0.16	0.10
Beulah		0.54	0.35	0.00	0.03	0.08
N.Coun.Cheviot		0.41	0.32	0.03	0.19	0.05
Blue-fc.Leicester		0.62	0.23	0.00	0.15	0.00
Suffolk		0.70	0.28	0.02	0.00	0.00
Texel		0.31	0.18	0.42	0.04	0.05
Charollais		0.47	0.44	0.01	0.00	0.08
<b>Frekans Ort.</b>		<b>0.46</b>	<b>0.34</b>	<b>0.05</b>	<b>0.10</b>	<b>0.05</b>

Arnold ve ark. (2002)

FRANSA						
IRK/ALLEL	n	ARR	ARO	ARH	AHQ	VRO
Basco-Béarnaise	149	0.40	0.60	0.00	0.00	0.00
Berrichon du Cher	95	0.81	0.11	0.00	0.06	0.03
Bizet	53	0.63	0.35	0.00	0.02	0.00
Blanc du Mas.Cent.	120	0.25	0.62	0.00	0.05	0.08
Bleu du Maine	100	0.70	0.05	0.00	0.00	0.25
Caussearde Lot.	106	0.15	0.60	0.00	0.17	0.07
Charmoise	99	0.31	0.50	0.00	0.03	0.16
Corse	152	0.47	0.49	0.00	0.04	0.00
Grivette	68	0.44	0.54	0.00	0.00	0.02
Hampshire	103	0.60	0.38	0.00	0.01	0.02
Ile de France	99	0.69	0.15	0.00	0.00	0.17
Inra401	310	0.36	0.46	0.00	0.07	0.11
Lacaune. milk line	561	0.55	0.43	0.00	0.02	0.01
Lacaune. Gebro L.	99	0.57	0.28	0.00	0.01	0.15
Lacaune. Ovi-T. L.	100	0.40	0.51	0.00	0.03	0.07
Limousine	90	0.41	0.59	0.00	0.00	0.00
Manech blond fc	315	0.17	0.81	0.00	0.01	0.02
Manech black f	122	0.50	0.49	0.00	0.01	0.00
Martinik	50	0.18	0.68	0.00	0.10	0.04
Mérinos d'Arles	99	0.36	0.59	0.00	0.03	0.03
Mérinos de l'Est	91	0.16	0.77	0.00	0.07	0.00
Noire du Velay	55	0.23	0.74	0.00	0.00	0.04
Préalpes du Sud	101	0.44	0.56	0.00	0.00	0.00
Rava	71	0.43	0.53	0.00	0.01	0.04
Rouge de l'Ouest	96	0.67	0.25	0.00	0.00	0.08
Suffolk	98	0.70	0.28	0.00	0.00	0.02
Tara sconnais	97	0.33	0.66	0.00	0.01	0.01
Texel	100	0.27	0.59	0.00	0.05	0.09
Vendéen	101	0.16	0.82	0.00	0.00	0.02
Romanov	1068	0.28	0.33	0.00	0.14	0.26
<b>Frekans Ort.</b>	<b>4768</b>	<b>0.42</b>	<b>0.49</b>	<b>0.00</b>	<b>0.03</b>	<b>0.06</b>

François ve ark. (2002)

ALMANYA						
IRK/ALLEL	n	ARR	ARO	ARH	AHQ	VRO
Alman Texel	912	0.46	0.38	0.06	0.01	0.10
Suffolk	474	0.73	0.26	0.00	0.01	0.00
Alm.Beyazbaş Mut.	271	0.72	0.26	0.00	0.02	0.01
Alm.Siyahbaş Mut.	99	0.83	0.14	0.00	0.00	0.03
Merinoland	1045	0.03	0.82	0.00	0.15	0.00
Merinoland Mlz.	4732	0.25	0.63	0.00	0.12	0.00
Suffolk	578	0.63	0.35	0.01	0.00	0.01
Texel	391	0.35	0.35	0.13	0.01	0.16
Alm.Beyazbaş Mut.	154	0.71	0.27	0.00	0.01	0.01
Alm.Siyahbaş Mut.	150	0.69	0.28	0.00	0.00	0.03
Blue du Maine	21	0.74	0.14	0.00	0.00	0.12
Berrichon du Cher	13	0.73	0.15	0.00	0.00	0.12
Alman Merino	43	0.09	0.83	0.00	0.08	0.00
Merino Longwool	25	0.20	0.76	0.00	0.04	0.00
Alm.Mut. Merino	11	0.50	0.41	0.00	0.09	0.00
Black-brown sütçü	20	0.10	0.80	0.00	0.10	0.00
East Friesian	31	0.10	0.61	0.00	0.29	0.00
Alm. Grey Heath	40	0.21	0.60	0.00	0.19	0.00
White Hom. Heath	7	0.07	0.86	0.00	0.07	0.00
Cameroon sheep	10	0.05	0.00	0.00	0.00	0.95
Gotland sheep	8	0.00	0.69	0.00	0.00	0.31
Pomeranian wool	4	0.25	0.63	0.00	0.13	0.00
<b>Frekans Ort.</b>	<b>9039</b>	<b>0.38</b>	<b>0.46</b>	<b>0.01</b>	<b>0.06</b>	<b>0.08</b>

De Vries ve ark. (2004), Lühken ve ark. (2004), Drögemüller ve ark. (2001)

İTALYA						
IRK/ALLEL	n	ARR	ARO	ARH	AHQ	VRO
Sarda	2494	0.42	0.55	0.00	0.03	0.00
Bergamasca	2686	0.07	0.81	0.01	0.03	0.04
Appenninica	297	0.47	0.42	0.07	0.02	0.01
Massese	361	0.42	0.47	0.02	0.08	0.03
Comisana	402	0.38	0.62	0.00	0.00	0.01
Biellese	1207	0.08	0.74	0.04	0.04	0.07
Valle del Belice	1089	0.3	0.6	0	0.1	0
Comisana	1141	0.39	0.51	0.03	0.03	0.04
Yerli Irklar	1762	0.3	0.59	0.02	0.02	0.04
<b>Frekans Ort.</b>	<b>11439</b>	<b>0.32</b>	<b>0.59</b>	<b>0.02</b>	<b>0.03</b>	<b>0.03</b>

Acutis ve ark. (2004), Van Kaam ve arl. (2008), Pongolini ve ark. (2009)

İSPANYA						
IRK/ALLEL	n	ARR	ARO	ARH	AHQ	VRO
Colmenarena	81	0.34	0.62	0.01	0.01	0.02
Mallorquina	76	0.29	0.53	0.04	0.04	0.11
Rubia de El Molar	79	0.24	0.71	0.04	0.00	0.01
Merino	3193	0.30	0.66	0.02	0.03	0.00
<b>Frekans Ort.</b>	<b>3429</b>	<b>0.29</b>	<b>0.63</b>	<b>0.03</b>	<b>0.02</b>	<b>0.04</b>

Alvarez ve ark. (2009), Molina ve ark. (2006)

İRLANDA						
IRK/ALLEL	n	ARR	ARO	ARH	AHQ	VRO
Çeşitli ırklar	2564	0.49	0.37	0.04	0.04	0.06

O'doherty ve ark. (2002)

Çizelge 2.10.a

NORVEÇ						
IRK/ALLEL	n	ARR	ARQ	ARH	AHQ	VRQ
Rygja	98	0.34	0.42	0.02	0.05	0.14
Steigar	53	0.34	0.48	0.07	0.05	0.07
Dala	38	0.37	0.43	0.04	0.04	0.04
Spel	51	0.22	0.61	0.00	0.12	0.01
<b>Frekans Ort.</b>	240	0.32	0.49	0.03	0.06	0.06

Tranulis ve ark. (1999)

PORTEKİZ						
IRK/ALLEL	n	ARR	ARQ	ARH	AHQ	VRQ
Bordaleira EDM	62	0.25	0.64	0.02	0.04	0.05
Churra Badana	60	0.23	0.73	0.01	0.03	0.00
Galega Bragancana	60	0.13	0.82	0.02	0.01	0.03
Gale. Mirandesa	60	0.15	0.75	0.00	0.07	0.03
Churra Ter.Quente	60	0.18	0.81	0.01	0.00	0.01
Serra da Estrela	64	0.40	0.55	0.02	0.02	0.01
Mondegueira	66	0.07	0.91	0.02	0.00	0.00
Merino B. Baixa	59	0.22	0.70	0.00	0.02	0.07
Saloia	62	0.24	0.66	0.01	0.07	0.02
Merino Branco	60	0.38	0.56	0.01	0.05	0.01
Merino Preto	59	0.36	0.52	0.02	0.01	0.10
Campanica	60	0.11	0.75	0.03	0.00	0.12
Churra Algarvia	58	0.23	0.69	0.00	0.07	0.01
Merino Precoce	59	0.39	0.57	0.00	0.04	0.00
Ile de France	60	0.81	0.04	0.00	0.00	0.15
Assaf	63	0.24	0.66	0.03	0.07	0.00
<b>Frekans Ort.</b>	972	0.27	0.65	0.01	0.03	0.04

Gama ve ark. (2006)

SLOVENYA						
IRK/ALLEL	n	ARR	ARQ	ARH	AHQ	VRQ
Jezerko-Solcava	3669	0.17	0.63	0.08	0.07	0.04
Jezerko-Solcava	10429	0.17	0.63	0.08	0.07	0.04
Gelişt. J.-Solcava	15054	0.2	0.70	0	0.1	0.04
Bela Kraji. pramenka	1297	0.4	0.6	0	0	0
Texel	555	0.53	0.26	0.12	0.05	0.04
Bovec	5101	0.17	0.57	0.08	0.17	0.01
Gelişt.Bovec	1711	0.22	0.50	0.03	0.25	0.01
Istrian pramenka	1936	0.33	0.57	0.00	0.08	0.03
<b>Frekans Ort.</b>	39752	0.26	0.56	0.05	0.10	0.03

Gorjanc ve ark. (2008), Gorjanc ve ark (2010)

SLOVAKYA						
IRK/ALLEL	n	ARR	ARQ	ARH	AHQ	VRQ
Valachian	35	0.66	0.23	0.10	0.00	0.01

Vasicek ve ark. (2010)

YUNANİSTAN						
IRK/ALLEL	n	ARR	ARQ	ARH	AHQ	VRQ
Anogeiano	31	0.50	0.32	0.02	0.00	0.16
Kalarritiko	31	0.44	0.48	0.00	0.06	0.02
Karagouniko	30	0.43	0.50	0.00	0.03	0.03
Kefallinias	31	0.23	0.63	0.00	0.10	0.05
Kymi	31	0.47	0.29	0.02	0.23	0.00
Lesvos	31	0.24	0.60	0.10	0.07	0.00
Orino	30	0.40	0.50	0.00	0.10	0.00
Piliorritiko	31	0.53	0.35	0.02	0.06	0.03
Sfakia	31	0.52	0.37	0.00	0.05	0.06
Skopelos	31	0.23	0.29	0.06	0.27	0.15
<b>Frekans Ort.</b>	308	0.40	0.43	0.02	0.10	0.05

Lühken ve ark. (2008)

MACARİSTAN						
IRK/ALLEL	n	ARR	ARQ	ARH	AHQ	VRQ
Cikta	31	0.19	0.68	0.00	0.13	0.00
Hung. Merino	31	0.32	0.60	0.02	0.05	0.00
Hung. Tsiagia	29	0.32	0.53	0.00	0.04	0.10
Racka	30	0.28	0.45	0.03	0.23	0.00
<b>Frekans Ort.</b>	121	0.28	0.57	0.01	0.11	0.03

Lühken ve ark. (2008)

POLONYA						
IRK/ALLEL	n	ARR	ARQ	ARH	AHQ	VRQ
Gorska	31	0.40	0.53	0.00	0.07	0.00
Kamieniec	31	0.51	0.35	0.05	0.03	0.05
Polish Merino	31	0.58	0.40	0.00	0.00	0.02
Pomorska	30	0.40	0.40	0.05	0.07	0.08
Wrzosowka	31	0.40	0.40	0.00	0.19	0.00
Zelazna	31	0.47	0.44	0.00	0.05	0.05
Ile de France	93	0.84	0.04	0.00	0.00	0.12
Berrichon du Cher	52	0.88	0.06	0.00	0.07	0.00
Suffolk	22	0.64	0.27	0.00	0.07	0.02
Polish Merino (1)	49	0.51	0.48	0.00	0.00	0.01
Polish Merino (2)	21	0.26	0.74	0.00	0.00	0.00
Polish Merino (3)	98	0.38	0.63	0.00	0.00	0.02
Polish Merino (3)	99	0.61	0.39	0.00	0.00	0.00
Pol. Mount. Sheep	20	0.50	0.50	0.00	0.00	0.00
<b>Frekans Ort.</b>	639	0.53	0.40	0.01	0.04	0.03

Wiśniewska ve ark. (2006), Lühken ve ark. (2008), Wiśniewska ve Mroczkowski (2009), Wiśniewska ve Mroczkowski S (2010)

ROMANYA						
IRK/ALLEL	n	ARR	ARQ	ARH	AHQ	VRQ
Karakul	31	0.13	0.87	0.00	0.00	0.00
Romanian Merino	31	0.42	0.50	0.05	0.00	0.03
Romanian Tsigaiia	31	0.44	0.50	0.02	0.03	0.02
Turcana	31	0.37	0.55	0.00	0.02	0.07
<b>Frekans Ort.</b>	124	0.34	0.61	0.02	0.01	0.03

Lühken ve ark. (2008)

Çizelge 2.10.b Amerika ve Avustralya kıtası ülkelerinde ırklara göre PrP allel dağılımı

IRK/ALLEL	n	ABD				
		ARR	ARQ	ARH	AHQ	VRQ
Yapağı Tipi Mlz						
Irklar	16	0.53	0.41	0.00	0.03	0.00
Et Tipi Mlz Irklar	114	0.55	0.43	0.00	0.00	0.00
Kıl Tipi Mlz Irklar	63	0.33	0.61	0.01	0.01	0.00
Suffolk	128	0.59	0.40	0.00	0.00	0.00
Montadale	47	0.29	0.49	0.00	0.00	0.14
Hampshire	91	0.47	0.53	0.00	0.00	0.00
Dorset	62	0.29	0.63	0.00	0.00	0.00
Bilinmeyen Irklar	233	0.61	0.32	0.00	0.00	0.04
<b>Frekans Ort.</b>	<b>754</b>	<b>0.46</b>	<b>0.48</b>	<b>0.00</b>	<b>0.01</b>	<b>0.02</b>

DeSilva ve ark. (2003)

IRK/ALLEL	n	KANADA				
		ARR	ARQ	ARH	AHQ	VRQ
Canadian Arcott	28	0.60	0.30	0.00	0.02	0.07
Dorset	142	0.53	0.41	0.00	0.01	0.06
Hampshire	40	0.36	0.63	0.00	0.00	0.01
Polypay	97	0.53	0.47	0.00	0.01	0.00
Rideau Arcott	52	0.45	0.53	0.00	0.02	0.00
Romanov	57	0.29	0.67	0.00	0.00	0.04
Suffolk	84	0.49	0.49	0.00	0.00	0.01
<b>Frekans Ort.</b>	<b>500</b>	<b>0.46</b>	<b>0.50</b>	<b>0.00</b>	<b>0.01</b>	<b>0.03</b>

L'Homme ve ark.(2008)

IRK/ALLEL	n	BREZİLYA				
		ARR	ARQ	ARH	AHQ	VRQ
Brazilian Bergamasca	46	0.21	0.72	0.00	0.08	0.00
Corriedale	300	0.39	0.60	0.00	0.02	0.00
Morada Nova	162	0.20	0.78	0.00	0.02	0.01
Pantanal Creole	192	0.34	0.54	0.00	0.11	0.01
Brazilian Fat Tail	116	0.12	0.86	0.00	0.02	0.00
Santa Inês	412	0.25	0.54	0.00	0.17	0.04
Brazilian Somali	47	0.09	0.91	0.00	0.00	0.00
Corriedale	10	0.45	0.25	0.00	0.20	0.10
Dâmara	10	0.10	0.90	0.00	0.00	0.00
Dorper	30	0.15	0.75	0.00	0.00	0.10
Hampshire	24	0.48	0.50	0.00	0.00	0.02
Ile de France	24	0.65	0.19	0.00	0.00	0.17
Suffolk	27	0.33	0.63	0.00	0.00	0.04
<b>Frekans Ort.</b>	<b>1400</b>	<b>0.29</b>	<b>0.63</b>	<b>0.00</b>	<b>0.05</b>	<b>0.04</b>

Ianella ve ark. (2008)

IRK/ALLEL	n	AVUSTRALYA				
		ARR	ARQ	ARH	AHQ	VRQ
Merinos	39	0.23	0.67	0.00	0.08	0.03
Pol Dorset	293	0.53	0.34	0.00	0.00	0.13
<b>Frekans Ort.</b>	<b>332</b>	<b>0.38</b>	<b>0.50</b>	<b>0.00</b>	<b>0.04</b>	<b>0.08</b>

Hunter ve ark. (1998)

IRK/ALLEL	n	YENİ ZELLANDA				
		ARR	ARQ	ARH	AHQ	VRQ
Coopworth	193	0.28	0.38	0.00	0.16	0.18
Correidale	48	0.31	0.52	0.06	0.06	0.04
Melez Irklar	58	0.34	0.38	0.10	0.16	0.02
Merino	300	0.23	0.58	0.15	0.04	0.01
Romney	621	0.32	0.52	0.02	0.12	0.02
Romney Melezleri	620	0.37	0.45	0.01	0.11	0.05
Texel	247	0.35	0.57	0.00	0.07	0.02
Carwell	152	0.49	0.39	0.03	0.00	0.09
(Finn x Texel) x						
Coopworth	337	0.32	0.34	0.04	0.15	0.15
Bilinmeyen Irklar	2524	0.36	0.48	0.02	0.10	0.05
Romney	140	0.47	0.42	0.00	0.07	0.03
<b>Frekans Ort.</b>	<b>5240</b>	<b>0.35</b>	<b>0.46</b>	<b>0.04</b>	<b>0.09</b>	<b>0.06</b>

Lee ve ark. (2007)

Çizelge 2.10.c Asya kıtası ülkelerinde ırklara göre PrP allel dağılımı

İRAN						
IRK/ALLEL	n	ARR	ARQ	ARH	AHQ	VRQ
İran Yerel koyunu	250	0.22	0.68	0.10	0.00	0.01
Lori-Bakhtiari	40	0.06	0.85	0.09	0.00	0.00
Shal	39	0.01	0.88	0.05	0.00	0.00
Zandi	39	0.01	0.78	0.10	0.00	0.00
<b>Frekans Ort.</b>	<b>368</b>	<b>0.08</b>	<b>0.80</b>	<b>0.08</b>	<b>0.00</b>	<b>0.00</b>

Frootan ve ark. (2011),Karami ve ark. (2011)

İSRAİL						
IRK/ALLEL	n	ARR	ARQ	ARH	AHQ	VRQ
Lokal İvesi	197	0.07	0.76	0.14	0.03	0.00
Geliştirilmiş İvesi	15	0.07	0.93	0.00	0.00	0.00
Assaf	110	0.06	0.86	0.00	0.08	0.00
<b>Frekans Ort.</b>	<b>322</b>	<b>0.06</b>	<b>0.85</b>	<b>0.05</b>	<b>0.03</b>	<b>0.00</b>

Gootwine ve ark. (2008)

FİLİSTİN						
IRK/ALLEL	n	ARR	ARQ	ARH	AHQ	VRQ
Lokal İvesi	69	0.17	0.67	0.12	0.03	0.00
Geliştirilmiş İvesi	29	0.03	0.71	0.26	0.00	0.00
<b>Frekans Ort.</b>	<b>98</b>	<b>0.10</b>	<b>0.69</b>	<b>0.19</b>	<b>0.01</b>	<b>0.00</b>

Gootwine ve ark. (2008)

ÜRDÜN						
IRK/ALLEL	n	ARR	ARQ	ARH	AHQ	VRQ
Lokal İvesi	62	0.14	0.74	0.12	0.00	0.00

Gootwine ve ark. (2008)

SUDİ ARABİSTAN						
IRK/ALLEL	n	ARR	ARQ	ARH	AHQ	VRQ
Heri	29	0.19	0.78	0.04	0.00	0.00
Naemi	31	0.19	0.76	0.04	0.00	0.02
Najdi	31	0.31	0.63	0.07	0.00	0.00
<b>Frekans Ort.</b>	<b>91</b>	<b>0.23</b>	<b>0.72</b>	<b>0.05</b>	<b>0.00</b>	<b>0.01</b>

Lühken ve ark. (2008)

PAKİSTAN						
IRK/ALLEL	n	ARR	ARQ	ARH	AHQ	VRQ
Buchi	35	0.00	1.00	0.00	0.00	0.00
Kachi	30	0.00	1.00	0.00	0.00	0.00
Kajli	52	0.07	0.91	0.02	0.00	0.00
Sipli	41	0.00	0.82	0.00	0.18	0.00
Thalli	40	0.00	1.00	0.00	0.00	0.00
Hissardale	20	0.18	0.83	0.00	0.00	0.00
Pak-karakuL	19	0.18	0.82	0.00	0.00	0.00
Awassi	21	0.02	0.98	0.00	0.00	0.00
<b>Frekans Ort.</b>	<b>258</b>	<b>0.06</b>	<b>0.92</b>	<b>0.00</b>	<b>0.02</b>	<b>0.00</b>

Babar ve ark. (2009)

MOĞOLİSTAN						
IRK/ALLEL	n	ARR	ARQ	ARH	AHQ	VRQ
Khalkhas	87	0.13	0.77	0.09	0.01	0.01

Tsunoda ve ark. (2010)

NEPAL						
IRK/ALLEL	n	ARR	ARQ	ARH	AHQ	VRQ
Bhyanglung	42	0.00	0.89	0.07	0.04	0.00
Baruwal	39	0.00	0.86	0.14	0.00	0.00
Kagi	41	0.00	0.93	0.05	0.02	0.00
Lampuchhre	27	0.02	0.93	0.06	0.00	0.00
<b>Frekans Ort.</b>	<b>149</b>	<b>0.00</b>	<b>0.90</b>	<b>0.08</b>	<b>0.01</b>	<b>0.00</b>

Tsunoda ve ark. (2010)

ÇİN HALK CUMHURİYETİ						
IRK/ALLEL	n	ARR	ARQ	ARH	AHQ	VRQ
Tan	50	0.13	0.78	0.09	0.00	0.00
Tong	34	0.03	0.90	0.07	0.00	0.00
Wadi	30	0.08	0.85	0.07	0.00	0.00
<b>Frekans Ort.</b>	<b>114</b>	<b>0.08</b>	<b>0.84</b>	<b>0.08</b>	<b>0.00</b>	<b>0.00</b>

Tsunoda ve ark. (2010)

VİETNAM						
IRK/ALLEL	n	ARR	ARQ	ARH	AHQ	VRQ
Vietnamese	32	0.00	1.00	0.00	0.00	0.00

Tsunoda ve ark. (2010)

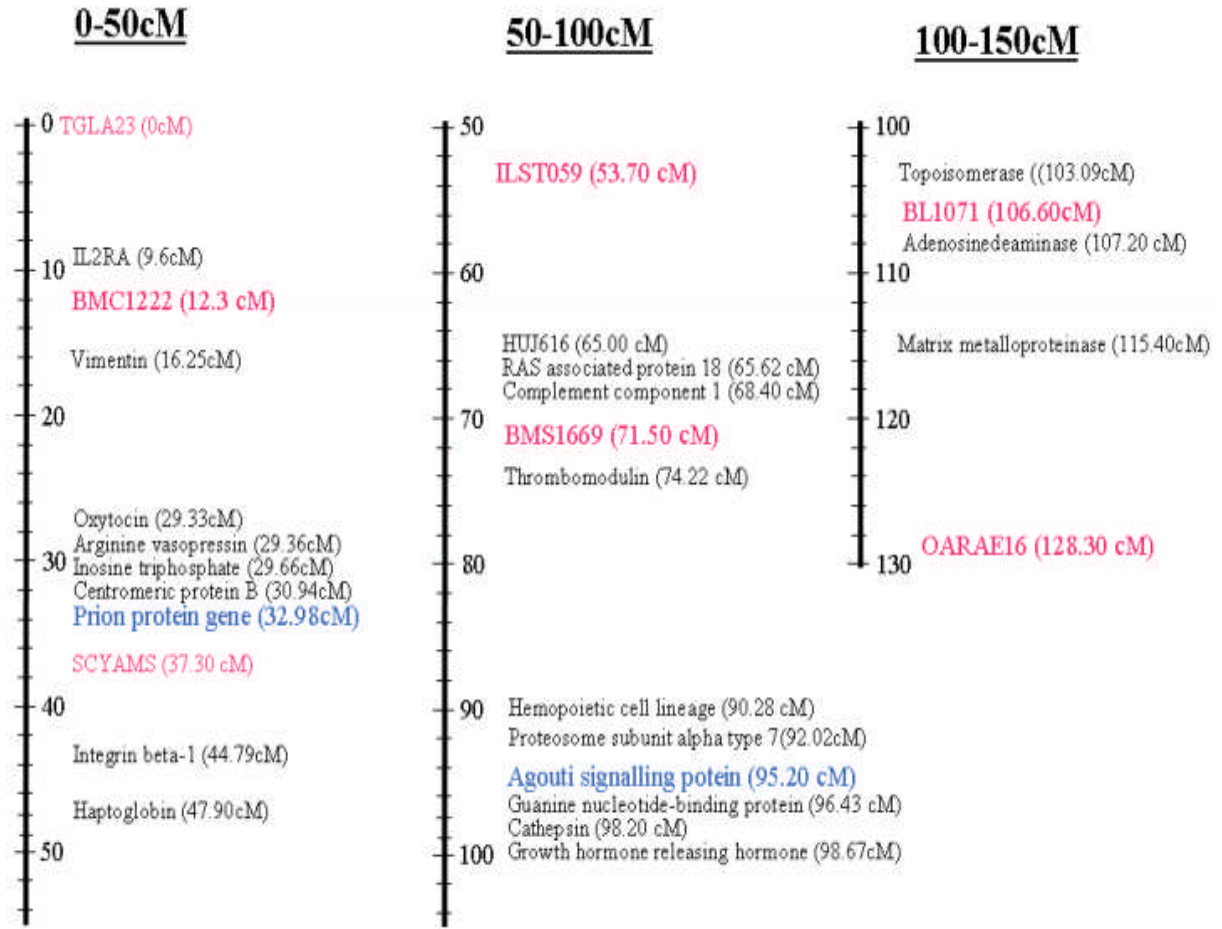
JAPONYA						
IRK/ALLEL	n	ARR	ARQ	ARH	AHQ	VRQ
Suffolk	39	0.19	0.73	0.06	0.00	0.01
Cheviot	21	0.07	0.43	0.02	0.48	0.00
Corriedale	82	0.21	0.48	0.07	0.02	0.21
<b>Frekans Ort.</b>	<b>142</b>	<b>0.16</b>	<b>0.55</b>	<b>0.05</b>	<b>0.17</b>	<b>0.07</b>

Tsunoda ve ark. (2010)

### 2.7.10 Dirençli yetiştiricilik programlarının muhtemel dezavantajları

Skrapiye karşı genetik olarak dirençli yetiştiricilik programlarının, göz ardı edilemeyecek bir takım dezavantajları da beraberinde getireceği yönünde kaygılar gündeme gelmiştir. Bunlardan en önemlisi, özellikle lokal ve nadir ırklarda genetik çeşitliliğin azalacağı yönündedir. Bir diğer dezavantaj ise, skrapi etkeninin tam olarak tanımlanamayan doğası gereği gelecekte modifiye olarak, şu anda hastalığa genetik olarak dirençli kabul edilen ARR/ARR genotilerinde enfeksiyon oluşturma yeteneği kazanabileceği şeklindedir. İngiltere Tarım Bakanlığı (DEFRA), bu dezavantajları göz önüne alarak “Ulusal Skrapi Planı Semen Arşivi”ni hayata geçirmiştir. Bu uygulama kapsamında her ırktan, skrapiye karşı duyarlı olan VRQ/VRQ, ARQ/ARQ, AHQ/AHQ ve ARH/ARH genotipine sahip ve birbirleriyle akraba olmayan 20’şer koç olmak üzere toplam 80 koçtan, yeterli sayıda homozigot koç olmaması durumunda ise bahsedilen allelleri taşıyan 40’ar heterozigot koçtan sperma alınarak muhafaza edilmesi amaçlanmıştır (Anonim 2003a, Diepen ve ark. 2007).

Diğer bir dezavantaj PrP yönünde yapılacak seleksiyonun diğer üreme ve verim performansları üzerine yapabileceği negatif etkidir. Bu etki çeşitli şekillerde olabilir. Örneğin PrP yönünde yapılacak seleksiyonun, kuzuların yaşama gücü, büyüme performansı veya koyunlarda analık davranışları üzerine direkt etkisi olabilir. Başka bir şekilde, bazı performans özelliklerini kontrol eden bir gen, 13. kromozom üzerindeki *PRNP* geni ve PrP lokusu ile bağlantılı olabilir ve bu gendeki spesifik allellerin kalıtımı PrP allelleri ile beraber şekillenebilir. Böylece, bağlantılı gendeki istenen alleller ile PrP lokusundaki istenmeyen allellerin kalıtımının birlikte olması (linkaj) ihtimali doğar. Koyunlarda 13. kromozom üzerindeki kantitatif özellik lokusları (QTL) şekil 2.8’de gösterilmiştir (Sweeney ve Hanrahan 2008). Bir diğer yol ise, PrP seleksiyonunun, istenilen özellikler yönündeki seleksiyon baskısının yönünü değiştirmesi şeklinde olabilir. Bu durumda, performans özelliklerinde azalma olmasa da seleksiyonda kaydedilen genetik ilerleme yavaşlar (Dawson ve ark. 2008).



Şekil 2.8 Koyunlarda 13. kromozom üzerindeki genler ve kantitatif özellik (QTL) lokusları.

PrP genotipleri ile üreme ve verim özellikleri arasında muhtemel bağlantıları tespit etmek için çok sayıda araştırma yapılmıştır. Sweeney ve Hanrahan (2008), PrP genotipleri ve verim özellikleri üzerine 2008 yılına kadar yapılan çalışmalarını derleyerek mevcut ilişkileri göstermişlerdir (çizelge 2.11.a, b, c, d, e).

Çizelge 2.11.a PrP genotipi ve bir batındaki yavru sayısı arasındaki ilişki.

<b>IRK</b>	<b>Araştırmanın Tarihi</b>	<b>Önemlilik Derecesi</b>
Belclare	2007	Ö.D.
Cheviot	2005	Ö.D.
Coburg Fox	2006	Ö.D.
Columbia	2005	Ö.D.
Commercial western white-faced	2005	P < 0,01
East Friesian Milk Sheep	2005	Ö.D.
East Friesian Milk Sheep	2006	Ö.D.
Gary Horned Heath	2006	Ö.D.
German Black-Headed Mutton	2004	Ö.D.
German Black-Headed Mutton	2006	Ö.D.
Hampshir	2005	Ö.D.
INRA 401 sheep	2005	Ö.D.
INRA 401 sheep	2006	Ö.D.
Lacaune	2005	Ö.D.
Manchega	2005	Ö.D.
Merinoland	2006	Ö.D.
Rambouillet	2005	Ö.D.
Rasa Arogonesa	2005	Ö.D.
Rhoen	2006	Ö.D.
Ripollesa	2007	P < 0,05
Shropshire	2006	Ö.D.
Suffolk	2004	Ö.D.
Suffolk	2005	P < 0,01
Suffolk	2006	Ö.D.
Suffolk	2005	Ö.D.
Texel	2004	Ö.D.
Texel	2004	P < 0,05
Texel	2006	Ö.D.
Texel-Booroola	2005	Ö.D.

Ö.D. İstatistiksel olarak önemli değil.



Çizelge 2.11.b PrP genotipi ve kuzu büyüme özellikleri arasındaki ilişki.

IRK	Araştırmanın Tarihi	Doğum Ağırlığı	Sütten Kesim Ağırlığı	Kasaplık Ağırlığı
Blanc du Massif Central	2005	-	Ö.D.	-
Charollais	2006	-	Ö.D.	-
Charollais	2008	Ö.D.	Ö.D.	-
Cheviot	2006	Ö.D.	-	-
Columbia	2005	Ö.D.	Ö.D.	-
Commercial western white-faced	2005	Ö.D.	Ö.D.	-
Dorset	2006	Ö.D.	Ö.D.	Ö.D.
Dorset	2006	P < 0,01	-	-
German Black-Headed Mutton	2004	Ö.D.	P < 0,05	-
German White-Headed Mutton	2004	Ö.D.	Ö.D.	-
Hampshire	2005	Ö.D.	Ö.D.	-
Île-de-France	2005	-	Ö.D.	-
Lacaune	2005	Ö.D.	-	-
Manchega	2005	Ö.D.	-	-
Préalpes du Sud	2005	-	Ö.D.	-
Rambouillet	2005	Ö.D.	Ö.D.	-
Ripollesa sheep	2007	Ö.D.	Ö.D.	-
Romanov	2006	Ö.D.	Ö.D.	Ö.D.
Scottish Blackface	2007	P < 0,05	Ö.D.	P < 0,05
Suffolk	2002	-	Ö.D.	-
Suffolk	2005	Ö.D.	Ö.D.	-
Suffolk	2001	Ö.D.	Ö.D.	-
Suffolk	2006	Ö.D.	-	-
Suffolk	2008	Ö.D.	Ö.D.	-
Swaledale	2006	Ö.D.	P < 0,05	Ö.D.
Texel	2004	-	P < 0,05	Ö.D.
Texel	2005	Ö.D.	Ö.D.	Ö.D.
Texel	2004	Ö.D.	-	-
Texel	2008	Ö.D.	Ö.D.	-

Ö.D. İstatistiksel olarak önemli değil.

Çizelge 2.11.c PrP genotipi ve konformasyon arasındaki ilişki.

IRK	Araştırmanın Tarihi	Konfor- masyon skoru	Kas Derinliği	Yağ Derinliği
Blanc du Massif Central	2005	-	Ö.D.	Ö.D.
Charollais	2008	Ö.D.	Ö.D.	-
Charollais	2006	-	P < 0,05	Ö.D.
Dorset	2006	Ö.D.	Ö.D.	Ö.D.
German Black-Headed Mutton	2004	Ö.D.	P < 0,05	Ö.D.
German White-Headed Mutton	2004	Ö.D.	Ö.D.	Ö.D.
Île-de-France	2005	-	Ö.D.	Ö.D.
INRA 401	2007	Ö.D.	Ö.D.	Ö.D.
Préalpes-du-Sud	2005	-	Ö.D.	Ö.D.
Romanov	2006	Ö.D.	Ö.D.	Ö.D.
Scottish Blackface	2007	Ö.D.	Ö.D.	Ö.D.
Suffolk	2002	-	Ö.D.	Ö.D.
Suffolk	2004	P < 0,05	Ö.D.	Ö.D.
Suffolk	2001	-	Ö.D.	Ö.D.
Suffolk	2008	Ö.D.	P < 0,05	Ö.D.
Texel	2004	Ö.D.	Ö.D.	Ö.D.
Texel	2008	Ö.D.	Ö.D.	Ö.D.
Texel-Booroola	2005	Ö.D.	Ö.D.	Ö.D.

Ö.D. İstatistiksel olarak önemli değil.

Çizelge 2.11.d PrP genotipi ve karkas kompozisyonu arasındaki ilişki.

IRK	Araştırmanın Tarihi	Kas Ağırlığı	Yağ Ağırlığı	İç Yağ ağırlığı
Romanov	2006	Ö.D.	Ö.D.	Ö.D.
Dorset	2006	Ö.D.	Ö.D.	Ö.D.
INRA 401	2007	-	-	Ö.D.
Scottish Blackface	2007	Ö.D.	Ö.D.	Ö.D.

Ö.D. İstatistiksel olarak önemli değil.

Çizelge 2.11.e PrP genotipi ve süt verim özellikleri arasındaki ilişki.

IRK	Araştırmanın Tarihi	Süt Verimi	Süt Yağı	Süt Proteini
Churra	2006	Ö.D.	Ö.D.	Ö.D.
Lacaune	2002	Ö.D.	Ö.D.	Ö.D.
East Friesian Milk Sheep	2006	Ö.D.	Ö.D.	Ö.D.
Sardinian	2007	Ö.D.	-	-

Ö.D. İstatistiksel olarak önemli değil.

Swalha ve ark. (2007), İskoçya siyah başlı koyunlarında yaptıkları bir çalışmada, yabani tip ARQ alleli taşıyan kuzuların yaşama gücünün ARR ve AHQ alleli taşıyanlara göre daha yüksek olduğunu, ARQ alleli ve yaşama gücü arasındaki bu bağlantının, koyun popülasyonlarında ARQ allel frekansının neden diğer allellere göre daha yüksek olduğunu açıkladığını rapor etmişlerdir.

Şimdiye kadar yapılan çalışmalarda, PrP genotipleri ve bazı verim özellikleri arasında birtakım ilişkiler gözlenmiş olsa da, bu ilişkilerin çok güçlü olmadığı, ancak PrP allelleri ile hastalık ve yaşama gücü arasındaki ilişkiler üzerine yapılan çalışmaların çok az olduğu, 13. kromozom üzerindeki bazı genlerin programlı hücre ölümü, fagositoz ve immun regülasyon gibi fonksiyonlarda görev aldığı düşünüldüğünde, PrP genotipleri ile bakteriyal, viral ve paraziter hastalıklara karşı direnç arasındaki bağlantıların ortaya çıkarılabilmesi için daha fazla araştırmaya ihtiyaç olduğu söylenebilir (Sweeney ve Hanrahan 2008).

### 2.7.11 Atipik skrapı (Nor98)

Atipik skrapı ilk olarak, 1998 yılında Norveç’de izole edilmiştir. Histopatolojik özellikleri klasik skrapiden farklı, Western blot analizlerinde, bilinen hiçbir BSE ve skrapı tipine benzemeyen glikotipik özellikler sergileyen bu etken, izole edildiği ülke ve izolasyon yılına atfen, “Nor98” olarak tanımlanmıştır. Araştırmacılar, atipik skrapı teşhisi koydukları koyunların, klasik skrapıye karşı dirençli kabul edilen genotiplere sahip olduğunu rapor etmişlerdir (Benestad ve ark. 2003).

Bu durum bilim dünyasının ilgisini çekmiş ve araştırmacıların bu konuya yoğunlaşmalarına neden olmuştur. İlerleyen yıllarda Almanya ve Fransa (Buschmann ve ark. 2004), Belçika (De Bosschere ve ark. 2004), İsveç (Gavier-Widén ve ark. 2004), İngiltere (Everest ve ark. 2006), İsviçre (Nentwig ve ark. 2007), ABD (Loiacono ve ark. 2009),

İspanya (Rodríguez-Martínez ve ark. 2010) gibi birçok ülkede atipik skrapı vakaları rapor edilmiştir.

Yapılan araştırmalarda, sürü hareketleri ve hasta hayvanlarla direkt temasın atipik skrapının bulaşmasında rolü olduğuna ilişkin herhangi bir bulguya rastlanmamıştır. Nor98'in doğal koşullarda, çok düşük de olsa bulaşabilme özelliğinin olabileceği, bu ihtimalin göz ardı edilmemesi gerektiği belirtilmesine karşın, atipik skrapının, muhtemelen sporadik CJD hastalığı gibi bir etiyolojiye sahip, bulaşıcı olmayan, spontane vakalar halinde görülen bir hastalık olduğu yönünde görüşler vardır (Hopp ve ark. 2006, Benestad ve ark. 2008, Fediaevsky ve ark. 2009).

Espinosa ve ark. (2009), yaptıkları deneysel bulaştırma çalışmalarında; domuz prion proteini sentezleyen transgenik farelerin, farklı genotipteki koyunlardan izole edilmiş ve farklı biyokimyasal özelliklere sahip birçok skrapı izolatına direnç gösterdiğini, beklenilmeyen bir biçimde yalnızca atipik (Nor98) skrapı izolatlarının bu farelerde enfeksiyon oluşturabildiğini, üstelik atipik skrapı izolatlarının transgenik farelerde yeni özellikler kazandığını, buna göre, atipik skrapı ajanının konakçı tarafından sentezlenen PrP veya diğer genetik farklılıklara bağlı olarak farklı fenotipler sergileyebileceğini rapor etmişlerdir.

### **2.7.12 Atipik skrapı ve genetik direnç**

Nor98 ajanının westernblot analizlerinde hem klasik skrapiden hem de BSE bulaştırılmış küçük ruminantlardakinden farklı profiller sergilediğini, klasik skrapiden etkilenen koyunların genellikle 2-5 yaş arasında ve duyarlı genotiplere sahipken, Nor98' in 4 yaş üzeri ve özellikle AHQ, AF<sub>141</sub>RQ ve ARR alleller ile 141. kodonda lösin ile beraber ARR ve/veya ARQ (AL<sub>141</sub>RQ) haplotipi taşıyan hayvanlarda görüldüğü, genellikle sürülerde tek vakalar halinde rastlandığı bildirilmiştir. Yapılan genotiplendirme çalışmalarında Atipik skrapı ajanının daha çok klasik skrapıye karşı dirençli genotiplerde görüldüğü ortaya konulmuştur (Lühken ve ark. 2007, Benestad ve ark. 2008).

Norveç'de yapılan bir araştırmada, 38 baş atipik skrapılı koyunun 20'sinde (%52.6), 141. kodonda homozigot veya heterozigot durumda fenilalalin (F) bulunduğu, bu koyunların ait olduğu sürülerdeki sağlıklı koyunlarda bu allelin varlığının yalnızca %10.5, mezbahalarda kesilen koyunlarda yapılan tesadüfi örneklemelelerde ise % 4.5 olduğu tespit edilmiştir. Buna ek olarak, 38 koyundan 24'ünde (%63.2), 154. kodonda Histidin (H) tespit edilirken, bu sürülerdeki sağlıklı koyunlarda ve mezbahalarda yapılan tesadüfi örneklemelelerde H varlığı sırasıyla %27 ve %17 olarak bulunmuştur (Moum ark. 2005).

Moreno ve ark. (2007), 148 atipik skrapi vakasını 136, 141, 154 ve 171. kodonlara göre genotiplendirmişlerdir (Çizelge 2.12 ). Yapılan araştırmada; AFRQ ve ALHQ haplotiplerinin diğer tüm haplotiplere göre yaklaşık 8 ile 14 kat daha fazla atipik skrapi riski barındırdığını hesaplanmıştır.

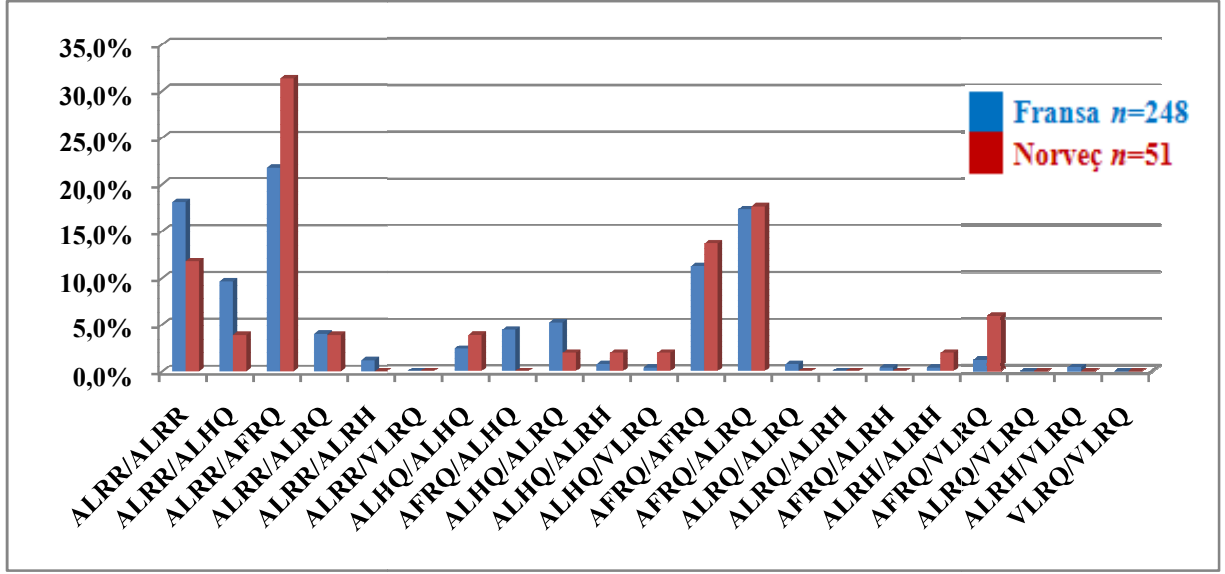
Çizelge 2.12 Atipik skrapi ile ilişkili alleller (Moreno ve ark. 2007)

Haplotip	Atipik Skrapi	Kontrol Grubu	Risk Durumu
ALRQ	27	37.165	1.00
VLRQ	3	6.898	0.60
ALRH	3	4.678	0.90
ALRR	42	43.083	1.30
AFRQ	56	5.452	<b>14.10</b>
ALHQ	17	2.911	<b>8.00</b>

Saunders ve ark. (2006), atipik skrapi ile enfekte (n=69), klasik skrapi ile enfekte (n=59) ve sağlıklı koyunlardan oluşan kontrol grubunu (n=138) karşılaştırmışlar, bu guruplarda heterozigot L141F polimorfizminin sırası ile %20.3, %6.8, %5.1 ve homozigot L141F polimorfizminin sırası ile %8.7, %0 ve %0.7 olduğunu bildirmişlerdir.

Atipik skrapi üzerinde şimdiye kadar yapılan çalışmalarda; 141. kodondaki Lösin →Fenilalalin değişimi ile 154. kodonda homozigot veya heterozigot Histidin varlığının atipik skrapiye karşı genetik dirençle doğrudan ilişkili olduğu ortaya konulmuştur (Moum ark. 2005, Saunders ve ark. 2006, Benestad ve ark. 2008).

Fransa ve Norveç’de, tespit edilen atipik skrapi vakaları genotiplere göre guruplandırılmış sonuçlar şekil 2.9 gösterilmiştir (Arsac ve ark. 2007, Fediaevsky ve ark. 2010).



Şekil 2.9 Atipik skrapı teşhis edilen koyunlarda PrP genotip frekansları

Fediaevsky ve ark. (2009), Fransa’da, 136, 141, 154 ve 171. kodonlara göre PrP genotiplerini gruplandırarak atipik skrapı için risk seviyelerini belirlemişlerdir (çizelge 2.13).

Çizelge 2.13 Atipik skrapı risk grupları.

Gurup	PrP genotipi	Risk seviyesi
1	ALRR/ALRQ, ALRR/VLRQ, ALRQ/ALRQ, ALRQ/ALRH, ALRQ/VLRQ	0
2	ALRR/ALRR, ALRR/ALRH, VLRQ/VLRQ	1
3	ALHQ/ALRH, ALHQ/VLRQ, AFRQ/ALRH, ALRH/ALRH, AFRQ/VLRQ, ALRH/VLRQ	2
4	ALRR/ALHQ, ALRR/AFRQ, ALHQ/ALRQ, AFRQ/ALRQ	3
5	ALHQ/ALHQ, ALHQ/AFRQ, AFRQ/AFRQ	4

### 3. MATERYAL ve YÖNTEM

#### 3.1 Materyal

Evcilleştirilmiş ilk koyun ırklarından olan Merinos, dünya çapında koyunculunun geliştirilmesi için en çok kullanılmış ırktır. İlk olarak nerede yetiştirildiği kesin olarak bilinmeyen Merinos koyunu, Avrupa ve diğer kıtalara İspanya'dan dağılmış, bu yüzden İspanya koyunu veya İspanya merinosu olarak adlandırılmıştır. Bu ırkın meşesi'nin Afrika kıtası olduğu yönünde görüşlerin yanı sıra, Merinos koyununun eski zamanlarda Anadolu'da Menderes vadisinde, Milet'de yetiştirildiğini ve İspanya'ya buradan gittiğini kabul edenler de vardır (Sezenler ve Özder 2009).

Karacabey Merinosu, 1934 yılında ülkemize ithal edilen Alman yapağıcı-etçi Merinos koçları kullanılarak, yerli kıvırcık koyunlar ile çevirme melezlemesi yapılarak elde edilmiştir. Yapılan melezleme ve seleksiyon çalışmaları neticesinde, %90-95 oranında Alman yapağıcı-etçi Merinosu, %5-10 Kıvırcık genotipine sahip, ince kuyruklu, orta cüsseli, kaliteli yapağı ve karkas özelliklerine sahip Karacabey Merinosu ırkı ortaya çıkmıştır. (Sezenler ve Özder 2009, Sönmez ve ark. 2009).

Bu çalışmanın hayvan materyalini Bandırma Koyunculuk Araştırma İstasyonu'nda yetiştiriciliği yapılan ve "Ülkesel Merinos Geliştirme Projesi" kapsamında damızlık olarak kullanılan 93 baş Karacabey Merinosu koç ve erkek toklu oluşturmuştur. Her bir koçun *vena jugularis*inden EDTA'lı tüpler içerisine 10'ar ml kan örneği alınmış, laboratuvar aşamasında kullanılıncaya kadar -20 °C'de muhafaza edilmiştir.

#### 3.2 Yöntem

##### 3.2.1 DNA izolasyonu

İzolasyonun aşamasında EDTA'lı tüplerdeki kan örnekleri çözdürüldükten sonra Qiagen marka Q-51104 katalog numaralı Qiaamp DNA Blood Mini kit kullanılarak DNA ekstraksiyonu gerçekleştirilmiştir. DNA ekstraksiyonunda aşağıdaki adımlar izlenmiştir.

-1.5ml'li mikrosantrifüj tüpüne 20 µl proteinaz-K pipetlenmiş,

-Üzerine 200 µl tam kan ve 200 µl Buffer AL eklenerek 15 sn pulse modunda vortekslenmiştir.

-56°C 'de 10 dk inkubasyondan sonra, tüpler kısa süreli santrifüj edilmiş, karışıma 200 µl etanol eklenerek pulse modunda 15 sn vortekslenmiş, tüplerin kapaklarının iç kısmındaki damlacıkları gidermek için tekrar kısa süreli santrifüj edilmiştir.

-Elde edilen karışım QIAmp mini spin klonlara aktarılmış ve 8000 rpm'de 1 dk santrifüj edilmiş, altta biriken filtrat atılmıştır.

-Mini spin klonlara 500 µl Buffer AW1 eklenerek tekrar 8000 rpm'de 1 dk santrifüj edilmiş, altta biriken filtrat atılmıştır.

-Spin klonlara 500 µl Buffer AW2 ilave edilerek 14.000 rpm'de 3 dk boyunca santrifüj edilmiştir.

-Spin klonlar temiz 1,5 ml'li mikrosantrifüj tüplerine alınarak 200 µl Buffer AE ilave edilmiş, oda sıcaklığında 1 dk inkübe edildikten sonra 8000 rpm'de 5 dk santrifüj edilerek izole edilen DNA'nı filtrata geçmesi sağlanmış, örnek DNA'ları içeren filtrat PCR işlemine kadar -20°C'de muhafaza edilmiştir.

### 3.2.2 PCR İşlemi

Polimeraz zincir reaksiyonu (Polymerase Chain reaction-PCR) ilk olarak 1984 yılında, Kary B. Mullis tarafından, yıllık Cetus bilimsel toplantısında bir poster sunumu ile bilim dünyasına tanıtılmıştır (Mullis 1990). Eseri miktarlardaki nükleik asit varlığının tespitine olanak sağlayan teknik sonraki yıllarda dünya çapında kabul görmüş, birçok alanda rutin metod haline gelmiş ve 1993 yılında araştırmacıya Nobel Kimya ödülünü kazandırmıştır (Evans 2009). PCR işlemi, çoğaltılmak istenilen ve kalıp görevi gören DNA molekülü, bu moleküle uygun dizayn edilmiş forward ve reverse primerler, deoksinükleotidler, termostabil DNA polimeraz enzimleri ve magnezyumlu reaksiyon tamponları kullanılarak üç basamakta istenilen DNA bölgesinin çoğaltılması esasına dayanmaktadır (Mullis 1990, Gönülalp 2008, Evans 2009).

İlk aşamada; hedef DNA'yı içeren reaksiyon karışımı, DNA zincirlerinin ayrılması için 90°C ve üzerine ısıtılır. Bu sıcaklıkta memeli ve bakteriyal enzimlerin çoğu denatüre olur. Ancak sıcaklığa dayanıklı termofil bakterilerden elde edilen Taq, Pfu ve Vent polimeraz gibi enzimler bu sıcaklıkları tolare edebilmektedir. İkinci aşamada; karışım soğutulur özel dizayn edilmiş sentetik primerlerin kalıp DNA'ya her iki uçtan bağlanması sağlanır. Üçüncü aşamada ise, taq polimerazın en yüksek aktivite gösterdiği 72°C'ye ısıtılarak bu enzim aracılığıyla nükleotid baz eklenerek primerlerin uzaması ve yeni DNA kopyası oluşturması sağlanır. Bu aşamalar defalarca tekrarlanır ve otuz siklus sonunda hedef DNA bölgesinin yaklaşık 1 milyar kopyası elde edilmiş olur (Brownstein 2004, King ve ark. 2006).



Bu çalışmada PCR işlemiyle çoğaltılacak olan *PrP* kodlama bölgesi (Gen-Bank ulaşım numarası AF195247 nükleotid 8-752'den) için Un ve ark. (2007)'nin dizayn ettiği primer dizileri kullanılmıştır.

Forward primer: 5'-AAAGCCACATAGGCAGTTG-3'

Reverse primer: 5'-AATGAGGAAAGAGATGAGGAG-3'

PCR işlemi için, 3 µl (50-100 ng) genomik DNA, 14,9 µl 1x Mg<sup>+2</sup> siz reaksiyon bufferi, 2 µl MgCl<sub>2</sub> (2,5 mM), 0,1 µl dNTP, 1 µl (10 µM) primer ve 0,2 µl 1U Taq polimeraz'dan oluşan karışım 25 µl'lik eppendorf tüplerde içerisinde ve DNA Thermal Cycler 9700 (Applied Biosystems) cihazında gerçekleştirilmiştir. İşlem sıcaklıkları ve süreleri, denatürasyon aşamasında 94°C'de 2 dk, 30 siklus boyunca 94°C'de 1 dk, primer bağlanması için 57°C'de 1 dk, DNA uzaması için 72°C'de 1 dk ve son döngü sonunda 72°C'de 10 dk bekleme şeklinde düzenlenmiştir.

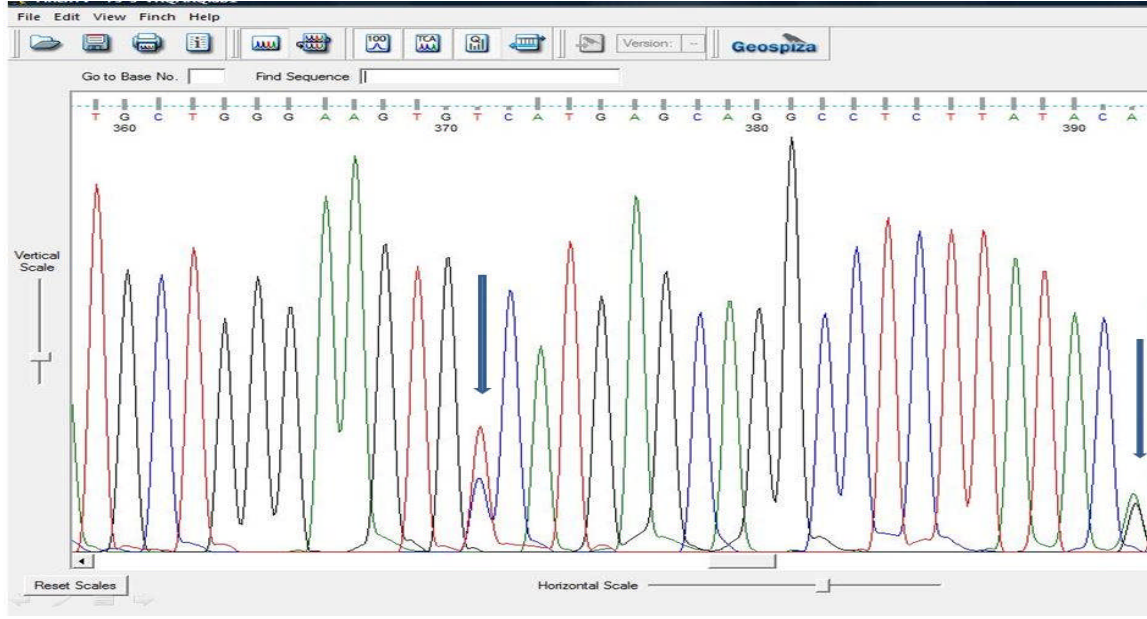
PCR ürünleri %2'lik agaroz jelde 150 V'de 25 dk yürütülmüş ve UV ışığı altında görüntülenmiştir.

### 3.2.3 DNA Dizi Analizi

Dizi analizi ilk olarak Sanger ve Coulson (1975) tarafından tarif edilmiştir. *E. coli* ve bakteriyofajların DNA polimerazları kullanılarak uygulanan yöntem araştırmacılar tarafından "plus and minus" metodu olarak adlandırılmıştır. Takip eden yıllarda farklı yöntemlerle dizin analizi teknikleri geliştirilmiş, arkeoloji, antropoloji, genetik, biyoteknoloji, moleküler biyoloji ve adli tıp gibi pek çok disiplinde kullanım alanı bulmuştur (França ve ark. 2002).

Dizin analizi işlemleri, laboratuvarımızda Dizi analizi cihazı bulunmaması nedeniyle Refgen şirketinden hizmet satın alımı yoluyla yapılmıştır. *PRNP* genine ait yaklaşık 800bp uzunluğundaki *PRNP* genini kodlayan bölge dizin analizine tabii tutulmuştur.

Dizi analizi sonuçları FinchTV V.1.4.0 (<http://www.geospiza.com/Products/finchtv.shtml>) programı ile değerlendirilmiş, 136, 154 ve 171. kodonlarda nükleotid değişimleri izlenerek polimorfizmler saptanmıştır (Şekil 3.1).



Şekil 3.1 FinchTv Programında koyun *PRNP* geni dizilerinin görüntülenmesi (Polimorfizm tespit edilen noktalar ok işareti ile gösterilmiştir).

136, 154 ve 171. Kodonlar dışında, ek polimorfizmler için MEGA 5 yazılımı (<http://www.megasoftware.net/mega.php>) kullanılarak polimorfizmler direkt tespit edilmiştir (Şekil 3.2).

Species/Abbrv	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
1. 223-9-ARRARR	G	A	C	C	A	G	T	G	G	A	T	C	G	G	T	A	T	A	G	T	A	A	C	C	A	G	A	A	C	A	A	C	T	T	T	G	T
2. 225-9-ARRARR	G	A	C	C	A	G	T	G	G	A	T	C	G	G	T	A	T	A	G	T	A	A	C	C	A	G	A	A	C	A	A	C	T	T	T	G	T
3. 242-9-ARRARR	G	A	C	C	A	G	T	G	G	A	T	C	G	G	T	A	T	A	G	T	A	A	C	C	A	G	A	A	C	A	A	C	T	T	T	G	T
4. 322-9-ARRARR	G	A	C	C	A	G	T	G	G	A	T	C	G	G	T	A	T	A	G	T	A	A	C	C	A	G	A	A	C	A	A	C	T	T	T	G	T
5. 453-9-ARRARR	G	A	C	C	A	G	T	G	G	A	T	C	G	G	T	A	T	A	G	T	A	A	C	C	A	G	A	A	C	A	A	C	T	T	T	G	T
6. 844-8-ARRARR	G	A	C	C	A	G	T	G	G	A	T	C	G	G	T	A	T	A	G	T	A	A	C	C	A	G	A	A	C	A	A	C	T	T	T	G	T
7. 910-8-ARRARR	G	A	C	C	A	G	T	G	G	A	T	C	G	G	T	A	T	A	G	T	A	A	C	C	A	G	A	A	C	A	A	C	T	T	T	G	T
8. 976-8-ARRARR	G	A	C	C	A	G	T	G	G	A	T	C	G	G	T	A	T	A	G	T	A	A	C	C	A	G	A	A	C	A	A	C	T	T	T	G	T
9. 5-9-ARRARQ	G	A	C	C	A	G	T	G	G	A	T	C	A	G	T	A	T	A	G	T	A	A	C	C	A	G	A	A	C	A	A	C	T	T	T	G	T
10. 7-9-ARRARQ	G	A	C	C	A	G	T	G	G	A	T	C	A	G	T	A	T	A	G	T	A	A	C	C	A	G	A	A	C	A	A	C	T	T	T	G	T
11. 47-9-ARRARQ	G	A	C	C	A	G	T	G	G	A	T	C	G	G	T	A	T	A	G	T	A	A	C	C	A	G	A	A	C	A	A	C	T	T	T	G	T
12. 54-9-ARRARQ	G	A	C	C	A	G	T	G	G	A	T	C	G	G	T	A	T	A	G	T	A	A	C	C	A	G	A	A	C	A	A	C	T	T	T	G	T
13. 65-9-ARRARQ	G	A	C	C	A	G	T	G	G	A	T	C	A	G	T	A	T	A	G	T	A	A	C	C	A	G	A	A	C	A	A	C	T	T	T	G	T
14. 70-9-ARRARQ	G	A	C	C	A	G	T	G	G	A	T	C	G	G	T	A	T	A	G	T	A	A	C	C	A	G	A	A	C	A	A	C	T	T	T	G	T

Şekil 3.2 Mega5 programında *PRNP* geni dizilerinin karşılaştırılması.

Polimorfizmlerin ve ek polimorfizmlerin belirlenmesinde Vaccari ve ark. (2001)'nın Sarda ırkı koyunlarda belirlediği *PRNP* dizisi (Gen Bank erişim no: AF195247 ) esas alınmıştır. Heterozigot polimorfizmler, FinchTv programında polimorfik noktadaki pikler takip edilerek, homozigot polimorfizmler ise *PRNP* geni baz dizisinde baz dizilimleri 20'şerli guruplar halinde sıra ile kopyalanıp Mega 5 programında align edilmiş 93 örnekle karşılaştırılarak tespit edilmiştir.

### 3.3 İstatiksel analizler

Genotipik frekanslar genotiplerin doğrudan sayılması ile aşağıdaki formüle göre hesaplanmıştır.

$$f = n_{ij} / N$$

$n_{ij}$ : ij genotipine sahip hayvanların sayısını,  $N$  toplam hayvan sayısını ifade etmektedir.

Allel frekansları yine aynı şekilde allellerin doğrudan sayımı ile hesaplanmıştır.

Populasyonun Hardy-Weinberg eşitliğine uyup uymadığı genetix v4.05 (<http://www.genetix.univ-montp2.fr/genetix/constr.htm>) programı ile test edilmiştir.

## 4. ARAŞTIRMA BULGULAR VE TARTIŞMA

### 4.1 Allel ve Genotip Frekansları

Bu araştırmada, Karacabey Merinoslarında, *PRNP* genindeki 136, 154 ve 171. kodonlara göre ARR, ARQ ve VRQ olmak üzere üç allel tespit edilmiştir. Allel frekansları sırasıyla ARR alleli için 0.280, ARQ alleli için 0.677 ve VRQ alleli için 0.043 olarak hesaplanmıştır (Çizelge 4.1).

Çizelge 4.1 Karacabey Merinoslarında PrP allellerinin frekansları

PrP Alleli	n	Allel Frekansı
ARR	52	0.28
ARQ	126	0.677
VRQ	8	0.043

Belirlenen bu üç allelin kombinasyonları şeklinde, ARR/ARR, ARR/ARQ, ARQ/ARQ, VRQ/ARR ve VRQ/ARQ olmak üzere toplam beş adet genotip tespit edilmiştir. Genotip frekansları sırasıyla 0.086, 0.376, 0.452, 0.011 ve 0.075 olarak hesaplanmıştır (Çizelge 4.2).

Çizelge 4.2 Karacabey Merinoslarında PrP genotip frekansları ve risk gurupları

Risk Grubu	PrP Genotipi	n	Frekans
R1	ARR/ARR	8	0.086
R2	ARR/ARQ	35	0.376
R3	ARQ/ARQ	42	0.452
R4	VRQ/ARR	1	0.011
R5	VRQ/ARQ	7	0.075

Genetix programında yapılan hesaplamada, populasyonun Hardy-Weinberg eşitliğine göre dengede olduğu ( $P < 0.001$ ) görülmüştür.

İncelenen örnekler risk guruplarına göre şu şekilde sıralanmıştır: Skrapieye karşı genetik olarak dirençli olan 1. ve 2. gurup 46%, skrapieye karşı az dirence sahip 3. gurup 45% ve skrapieye son derece duyarlı olan 4. ve 5. gurup 9% (Çizelge 4.3).

Çizelge 4.3 Karacabey Merinoslarında skrapie risk gurupları

<b>Risk Gurubu</b>	<b>PrP Genotipi</b>	<b>Frekans</b>
R1-R2	ARR/ARR, ARR/ARQ	46%
R3	ARQ/ARQ	45%
R4-R5	VRQ/ARR, VRQ/ARQ	9%

Karacabey Merinosunun elde edilmiş sürecinde ana hattı olarak kullanılan Kıvırcık ırkında yapılan çalışmalarda bulunan PrP allel ve genotip frekansları çizelge 4.4 ve 4.5’de gösterilmiştir.

Çizelge 4.4 Kıvırcık koyunlarında tespit edilen PrP allel frekansları.

<b>Yapılan Çalışma/ PrP Alleli</b>	<b>ARR</b>	<b>ARQ</b>	<b>ARH</b>	<b>AHQ</b>	<b>VRQ</b>	<b>TRQ</b>	<b>ARK</b>	<b>VRH</b>
<b>Ün ve ark. (2007) n=44</b>	0.420	0.511	0.000	0.000	0.034	0.034	0.000	0.000
<b>Oner ve ark. (2011) n=142</b>	0.172	0.566	0.197	0.056	0.004	0.000	0.004	0.000
<b>Özkan ve ark. (2011) n=41</b>	0.275	0.525	0.070	0.075	0.075	0.000	0.000	0.010
<b>Frekans Ort.</b>	<b>0.289</b>	<b>0.534</b>	<b>0.089</b>	<b>0.044</b>	<b>0.038</b>	<b>0.011</b>	<b>0.001</b>	<b>0.003</b>

Karacabey Merinoslarının ana hattını oluşturan Kıvırcık ırkında, şimdiye kadar yapılan çalışmalarda (Ün ve ark.2007, Oner ve ar. 2011, Özkan ve ark. 2011) ARR, ARQ, ARH, AHQ, VRQ, TRQ, ARK ve VRH olmak üzere sekiz PrP alleli tespit edilirken, bizim çalışmamızda sadece üç PrP allel tespit edilmiştir. Kıvırcık ırkında rastlanan ARH ve AHQ

allelere ile nadir bulunan TRQ, ARK ve VRH allellere Karacabey Merinoslarında rastlanmamıştır. Yabancı tip PrP alleli olan ARQ allellinin, dünyada genelinde olduğu gibi, hem Kıvırcık hem de Karacabey Merinoslarında baskın allel olduğu görülürken; dirençle ilişkili ARR allel frekansının, Ün ve ark.(2007) yaptığı çalışmada Karacabey Merinoslarından yüksek, Özkan ve ark. (2011) yaptığı çalışmada neredeyse aynı, Oner ve ark. (2011) yaptığı çalışmada ise Karacabey Merinoslarından düşük olduğu, skrapiye duyarlılıkla ilgili VRQ alleli frekansının ise hem Kıvırcık hem de Karacabey Merinoslarında 0.004 ile 0.075 arasında olduğu görülmektedir.

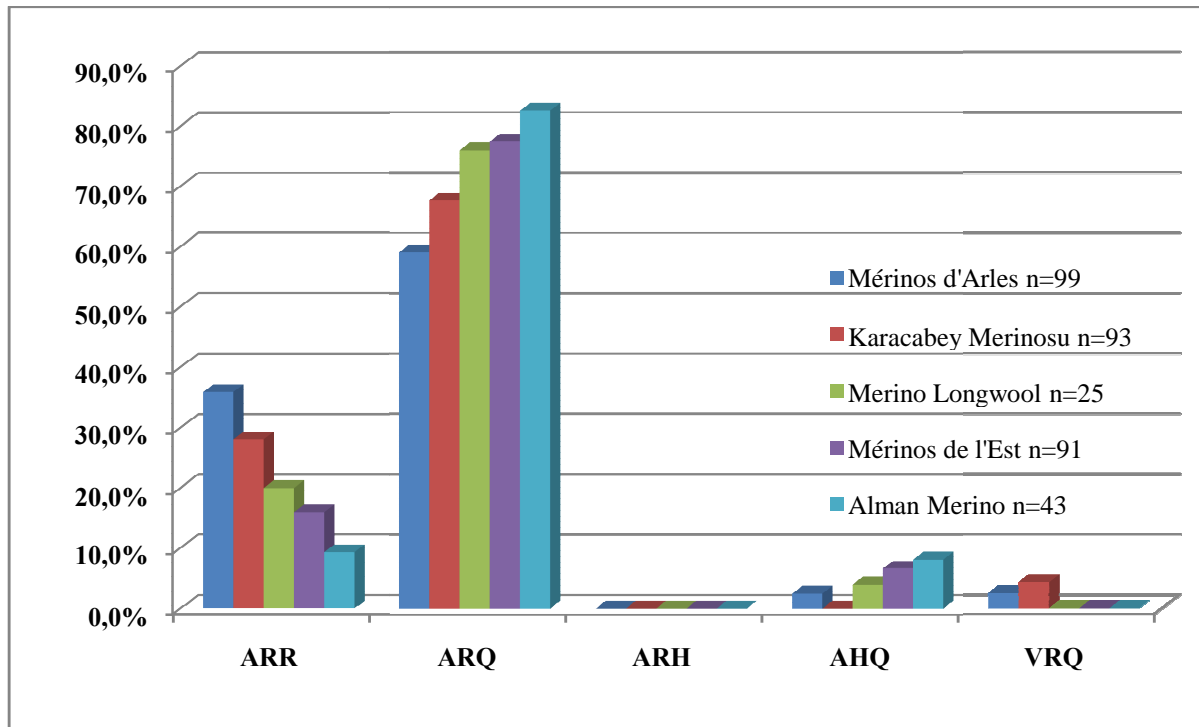
Çizelge 4.5 Kıvırcık koyunlarında tespit edilen PrP genotip frekansları.

Yapılan Çalışma/ PrP Genotipi	Direnç Gurubu	Ün ve ark. (2007)	Oner ve ark. (2011)	Özkan ve ark. (2011)	Frekans Ort.
<b>ARR/ARR</b>	1	0.136	0.014	0.200	<b>0.117</b>
<b>ARR/AHQ</b>	2	0.000	0.014	0.000	<b>0.005</b>
<b>ARR/ARQ</b>	2	0.454	0.246	0.150	<b>0.283</b>
<b>ARR/ARH</b>	2	0.000	0.056	0.000	<b>0.019</b>
<b>AHQ/AHQ</b>	3	0.000	0.000	0.050	<b>0.017</b>
<b>ARQ/AHQ</b>	3	0.000	0.078	0.050	<b>0.043</b>
<b>AHQ/ARH</b>	3	0.000	0.021	0.000	<b>0.007</b>
<b>ARH/ARH</b>	3	0.000	0.063	0.050	<b>0.038</b>
<b>ARQ/ARH</b>	3	0.000	0.190	0.020	<b>0.070</b>
<b>ARQ/ARQ</b>	3	0.272	0.303	0.390	<b>0.322</b>
<b>ARR/VRQ</b>	4	0.045	0.000	0.000	<b>0.015</b>
<b>ARQ/VRQ</b>	5	0.022	0.007	0.050	<b>0.026</b>
<b>VRQ/VRQ</b>	5	0.000	0.000	0.020	<b>0.007</b>
<b>ARR/TRQ</b>		0.068	0.000	0.000	<b>0.023</b>
<b>ARQ/ARK</b>		0.000	0.007	0.000	<b>0.002</b>
<b>ARH/VRH</b>		0.000	0.000	0.020	<b>0.007</b>

PrP genotipleri açısından bakıldığında; Türkiye’de şimdiye kadar yapılan çalışmalarda, Kıvırcık ırkında ARR/ARR, ARR/AHQ, ARR/ARQ, ARR/ARH, AHQ/AHQ, ARQ/AHQ, AHQ/ARH, ARH/ARH, ARQ/ARH, ARQ/ARQ, ARR/VRQ, ARQ/VRQ, VRQ/VRQ, ARR/TRQ, ARQ/ARK, ARH/VRH olmak üzere 16 genotip tespit edilirken bizim yaptığımız çalışmada ARR/ARR, ARR/ARQ, ARQ/ARQ, VRQ/ARR ve VRQ/VRQ olmak üzere beş PrP genotipi tespit edilmiştir.

Kıvırcık ve Karacabey Merinosları direnç seviyelerine göre karşılaştırıldığında; Kıvırcık ırkında skrapiye dirençli gurubun oranı 42.4%, az dirence sahip gurubun oranı 49.7% ve duyarlı gurubun oranı 0.05% iken, Karacabey Merinoslarında direnç guruplarının sırasıyla 46%, 45% ve 9% olduğu, dirençli ve az dirençli gurupların frekaslarının bu iki ırkta birbirine yakın, duyarlı gurubu frekansının ise Karacabey Merinoslarında daha yüksek olduğu görülmektedir.

Avrupa ülkelerinde uygulamaya giren skrapiye karşı dirençli yetiştiricilik programlarının henüz başladığı yıllarda, Fransa'da Mérinos d'Arles, Mérinos de l'Est ve Almanya'da Merinoland, Alman Merino, Merino Longwool gibi Merinos kökenli ırklarda yapılan genotiplendirme çalışmalarında elde edilen PrP allel frekansları şekil 4.1'de verilmiştir (Drögemüller ve ark. 2001, François ve ark. 2002).

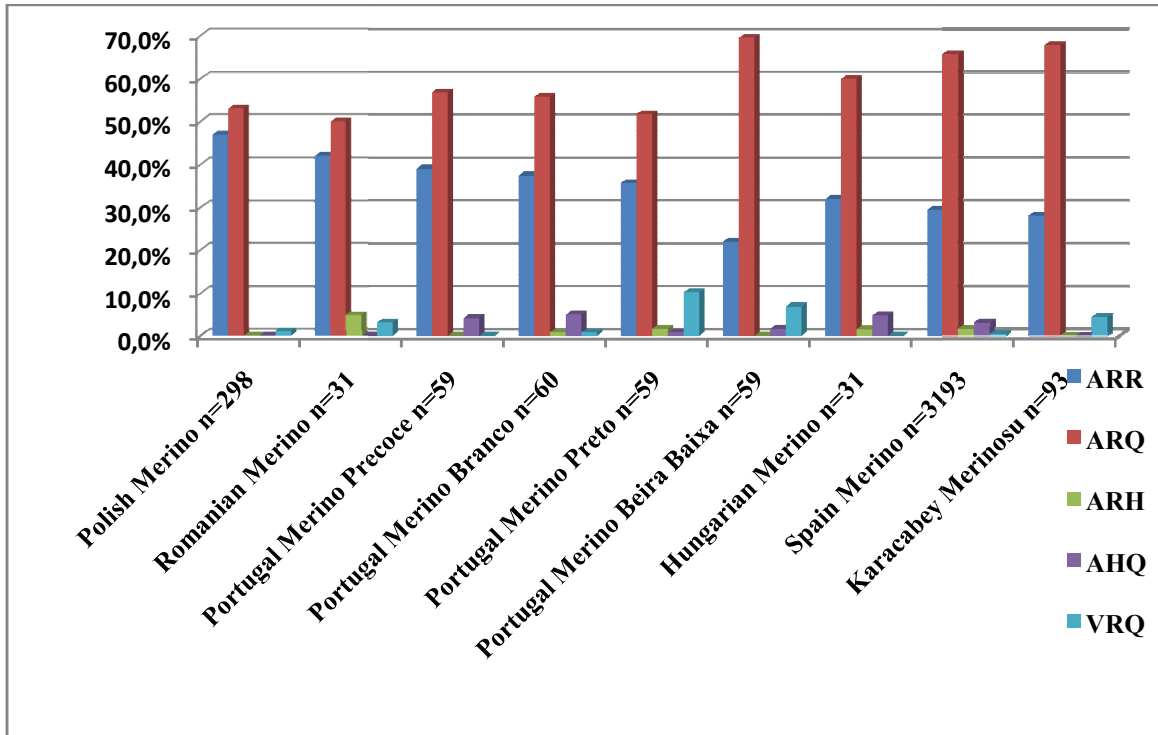


Şekil 4.1 Fransa ve Almanya'da yetiştirilen Merinos kökenli ırklar ile Karacabey Merinoslarının PrP allel dağılımı yönünden karşılaştırılması.

Grafikte görüleceği üzere, ARR allel frekansı açısından Karacabey Merinosu, Mérinos d'Arles den sonra ikinci sıradadır. ARQ alleli tüm ırklarda baskın allel iken, duyarlılıkla ilişkili VRQ allel frekansının en yüksek Karacabey Merinosunda olduğu görülmektedir. ARH

alleli bu ırklardan hiç birinde bulunmazken, AHQ alleli yalnızca Karacabey Merinoslarında tespit edilmemiştir.

Skrapieye dirençli yetiştiricilik programlarının başlatılıp belirli bir mesafe katedildiği 2006 ve daha sonraki yıllarda İspanya, Portekiz, Macaristan, Polonya ve Romanya’da yine Merinos kökenli ırklarda tespit edilen PrP allel frekansları şekil 4.2’de verilmiştir (Wiśniewska ve ark. 2006, Molina ve ark. 2006, Gama ve ark. 2006, Lühken ve ark. 2008, Wiśniewska ve Mroczkowski 2009, Wiśniewska ve Mroczkowski 2010).



Şekil 4.2 Bazı Avrupa ülkelerinde yetiştirilen Merinos kökenli ırkların 2006 yılı ve sonrasına ait PrP allel profili.

Grafik incelendiğinde, Portekiz’in Merino Beira Baixa ırkı hariç tutulursa en düşük ARR allel frekansı Karacabey Merinoslarında görülmektedir. Bunun sebebinin, Avrupa Birliği Ülkelerinde uygulanan, skrapieye karşı dirençli yetiştiricilik programlarının doğal sonucu olduğunu söylemek mümkündür. Portekiz’in Merino Preto ırkında VRQ allelinin diğer ırklara göre nispeten daha yüksek frekansa sahip olduğu, geri kalan ırklarda VRQ, ARH ve AHQ alellerinin ya hiç bulunmadığı, ya da çok düşük frekanslarda bulunduğu görülmektedir. Bu çalışmalara göre; skrapieye dirençli yetiştiricilik programlarına rağmen



Avrupada yetiştirilen Merinos kökenli ırklarda baskın PrP allelinin hala ARQ olduğu söylenebilir.

İncelenen örnekler açısından bakıldığında, Karacabey Merinoslarının *PRNP* geni yönünden ne baba hattı, ne de ana hattında görülen allel ve genotip çeşitliliğine sahip olmadığı görülmektedir.

Ülkemizde Karacabey Merinosunun saf yetiştiriciliği, Karacabey Tarım İşletmesi ve yeni ismi ile Bandırma Koyunculuk Araştırma İstasyonu'nda yapılmaktadır. Yetiştirici elinde bulunan Karacabey Merinosları bu işletmelerin halka sattığı damızlıklardan köken almaktadır. Karacabey Merinosu bu iki işletmede 50 yıldan uzun süredir kapalı sürüler halinde yetiştirilmektedir, dolayısı ile bu sürülerde kan yakınlığının arttığı ve buna bağlı olarak PrP allelleri bakımından genetik çeşitliliğin azaldığını öngörmek mümkündür.

Çalışmanın yapıldığı Bandırma Koyunculuk Araştırma İstasyonu'nda yetiştirilen melez sürülerde yapılan bir başka araştırmada, Siyah başlı Alman Merinosu X Kıvrıkcık, Hampshire down X Karacabey Merinosu, Rambouillet X Dağlıç (Ramlıç) melezi koyunlarda PrP genotiplendirilmesi yapılmış, ana hattı Karacabey merinosu olan Hampshire down X Karacabey Merinosu melezlerinde, ARR, ARQ ve ARL olmak üzere üç allel ve ARR/ARR, ARR/ARQ, ARQ/ARQ ve ARL/ARL olmak üzere dört genotip tespit edilmiştir (Gönülalp 2008).

Skrapiye karşı dirence dayalı yetiştiricilik, özellikle Avrupa Birliği Ülkelerinde ve Amerika Birleşik Devletlerinde genel kabul görmüş hükümetlerin hayvancılık politikaları arasında kendisine yer bulmuştur. Avrupa Birliği Ülkelerinden İngiltere ve Fransa başta olmak üzere bir çoğunda skrapiye karşı dirence dayalı yetiştiriciliğin kriterleri belirlenmiş, devlet ve sivil toplum kuruluşlarının desteği ile skrapiye karşı koruma ve kontrol programları oluşturularak uygulamaya konulmuştur.

Ülkemizde, skrapiye karşı dirence dayalı yetiştiricilik bağlamında henüz herhangi bir adım atılmamış olup, koyun ırklarımızın PrP genotip profilinin belirlenmesine yönelik sınırlı sayıda araştırma mevcuttur. Türkiye'de, PrP genotiplendirilmesi ile ilgili şimdiye kadar yapılmış olan araştırmaların sonuçları çizelge 4.6 ve çizelge 4.7'de özetlenmiştir (Un ve ark. 2007, Gönülalp 2008, Lühken ve ark. 2008, Oner ve ark. 2011, Alvarez ve ark. 2011, Özkan ve ark. 2011, Frootan ve ark. 2011).

Çizelge 4.6 Türkiye’de incelenen ırklarda PrP allel dağılımı

IRKLAR	PrP ALELLERİ				
	ARR	ARQ	ARH	AHQ	VRQ
Karacabey Merinosu	28%	68%	0%	0%	4%
Akkaraman (ort.)	12%	62%	22%	0%	0%
Morkaraman (ort.)	16%	62%	15%	0%	2%
Kıvırcık (ort.)	29%	53%	9%	4%	4%
Gökçeada (ort.)	44%	49%	2%	3%	1%
Sakız (ort.)	33%	46%	10%	6%	1%
İvesi (ort.)	7%	71%	17%	1%	0%
Dağlıç (ort.)	19%	69%	6%	5%	0%
Karayaka (ort.)	25%	57%	5%	0%	4%
Hemşin (ort.)	16%	74%	9%	0%	2%
Norduz	7%	77%	12%	3%	0%
Çine çapanı	27%	63%	2%	2%	5%
Herik	18%	70%	2%	2%	0%
Karagül	14%	71%	9%	0%	0%
Gün. Karaman	25%	55%	18%	3%	0%
Tuj	21%	68%	0%	0%	0%
SbA X Kıvırcık	70%	24%	0%	0%	0%
Hamps. x Merinos	49%	49%	0%	0%	0%
Ramlıç	46%	36%	0%	0%	0%

Çizelge 4.7 Türkiye’de yetiştirilen yerli ve melez ırklarda PrP genotip dağılımı (Gönülalp 2008 (1), Un ve ark. 2007 (2), Oner ve ark. 2011 (3), Alvarez ve ark. 2011 (4), Özkan ve ark. 2011 (5), Frootan ve ark. 2011 (6), Lühken ve ark. 2008 (7))

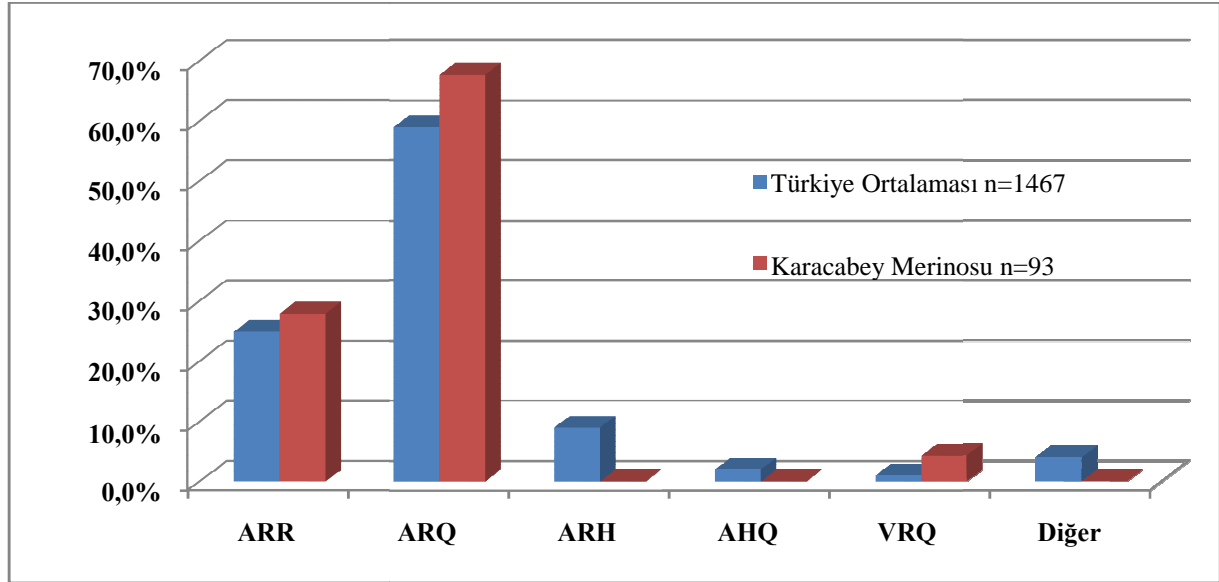
GENOTİP / İRK	K. Merinos n=93	(1) SbA.xKıvırcık n=45	(1) Hamp.xK. Mer. n=49	(1) Ramlıç n=49	(4) Tuj n=17	(2) Kıvırcık n = 44	(3) Kıvırcık n=147	(5) Kıvırcık n=41	(2) Gökçeada n = 31	(3) Gökçeada n=142	(5) Gökçeada n=38	(2) Sakız n = 34	(3) Sakız n = 124	(5) sakız n=40	(4) Akkaraman n=21	(5) Akkaraman n=47	(7) Akkaraman n=17	Direnç Seviyesi
ARR/ARR	0.09	0.49	0.33	0.27	0.06	0.14	0.01	0.20	0.03	0.30	0.45	0.38	0.15	0.03	0.00	0.15	0.00	R1
ARR/AHQ	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.01	0.00	0.00	0.06	0.00	0.00	0.02	0.00	0.00	0.00	0.00	R2
ARR/ARH	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.06	0.00	0.00	0.01	0.00	0.00	0.07	0.00	0.00	0.02	0.06	
ARR/ARQ	0.38	0.47	0.38	0.47	0.29	0.45	0.25	0.15	0.42	0.33	0.18	0.29	0.23	0.15	0.10	0.11	0.12	
ARR/TRQ	0.00	0.01	0.00	0.01	0.00	0.07	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.03	0.00	0.03	0.00	0.00	0.00	
ARQ/ARH	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.19	0.02	0.00	0.01	0.00	0.03	0.05	0.00	0.19	0.00	0.47	R3
ARQ/AHQ	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.08	0.05	0.03	0.05	0.00	0.00	0.07	0.10	0.00	0.00	0.00	
AHQ/AHQ	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.05	0.00	0.00	0.00	0.00	0.02	0.05	0.00	0.00	0.00	
ARH/ARH	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.06	0.05	0.00	0.01	0.03	0.03	0.12	0.05	0.00	0.15	0.12	
AHQ/ARH	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.02	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	
ARQ/ARQ	0.45	0.02	0.38	0.45	0.47	0.27	0.30	0.39	0.52	0.19	0.24	0.12	0.20	0.55	0.62	0.49	0.24	
ARQ/TRQ	0.00	0.04	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.03	0.04	0.00	0.05	0.02	0.00	
ARH/TRQ	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.03	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	
TRQ/TRQ	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.03	0.02	0.00	0.00	0.02	0.00	
ARR/VRQ	0.01	0.00	0.00	0.00	0.00	0.05	0.00	0.00	0.00	0.00	0.03	0.03	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	R4
AHQ/VRQ	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	R5
ARH/VRQ	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.01	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	
ARQ/VRQ	0.08	0.00	0.00	0.00	0.00	0.02	0.01	0.05	0.00	0.03	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	
VRQ/VRQ	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.02	0.00	0.01	0.00	0.00	0.01	0.00	0.00	0.00	0.00	
ARK/ARK	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.05	0.00	0.00	Bilinmiyor
ARQ/ARK	0.00	0.00	0.00	0.00	0.06	0.00	0.01	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.03	0.00	0.00	0.00	
AHQ/TRQ	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.02	0.00	0.00	0.00	0.00	
ARK/TRQ	0.00	0.00	0.00	0.00	0.12	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	
ARH/VRH	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.02	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	
ARH/ARK	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.02	0.00	
ARL/ARL	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.02	0.00	
ARQ/THQ	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.03	0.00	0.00	0.00	
ARH/AHH	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	
ARH/TRH	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	
VRQ/VRR	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	
AHQ/AHR	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.05	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	
ARR/AHR	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.03	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	
TRQ/VRQ	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	

Çizelge 4.7

GENOTİP / İRK	(4) Karayaka n=19	(5) Karayaka n=41	(4) Hemşin n=23	(5) Hemşin n=40	(4) Morkaraman n=20	(5) Morkaraman n=49	(6) Morkaraman n=37	(7) Morkaraman n=31	(5) Norduz n=36	(5) Çine Çapan n=32	(5) Dağlıç n=44	(7) Dağlıç n=31	(5) Herik n=45	(5) İvesi n=46	(6) İvesi n=32	(5) Karagül n=35	(5) Gün. Karam. n=20	Direnç Seviyesi
ARR/ARR	0.05	0.17	0.00	0.13	0.00	0.06	0.00	0.06	0.03	0.16	0.09	0.06	0.09	0.04	0.00	0.09	0.10	R1
ARR/AHQ	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.02	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	R2
ARR/ARH	0.00	0.00	0.00	0.00	0.10	0.02	0.03	0.00	0.00	0.03	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	
ARR/ARQ	0.32	0.22	0.22	0.18	0.15	0.14	0.30	0.32	0.08	0.19	0.23	0.19	0.16	0.07	0.06	0.09	0.30	
ARR/TRQ	0.00	0.00	0.00	0.00	0.05	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.02	0.00	0.00	0.00	0.00	
ARQ/ARH	0.00	0.00	0.09	0.00	0.20	0.04	0.19	0.00	0.08	0.00	0.00	0.00	0.04	0.04	0.28	0.00	0.00	R3
ARQ/AHQ	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.02	0.00	0.00	0.00	0.00	0.07	0.00	0.04	0.00	0.00	0.00	0.00	
AHQ/AHQ	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.03	0.00	0.02	0.03	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	
ARH/ARH	0.00	0.07	0.00	0.13	0.00	0.18	0.00	0.00	0.08	0.00	0.11	0.00	0.00	0.17	0.00	0.09	0.15	
AHQ/ARH	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.05	
ARQ/ARQ	0.32	0.39	0.61	0.58	0.45	0.47	0.39	0.61	0.67	0.47	0.43	0.71	0.56	0.59	0.56	0.63	0.40	
ARQ/TRQ	0.26	0.00	0.00	0.00	0.00	0.02	0.00	0.00	0.03	0.03	0.00	0.00	0.04	0.02	0.00	0.06	0.00	
ARH/TRQ	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	
TRQ/TRQ	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.03	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.04	0.02	0.00	0.06	0.00	
ARR/VRQ	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.03	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.03	0.00	0.00	R4
AHQ/VRQ	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	R5
ARH/VRQ	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	
ARQ/VRQ	0.00	0.07	0.09	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.03	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	
VRQ/VRQ	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.03	0.00	0.00	0.03	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	
ARK/ARK	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	Bilinmiyor
ARQ/ARK	0.00	0.00	0.00	0.00	0.05	0.00	0.00	0.00	0.00	0.06	0.02	0.00	0.00	0.02	0.00	0.00	0.00	
AHQ/TRQ	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	
ARK/TRQ	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	
ARH/VRH	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	
ARH/ARK	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	
ARL/ARL	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.02	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.02	0.00	0.00	0.00	
ARQ/THQ	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	
ARH/AHH	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.02	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	
ARH/TRH	0.00	0.05	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	
VRQ/VRR	0.00	0.02	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	
AHQ/AHR	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	
ARR/AHR	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	
TRQ/VRQ	0.05	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	

Türkiye’de yerli ve melez ırklarda şimdiye kadar yapılan çalışmalarda tespit edilen PrP allel dağılımı ortalaması ile karşılaştırıldığında, Karacabey Merinoslarının skrapieye karşı dirençle ilişkili ARR alleli bakımından Türkiye ortalamasından düşük, duyarlılıkla ilişkili VRQ alleli bakımından Türkiye ortalamasından yüksek olduğu, her iki durumda da ARQ

allelinin baskın olduğu, ARH ve AHQ allellerinin yerli ve melez ırklarda düşük frekanslarda bulunduğu görülmektedir (Şekil 4.3).



Şekil 4.3 Türkiyede çalışılan ırkların PrP allellerinin frekans ortalaması ile Karacabey Merinosları allel frekanslarının karşılaştırılması.

Ülkemizde yapılan genotiplendirme çalışmalarında, nadir bulunan ve skrapieye dirençli ilişkisi bilinmeyen, ARK, VRH, ARL, THQ, AHH, VRR ve AHK gibi aleller taşıyan, düşük frekansta çok sayıda genotipe rastlanmıştır. Bizim çalışmamızda nadir görülen genotipler tespit edilmemiştir. Özellikle yerli ırklarda PrP allelleri bakımından genetik çeşitliliğin yüksek olduğunu söylemek mümkündür.

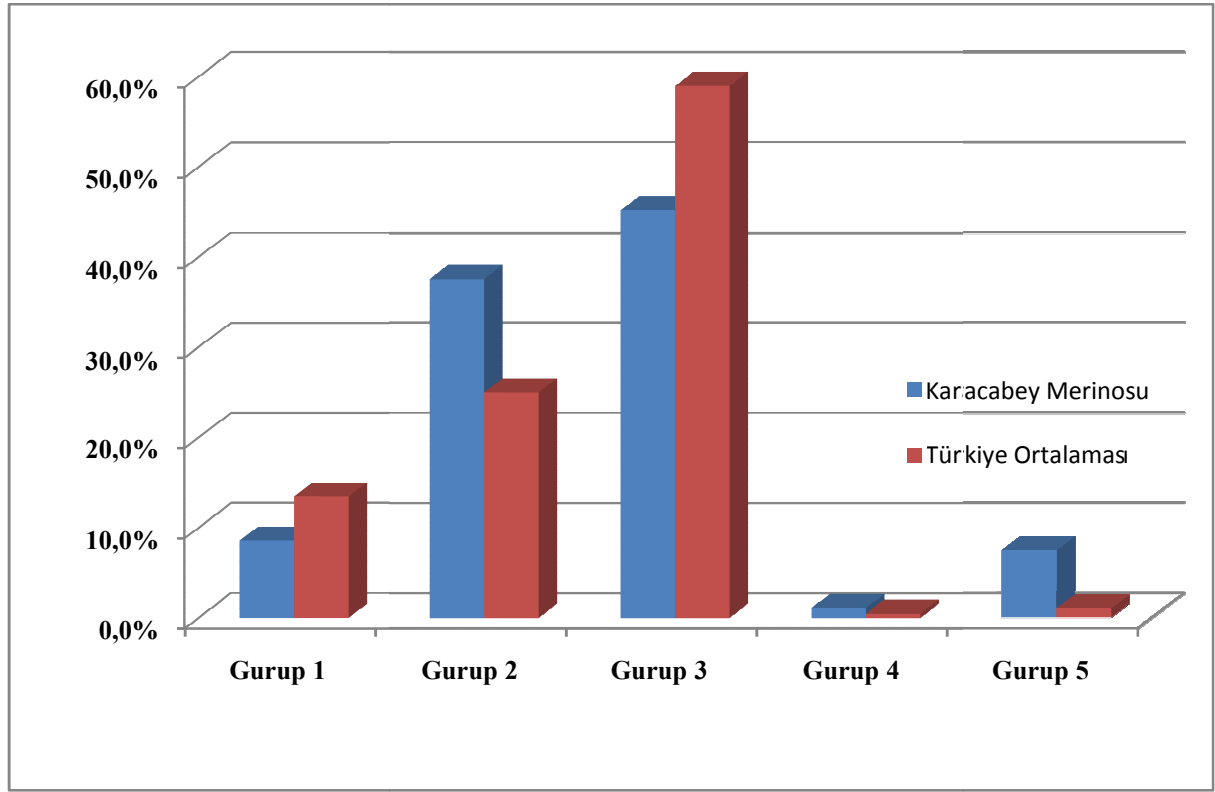
Çizelge 4.7 incelendiğinde, melez ırkalardan Siyahbaşlı Alman Merinosu X Kıvırcık, Hampshire Down X Karacabey Merinosu ve Ramlıçlarda, klasik skrapieye en dirençli kabul edilen ARR/ARR genotipine sırası ile 0.49, 0.33 ve 0.27 frekanslarında rastlanmıştır. Melez ırklar için hesaplanan ARR/ARR genotip frekansları hem Karacabey Merinoslarından, hemde yerli ırklarımızın büyük bir çoğunluğundan oldukça yüksek görünmektedir. Aynı şekilde, Kıvırcık, sakız ve Gökçeada ırklarında yapılan çalışmaların bazılarında ARR/ARR genotip frekansı diğer yerli ırklardan önemli ölçüde yüksek görünmektedir. Skrapieye karşı dirençli yetiştiricilik açısından bakıldığında bu durum bahsedilen ırklar için önemli avantaj sağlayacaktır.

İngiltere direnç skalasına göre 2. grupta (Skrapiye karşı genetik olarak dirençli ancak yetiştirilmede damızlık olarak kullanılması durumunda dikkatli bir seleksiyon uygulanması gereken koyunlar) yer alan ARR/ARQ genotipi açısından değerlendirildiğinde, melez ve yerli ırklarda ve Karacabey Merinoslarında, yabancı tip ARQ/ARQ genotipinden sonra en baskın genotipin ARR/ARQ olduğu gözlenmektedir. ARR allelinin skrapiye karşı en yüksek genetik direnci sağladığı hesaba katıldığında, doğru çiftleştirme programları kullanılarak tüm koyun ırklarımızda direnç seviyesini artırmak mümkün olabilir.

Yapılan çalışmalar genel olarak ele alındığında, Türkiye’de, yerli ırklarda, en fazla rastlanan PrP genotipinin, İngiltere için hazırlanan direnç skalasına göre 3. grupta (Skrapiye karşı genetik olarak az dirence sahip ve damızlık olarak kullanılması veya satılması uygun olmayan koyunlar) bulunan ve dünyada yapılan çalışmalarda da baskın genotip olduğu bilinen ARQ/ARQ olduğu görülmektedir. Bizim çalışmamızda da benzer şekilde en fazla görülen genotip ARQ/ARQ olmuştur. ARQ/ARQ genotipi bakımından tüm melez ve yerli ırkların frekans ortalaması 0.42, benzer şekilde Karacabey merinoslarında 0.45 olarak hesaplanmış, her iki değer birbirine oldukça yakın olduğu gözlenmiştir.

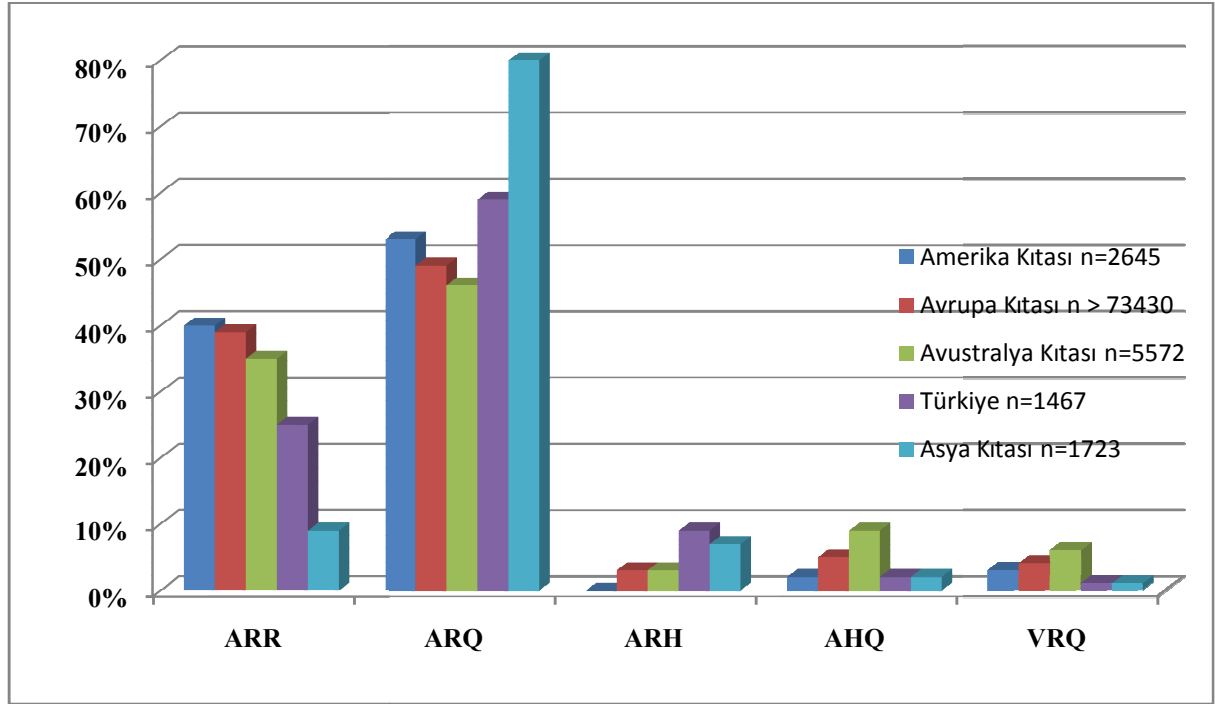
Skrapiye karşı son derece duyarlı olan 5. risk grubuna dahil genotiplere, incelenen melez ırkların hiç birinde ve yerli ırklardan Akkaraman, Güneykaraman, Tuj, Norduz, Dağlıç, Herik, İvesi ve Karagül koyunlarında rastlanmamıştır. Geriye kalan ırklarda ve Karacabey Merinoslarında 5. risk grubundaki genotiplere düşük seviyelerde rastlanmıştır.

Karacabey Merinosları ile Türkiye PrP genotip frekans ortalamaları risk gruplarına göre karşılaştırıldığında (Şekil 4.4), skrapiye dirençli olan 1. ve 2. gruplar açısından, Karacabey Merinoslarının, PrP alell dağılımına paralel olarak, Türkiye ortalamasından düşük, skrapiye az dirençli 3. grup ve son derece duyarlı olan 4 ve 5. gruplar açısından ise Türkiye ortalamasından daha yüksek frekansa sahip olduğu, Türkiye’de yetiştirilen yerli ve melez ırkların genel olarak skrapiye Karacabey Merinoslarından daha dirençli olduğu söylenebilir.



Şekil 4.4 Karacabey Merinosları ile Türkiye’deki PrP genotip frekans ortalamalarının risk guruplarına göre karşılaştırılması.

Kıtalar arası PrP allel dağılımları Türkiye allel frekansları ile karşılaştırıldığında (Şekil 4.5), skrapiye karşı genetik direnci belirleyen ARR allel dağılımının büyükten küçüğe doğru Amerika, Avrupa ve Avustralya kıtaları, Türkiye ve Asya kıtası şeklinde sıralandığı, ARQ allelinin en yüksek Asya kıtasında olmak üzere hepsinde baskın allel olduğu, VRQ allel frekansının ise en yüksek Avustralya kıtasında, en düşük Türkiye’de ve Asta Kıtasında olduğu ve diğer kıtalarda birbirine yakın frekanslarda seyrettiği görülmektedir (Hunter ve Cairns 1998, Bossers ve ark. 1999, Tranulis ve ark. 1999, Drögemüller ve ark. 2001, Arnold ve ark. 2002, O’doherly ve ark. 2002, François ve ark. 2002, DeSilva ve ark. 2003, De Vries ve ark. 2004, Lühken ve ark. 2004, Acutis ve ark. 2004, Wisniewska ve ark. 2006, Molina ve ark. 2006, Gama ve ark. 2006, Lee ve ark. 2007, Van Kaam ve ark. 2008, Lühken ve ark. 2008, Gootwine ve ark. 2008, Gorjanc ve ark. 2008, L’Homme ve ark.2008, Alvarez ve ark. 2009, Babar ve ark. 2009, Pongolini ve ark. 2009, Wisniewska ve Mroczkowski 2009, Tsunado ve ark. 2010, Gorjanc ve ark.2010, Vasicek ve ark. 2010, Wisniewska ve Mroczkowski 2010, Karami ve ark. 2011, Ianella ve ark. 2011).



Şekil 4.5 Amerika, Avrupa, Avustralya ve Asya K ıtaları için PrP allel frekansı ortalamaları ile Türkiye PrP allel frekansı ortalamalarının karşılaştırılması.

#### 4.2 Ek Polimorfizmler

Çalışmamızda, 93 örnekte 136, 154 ve 171 kodonların yanı sıra ek polimorfizmler ve bunlarla bağlantılı aminoasit değişimleri de incelenmiştir (Çizelge 4.9). Taranan örneklerde Q101R, L141F, H143R ve P241S şeklinde dört ek polimorfizme rastlanmıştır. Bunların dışında altı örnekte aminoasit değişimi olmaksızın baz değişimi gözlenmiştir. ARR/ARQ genotipli bir birey ile ARQ/ARQ genotipine sahip üç bireyde 231. kodonda **AGG231CGG** şeklinde baz değişimi görülmüştür. Baz değişimi olmasına rağmen her iki durumda da Arjinin (R231R) kodlanmaktadır. ARQ/ARQ genotipine sahip iki bireyde ise 237. kodonda **CTC237CTG** şeklinde baz değişimi olmuş ve her iki durumda Lösin (L237L) kodlandığı tespit edilmiştir.



Çizelge 4.9 Karacabey Merinoslarında ek polimorfizmler.

Ek Polimorfizmler		Genotipler				
Baz değışimi	Aminoasit Değişim	ARR/ARR	ARR/ARQ	ARQ/ARQ	VRQ/ARR	VRQ/ARQ
CAG101CGG	Q101R	-	-	3	-	-
CTT141TTT	L141F	-	3	3	-	2
CAT143CGT	H143R	-	7	35	-	4
AGG231CGG	R231R	-	1	3	-	-
CTC237CTG	L237L	-	-	2	-	-
CCT241TCT	P241S	-	2	8	-	-

Q101R polimorfizmine ARQ/ARQ genotipine sahip üç bireyde rastlanmıştır. Prusiner (2004), 101. Kodonda Prolin→Lösin (P101L) polimorfizmi bulunan transgenik farelerde, klinik olarak deneysel murin skrapisinden ayırt edilemeyen spontane MSS dejenerasyonları geliştiğini bildirmiştir. Acin ve ark. (2004), teşhis ettikleri skrapı vakalarının %2.9’unda 101. kodonda Arjinin kodlandığını rapor etmişlerdir.

Plasenta, hasta sürülerde skrapinin vertikal (dikey-anadan yavruya) bulaşmasında önemli göreve sahiptir. Skrapı ile doğal veya deneysel enfekte koyunlarda; *PRNP* geninde 171. kodonda Glutamin (Q) / Arjinin (R) heterozigot fötüs plasentaları PrP<sup>SC</sup> birikimine karşı dirençlidirler. Bu durumun *PRNP* genindeki diğer polimorfizmlerde olup olmadığını göstermek için yapılan araştırmalarda; ARQ/ARQ yabani tip koyunlara ait plasentalarda PrP<sup>SC</sup> birikimi görülürken, ARQN<sub>176</sub>/ARQK<sub>176</sub> genotipli koyunlarda ve beklenildiği üzere ARQ/ARR genotipli koyunlarda plasental PrP<sup>SC</sup> birikimine rastlanmamıştır. Dahası 4 adet AL<sub>141</sub>RQ/AF<sub>141</sub>RQ genotipinden üç tanesinde plasental PrP<sup>SC</sup> birikimine rastlanmamıştır ve bu durumda kodon 141 deki dimorfizmin plasental PrP<sup>SC</sup> birikimine aracılık edebileceği bildirilmiştir (Santucci 2010)

Bizim çalışmamızda ARQ alleli taşıyan dokuz bireyde L141F polimorfizmi tespit edilmiş ve incelenen tüm bireyler içerisinde L→F değişimi %9.7 olarak hesaplanmıştır.

Yunanistan'da yapılan bir araştırmada, skrapi ile enfekte keçilerin iki tanesi dışında hepsinde 143. kodonda Histidin homozigot (143 HH) ve 154. kodonda Arjinin homozigot (154 RR) olduğu, iki keçinin ise 143. kodonda heterozigot olduğu (HR 143) tespit edilmiştir. Araştırmacılar, bu hayvanlarda klinik veya histopatolojik lezyonlar görülmediğini ancak hepsinde tespit edilebilir düzeyde proteaza dirençli prion proteini bulunduğunu bildirmişlerdir (Billinis ve ark. 2002).

Bizim alışmamızda, 143. kodondaki Histidin→Arjinin değişimi en çok rastlanan ek polimorfizm olmuştur. ARR/ARQ, ARQ/ARQ ve VRQ/ARQ genotipli bireylerde sırası ile 7, 35 ve 4 olmak üzere 46 defa H143R poimorfizmi gözlenmiştir. 143. kodondaki polimorfizmin daha çok keçilerde skrapiye karşı dirençle ilişkili olabileceği bildirilmektedir.

Acin ve ark. (2004), teşhis ettikleri skrapi vakalarının %5.9 oranında AR<sup>143</sup>RQ/ARQ genotipine sahip olduğunu rapor etmişlerdir.

241. kodonda Prolin→Serin değişimi (P241S) iki defa ARR/ARQ genotipli bireylerde, sekiz defa ARQ/ARQ genotipli bireylerde rastlanmıştır. Yapılan literatür taramasında 241. kodondaki polimorfizmlerin skrapiye karşı direnç ya da duyarlılıkla ilişkisine rastlanmamıştır.

Araştırmada tespit edilen beş genotipten, 0.011 frekansa sahip VRQ/ARR genotipinde ek polimorfizm gözlenmemiştir. 0.452 frekansa sahip ARQ/ARQ genotiplerinde toplam 54 adet ek polimorfizm tespit edilmiştir. Ek polimorfizm sayıları, 0.376 frekanslı ARR/ARQ ve 0.075 frekanslı VRQ/ARQ genotiplerinde sırası ile 13 ve 6 olarak hesaplanmıştır, 0.086 frekansa sahip ARR/ARR genotipinde ek poimorfizme rastlanmamıştır.

Türkiye'de şimdiye kadar yapılan araştırmalarda, *PRNP* geni üzerinde standart kodonlar dışında toplam 34 farklı ek polimorfizm bildirilmiştir (izelge 4.10). Bu araştırmada tespit edilen altı ek polimorfizm, L141F, H143R, R231R ve L237L (n ve ark. 2007, ner ve ark. 2011, Alvarez ve ark. 2011, zkan ve ark.2011, Frootan ve ark. 2011) Türkiye'de bundan önceki araştırmalarda rapor edilmiş olmasına rağmen, Q101R ve P241S polimorfizmleri ilk defa bu çalışmada bildirilmektedir.

Çizelge 4.10 Türkiye’de şimdiye kadar bildirilen ek polimorfizmler.

R40S	G127S	M137T	G145S	K176N	R231R
M112T	G127V	R138M	N146S	V179E	R231G
R114H	G127A	S138N	Y172D	I185F	L237L
K113N	L133M	L141F	S173N	Q189L	S239F
A116D	L133G	H143R	M173V	N193L	
A116E	M133G	A143H	N174Y	V213E	

Laegreid ve ark. (2008), deneysel olarak oral yolla skrapi inoküle edilmiş 103 başlık Suffolk sürüsünde yaptıkları araştırmada; ARQ/ARQ homozigot koyunlarda diğer polimorfik lokuslar olan 112. kodondaki Metionin (M) → Treonin (T) değişimi ile 241. kodondaki Prolin (P) → Sreine (S) değişimlerinin enfeksiyon gelişimi ve hayatta kalma süresi ile ilişkisini incelemiştirlerdir. Araştırmacılar, bir tane T<sub>112</sub>ARQ alleli taşıyanların M<sub>112</sub>ARQ alleli taşıyanlara göre yaklaşık 687 gün daha fazla yaşadığını, T<sub>112</sub>ARQ/ T<sub>112</sub>ARQ homozigot olan iki koyunun skrapiye karşı dirençli olduğunu ve bu hayvanlarda hastalık gelişmediğini, 241. kodondaki P→S değişiminin ise skrapiye karşı genetik direnci etkilemediğini bildirmişlerdir.

BSE öncelikli olarak sığırların bir hastalığı olmasına rağmen, BSE etkeni insanlarda da hastalık oluşturabilmekte, dahası, deneysel olarak koyunlara bulaştırılabilmektedir. Oral yolla BSE inokülasyonu yapılan koyunların kanında enfeksiyonla ilgili bulgulara rastlanması, insan sağlığında kullanılan kan ürünlerinin güvenilirliğinin sorgulanmasına neden olmuştur (Hunter 2003).

Saunders ve ark. (2009), Suffolk koyunlarında yaptıkları deneysel BSE enfeksiyonu çalışmalarında; ARQ/ARQ homozigot PrP genotipine sahip koyunların deneysel BSE enfeksiyonuna karşı son derece duyarlı olduğunu, ancak 112. kodonda Metionin yerine Treonin (M112T) polimorfizmine sahip olan koyunların hem oral hem de intraserebral BSE inokülasyonlarına karşı son derece dirençli olduğunu, yabancı M<sub>112</sub>ARQ/M<sub>112</sub>ARQ genotiplerin %96’sında enfeksiyon ortaya çıkarken, en az bir T<sub>112</sub>ARQ alleli taşıyan 20 koyundan hiç birinde deneysel BSE gelişmediğini rapor etmişlerdir.

Yapılan bu çalışmada incelenen 93 örneğin tamamı 112. kodon yönünden Metionin homozigot olarak tespit edilmiş, ARQ genotipine sahip koyunlarda skrapi ve BSE’ye dirençle ilişkili M112T polimorfizmine rastalanmamıştır. Kodon 241 yönünden incelendiğinde ise; ARR/ARQ genotipine sahip 3 ve ARQ/ARQ genotipine sahip 7 örnekte P241S polimorfizmi görülmüştür.

Yapılan araştırmalarda, yabani ARQ/ARQ genotipine sahip koyunlarda 137. kodondaki Metionin (M)→ Threonine (T) değişimi ile 176. kodondaki Asparjin (N)→ lizin (K) değişiminin skrapiye karşı koruyucu etkisi olduğu ve bu hastalığa karşı duyarlılığı azalttığı, ARQN<sub>176</sub>/ARQK<sub>176</sub> genotipli ve skrapi ile enfekte koyunların plasentalarında PrP<sup>SC</sup> birikimi olmadığı bildirilmiştir (Vaccari ve ark. 2009, Maestrone ve ark. 2009, Santucci ve ark. 2010, Ligios ve ark. 2011)

Bizim alışmamızda incelenen örneklerin tamamı, kodon 137 bakımından Metionin homozigot ve kodon 176 bakımından tamamı Asparjin homozigot olarak bulunmuştur.

Goldmann ve ark. (2006), Koyun *PRNP* geninde kodon 168 deki Proline ve Lösin yer değişiminin deneysel BSE inokulasyonuna karşı direncin artması ile ilişkili olduğu ve A<sub>136</sub>R<sub>154</sub>P<sub>168</sub>Q<sub>171</sub>/A<sub>136</sub>R<sub>154</sub>L<sub>168</sub>Q<sub>171</sub> genotipini taşıyan heterozigot bireylerin A<sub>136</sub>R<sub>154</sub>P<sub>168</sub>Q<sub>171</sub>/A<sub>136</sub>R<sub>154</sub>P<sub>168</sub>Q<sub>171</sub> homozigot bireylerle karşılaştırıldığında damar içi deneysel BSE inokulasyonuna karşı üç kat daha fazla yaşadığı bildirmişlerdir. Bu araştırmada incelenen örneklerin tamamı kodon 168 yönünden Prolin homozigot olarak tespit edilmiştir.

Çalışmamızda; ARQ/ARQ genotipine sahip bireylerde, bir adet R<sub>101</sub>AR<sub>143</sub>RQR<sub>231</sub>L<sub>237</sub>, bir adet R<sub>101</sub>ARQR<sub>231</sub>L<sub>237</sub>, bir adet R<sub>101</sub>AR<sub>143</sub>RQR<sub>231</sub>, iki adet AF<sub>141</sub>R<sub>143</sub>RQ, bir adet AF<sub>141</sub>RQS<sub>241</sub> ve dört adet AR<sub>143</sub>RQS<sub>241</sub> diziliminde polimorfik haplotip tespit edilmiştir (izelge 4.11). Bu haplotiplerde 231 ve 237. kodonlarda aminoasit değişimi olmaksızın yalnızca baz değişimi şekillenmiştir. Yalnızca ARQ/ARQ genotipinde, aynı dizi üzerinde standart kodonlar haricinde çoklu polimorfimler görülmüştür.

Çizelge 4.11 Aynı dizi üzerindeki diğer polimorfizmler

n	Genotip	Haplotipler
1	ARQ/ARQ Q101R H143R R231R L237L	R <sub>101</sub> A <sub>136</sub> R <sub>143</sub> R <sub>154</sub> Q <sub>171</sub> R <sub>231</sub> L <sub>237</sub>
1	ARQ/ARQ Q101R R231R L237L	R <sub>101</sub> A <sub>136</sub> R <sub>154</sub> Q <sub>171</sub> R <sub>231</sub> L <sub>237</sub>
1	ARQ/ARQ Q101R H143R R231R	R <sub>101</sub> A <sub>136</sub> R <sub>143</sub> R <sub>154</sub> Q <sub>171</sub> R <sub>231</sub>
2	ARQ/ARQ L141F H143R	A <sub>136</sub> F <sub>141</sub> R <sub>143</sub> R <sub>154</sub> Q <sub>171</sub>

### 4.3 Atipik Skrapi

Çalışmamızda, 136, 154 ve 171. kodonlar yanında 141. kodon da dahil edilerek, tüm koçlar, Fediaevsky ve ark. (2009) tarafından tarif edilen, atipik skrapi risk seviyelerine göre guruplandırılmıştır (Çizelge 4.8).

Çizelge 4.8 Karacabey Merinoslarında atipik skrapi risk gurupları

Guruplar	PrP Genotipi	n	frekans	Risk seviyesi
1	ALRR/ALRQ ALRQ/ALRQ ALRR/VLRQ ALRQ/VLRQ	77	0.837	0
2	ALRR/ALRR	7	0.076	1
3	AFRQ/VLRQ	2	0.022	2
4	ALRR/AFRQ AFRQ/ALRQ	6	0.065	3
5	-	0	0	4

Yaptığımız çalışmada, atipik skrapi risk guruplarına göre genotip frekansları şu şekilde sıralanmıştır: Atipik skrapiye karşı en dirençli genotiplerin dahil olduğu 1. gurup 0.837, 2.gurup 0.076, 3. gurup 0.022, 4. gurup 0.065 ve en yüksek risk altındaki 5. gurup 0.000 Elde edilen sonuçlara göre Karacabey Merinoslarının atipik skrapiye karşı büyük ölçüde dirençli olduğu görülmektedir.

## 5. SONUÇ ve ÖNERİLER

Bilindiği üzere son yıllarda, damızlık koyun popülasyonunu azalması ve artan et fiyatları nedeniyle bazı Avrupa ve Güney Amerika ülkelerinden yurdumuza canlı hayvan ithalatına izin verilmiştir. Her ne kadar, BSE riskinin düşük olduğu ülkelerden ithalat yapılmasına mücadele edilmiş olsa da, bu ülkeler skrapiden ari kabul edilmemekte ve bu durum prion hastalıklarıyla ilgili olarak, Türkiye’de hem insan sağlığı hem de hayvan sağlığı için belli bir risk oluşturmaktadır. Kaldı ki, basına yansıyan haberlere göre (Anonim 2011j, Anonim 2011k), canlı hayvan ithalatında yapılmış olan bazı suistimaller toplumda kaygıya neden olmaktadır.

Yapılan araştırmalarda, skrapinin anadan yavruya vertikal olarak bulaştığı, yavru suları ile çevreyi kontamine ettiği, etkenin, topraktaki partiküllere bağlanarak enfeksiyon özelliğini uzun süre koruduğu ve yıllar sonra bile oral yolla alındığında duyarlı hayvanlarda enfeksiyon oluşturduğu tespit edilmiştir (Brown ve Gajdusek 1991, Philippe ve ark. 2005, Georgsson ve ark. 2006, Anonim 2007a, Saunders ve ark. 2008). Hopp ve ark. (2001), skrapinin bulaşmasında en büyük risk faktörünün sürüler arası hayvan hareketleri olduğunu bildirmiştir. Bu durum, geçmişte skrapi görülmüş bölgelerden ithal edilen koyunların, kendileri hasta olmasa bile skrapiyi mekanik olarak taşıyabileceği ihtimalini doğumakta, canlı hayvan ithalatından kaynaklanabilecek muhtemel riskleri artırmaktadır.

Yapılan çalışmalarda, skrapi ile enfekte koçların spermalarında PrP<sup>SC</sup> birikimine rastlanmamış olsa da (Sarradin ve ark 2008), suni tohumlama ve embriyo transferinde kullanılan alet ve ekipmanlar ile hayvan kaynaklı hormonların kullanımı yoluyla hastalığın taşınması ihtimalinden söz edilmektedir (Anonim 2010). Bu durumda; skrapi görülen ülkelerden yapılacak donmuş sperma veya embriyo ithalatının hastalığın bulaşması açısından birtakım riskler barındırabileceğini söylemek mümkündür.

Bu çalışma ve Türkiye’de yapılan diğer çalışmalar genel olarak değerlendirildiğinde, melez ırkların genetik direnç seviyesinin yüksek, Karacabey merinosu ve diğer yerli ırkların ise orta derecede olduğu söylenebilir. Avrupa Birliği Ülkelerinde ve ABD’de kabul gören ve uygulamaya giren dirençli yetiştiricilik programlarının Ülkemizde başlatılması halinde yeterli derecede direnç seviyesi yüksek materyal bulunması ve PrP allelleri yönünden mevcut olan çeşitliliğin büyük avantaj sağlayacağı düşünülmektedir.

İlk defa 1998 yılında Norveç’te rastlanan ve yapılan araştırmalarda daha çok klasik skrapiye dirençle genotiplerde hastalık oluşturduğu tespit edilen atipik skrapi (Nor98)

açısından değerlendirildiğinde, klasik skrapiye karşı dirence dayalı yetiştiricilik programlarında bir takım handikaplar ortaya çıkmaktadır. Klasik skrapiye dirençli allellerin artırılması aynı zamanda atipik skrapiye duyarlı allellerin artırılması ve populasyonun atipik skrapi riskine açık hale getirilmesi anlamına gelebilir. Atipik skrapienin hayvanlar arasında bulaşabilirliği ile ilgili yeterli kanıtın olmaması ve görülüş sıklığının klasik skrapiye karşılaştırıldığında çok daha düşük olması (Hopp ve ark. 2006, Benestad ve ark. 2008, Fediaevsky ve ark. 2009) nedeni ile klasik skrapiye karşı dirençli yetiştiricilik programları uygulayan ülkeler yetiştirme programlarından vazgeçmemiş veya programlarında bir değişiklik yapmamışlardır.

Buna rağmen atipik skrapi ile ilgili bilinmezlikler çeşitli riskleri beraberinde getirebilir. Yapığımız araştırmaya göre, Karacabey Merinoslarının %84'lük kısmı atipik skrapi için en az risk barındıran genotipler grubunda (grup 1) yer almaktadır. Bu açıdan bakıldığında, Karacabey Merinoslarında uygulanacak klasik skrapiye karşı dirence dayalı yetiştiricilik programlarının, atipik scrape açısından barındıracağı risklerin minimum seviyede kalacağı, hatta ileride yapılacak bilimsel araştırmaların ışığında hem klasik hem de atipik skrapiye karşı dirençli yetiştiricilik uygulamalarının mümkün olabileceği söylenebilir.

Dirence dayalı yetiştiricilik programları bazı muhtemel dezavantajları da beraberinde getirmektedir. PrP genotipine göre yapılacak tek yönlü seleksiyonun koyunların üreme ve verim özelliklerini ne yönde etkileyeceği konusu bahsedilen dezavantajlardan birisidir. Şimdiye kadar yapılan çalışmalarda, PrP genotipleri ve bazı verim özellikleri arasında birtakım ilişkiler gözlenmiş olsa da, bu ilişkilerin çok güçlü olmadığı, ancak PrP genotipleri ile bakteriyel, viral ve paraziter hastalıklara karşı direnç arasındaki muhtemel ilişkilerin ortaya çıkarılması yönünde yapılan çalışmaların çok yetersiz olduğu (Sweeney ve Hanrahan 2008) bildirilmektedir.

Bir diğer dezavantaj, PrP genotiplerine göre yapılacak seleksiyonun özellikle nadir bulunan ırklarda genetik çeşitliliği azaltıp, akrabalık derecesini artıracak olmasıdır.

Skrapi etkeninin gelecekte modifiye olarak, günümüzde dirençli kabul edilen genotiplerde de enfeksiyon oluşturma yeteneği kazanması ihtimal dahilindedir. İngiltere Hükümeti, hem genetik çeşitlilikte meydana gelecek daralma, hem de etkenin modifiye olması risklerini göz önüne alarak, Ulusal Skrapi Planı çerçevesinde Ulusal Skrapi Planı Semen Arşivi uygulaması başlatmış, bu perspektifte, İngiltere'de yetiştirilen her koyun ırkından, skrapiye karşı duyarlı allelleri taşıyan belirli sayıda koçtan sperma alıp stoklayarak sperma bankası oluşturmuştur.

Türkiye’de henüz resmi olarak BSE ya da skrapi vakası rapor edilmemiştir, ancak etkili bir saha tarama programının olmaması nedeni ile skrapiden ari olarak kabul edilmemektedir. Türkiye, Avrupa Birliğine katılım sürecine ilişkin 2004 yılı ilerleme raporu ve tavsiye metninde skrapi izleme programını kabul etmiş, Tarım ve Köyişleri Bakanlığı, Koruma ve Kontrol Genel Müdürlüğü 30/ 03 / 2004 tarih ve 250.10.10.13/VEE/15-3899-010157 sayılı yazıları ile konunun detaylı hususlarını belirtmiş (Anonim 2004), ancak dirence dayalı yetiştiricilik programlarından söz edilmemiştir.

Diğer yandan, 2005 yılında, Hayvancılığın Desteklenmesi Hakkında 2005/8503 Sayılı Bakanlar Kurulu Kararı Çerçevesinde, beş yıllık dönem için, Karacabey Merinosları da dahil olmak üzere, "Halk Elinde Ülkesel Küçükbaş Hayvan Islahı Projesi" hazırlanmış, proje sonunda elde edilen yaygın etki, yatırımın geri dönüşümü ve genetik ilerlemeler değerlendirilerek, 16 ırk ve 35 ili kapsayacak şekilde 2015 yılına kadar uzatılmıştır.

Bakanlık güdümündeki projeye, Tarımsal Araştırmalar ve Politikalar Genel Müdürlüğü (TAGEM), Tarımsal Üretim ve Geliştirme Genel Müdürlüğü (TÜGEM), Üniversiteler, TAGEM’e bağlı Araştırma Enstitü ve İstasyonları, Damızlık Koyun-Keçi Yetiştirici Birlikleri ve yetiştiriciler dahil edilerek geniş katılım sağlanmıştır. Toplamda 300 binin üzerinde koyunun dahil edildiği "Halk Elinde Ülkesel Küçükbaş Hayvan Islahı" Projesinde Elit, ara elit ve taban sürüler oluşturulmuş, bu sürülerde kayıtlı yetiştiricilik uygulamasına başlanarak, damızlık akışı, elit→ara elit→taban sürü olacak şekilde planlanmış, belirli miktarlarda maddi destek sağlanarak yetiştiricilerin motivasyonu sağlanmıştır (Anonim 2011a)

Küçükbaş hayvancılık ile ilgili bu olumlu gelişmeler yanı sıra, skrapiye dirençli yetiştiricilik programlarının oluşturularak yapılan ıslah çalışmalarına entegre edilebileceği, en azından başlangıç olarak, ekonomik değeri yüksek ırklara ait elit sürülerde genotiplendirme çalışmaları yapılarak, skrapiye dirençli allellerin ara elit ve taban sürülere akışının sağlanmasının faydalı olacağı düşünülmektedir.

Bu amaçla, emriyo transferi ve özellikle suni tohumlama gibi ileri üreme tekniklerinin kullanılması, hem halk elinde ıslah programlarının etkinliğini artırarak hızlı bir genetik ilerleme sağlanması, hem de yüksek damızlık değere sahip ARR/ARR genotipli koçlardan maksimum fayda sağlanması açısından tercih edilebilir.

Bunun dışında, genetik çeşitliliği muhafaza etmek için İngiltere’de olduğu gibi sperm bankası kurulabilir ve skrapiye duyarlı genotiplere sahip koçların spermaları stoklanabilir.



Nadir bulunan yerel ırklarımızda akrabalık derecesinin artmasını önlemek için, Windig ve ark. (2004)'nın tarif ettiği şekilde, öncelikle ARR homozigot (ARR/ARR) ve ARR heterozigot (ARR/xxx) genotipli koçlar beraber kullanılarak “hafif seleksiyon” uygulanabilir, ARR allel frekansında belirli bir artış sağlandıktan sonra kademeli olarak “orta dereceli” ve “ağır seleksiyon” yöntemleri benimsenebilir.

## KAYNAKLAR

- Acín C, Martín-Burriel I, Goldmann W, Lyahyai J, Marta M, Bolea R, Smith A, Badiola C R J and Zaragoza P (2004). Prion protein gene polymorphisms in healthy and scrapie-affected Spanish sheep. *Journal of General Virology*, 85: 2103–2110.
- Acutis P L, Sbaiz L, Verburg F, Riina M V, Ru G, Moda G, Caramelli M and Bossers A (2004). Low frequency of the scrapie resistance-associated allele and presence of lysine-171 allele of the prion protein gene in Italian Biellese ovine breed. *Journal of General Virology*, 85: 3165–3172
- Acutis P L, Bossers A, Priem J, Riina M, Peletto S, Mazza M, Casalone C, Forloni G, Ru G and Caramelli M (2006). Identification of prion protein gene polymorphisms in goats from Italian scrapie outbreaks. *Journal of General Virology*, 87: 1029–1033
- Aguzzi A, Heikenwalder M and Polymenidou M (2007). Insights into prion strains and Neurotoxicity. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 8: 552-561
- Aguzzi A and Tracy O (2010). Protein aggregation diseases: pathogenicity and therapeutic perspectives. *Nature reviews Drug Discovery*, 9: 237.
- Alexander B M, Stobart R H, Russell W C, O'Rourke K I, Taylor A N, and Moss G E Incidence Of Genetic Susceptibility To Scrapie In Selected Purebred and Commercial Flocks Proceedings (2002). Western Section, American Society of Animal Science, 53
- Alexander B M, Stobart R H, Russell W C, O'Rourke K I and Moss G E (2003). Differences In Production Traits Between Scrapie Resistant And Scrapie Susceptible Ewes. American Society of Animal Science, 54:
- Alper T, Cramp W A, Haig D A and Clarke M C (1967). Does the Agent of Scrapie Replicate without Nucleic Acid ? *Nature* , 214: 764 – 766.
- Alper T (1972). The nature of the scrapie agent. *J Clin Pathol Suppl (R Coll Pathol)*, 6: 154–155
- Alpers M P (2008). The epidemiology of kuru: monitoring the epidemic from its peak to its end. *Phil. Trans. R. Soc. B.* ,363: 1510, 3707-3713.
- Alvarez L, Gutiérrez-Gil B, San Primitivo F, de la Fuente L F, Arranz J J (2006). Influence of prion protein genotypes on milk production traits in Spanish Churra sheep. *J Dairy Sci.* 89(5): 1784-91.
- Alvarez I, Gutierrez J P, Royo L J, Fernandez I, Goyache F (2009). Quantifying diversity losses due to selection for scrapie resistance in three endangered Spanish sheep breeds using microsatellite information. *Preventive Veterinary Medicine* 91: 172–178.
- Alvarez L, Gutierrez-Gil B, Uzun M, San Primitivo F, Arranz J J (2011). Genetic variability in the prion protein gene in five indigenous Turkish sheep breeds. *Small Ruminant Research*, 99:93– 98.

- Andreoletti O, Morel N, Lacroux C, Rouillon V, Barc C, Tabouret G, Sarradin P, Berthon P, Bernardet P, Mathey J, Lugan S, Costes P, Corbiere F, Espinosa J-C, Torres J M, Grassi J, Schelcher F and Lantier F (2006). Bovine spongiform encephalopathy agent in spleen from an ARR/ARR orally exposed sheep. *Journal of General Virology*, 87:1043–1046.
- Andréoletti O, Orge L, Benestad S L, Beringue V, Litaise C, Simon S, Le Dur A, Laude H, Simmons H, Lugan S, Corbière F, Costes P, Morel N, Schelcher F, Lacroux C (2011). Atypical/Nor98 Scrapie Infectivity in Sheep Peripheral Tissues. *PLoS Pathog.*, 7(2): e1001285.
- Anonim (2001a) Inventory Of National Research Activities In Transmissible Spongiform Encephalopathies (Tses) In Europe-European Commission Research Directorate General Quality Of Life And Management Of Living Resources Programme 2001 <http://ec.europa.eu/research/quality-of-life/pdf/tse-finalreport.pdf> Erişim 22.11.2011
- Anonim 2001b Regulation (EC) No 999/2001 Of The European Parliament and of The Council May 2001 EC 999/2001
- Anonim 2003a National Scrapie Plan (NSP) Semen Archive, Departmen of Agriculture and Rural Development <http://www.scotland.gov.uk/Resource/Doc/47032/0029899.pdf> Erişim 15.01.2012
- Anonim 2003b Commission Decision (2003/100/EC)
- Anonim (2004). BSE ve Scrapie İzleme Programı. [ftp://ftp.kkgm.gov.tr/AB/Hayv-Sagl/TARAMALAR\\_2005/BSE\\_Survey](ftp://ftp.kkgm.gov.tr/AB/Hayv-Sagl/TARAMALAR_2005/BSE_Survey) Erişim: 01.01.2008
- Anonim (2007a) Scrapie Fact Sheet. <http://www.animalagriculture.org/scrapie/AboutScrapie/FactSheet.htm>. Erişim: 09.02.2007
- Anonim 2007b The Center for Food Security&Public Healt) – Iowa State University-2007, <http://www.cfsph.iastate.edu/Factsheets/pdfs/scrapie.pdf> Erişim 08.01.2012
- Anonim 2007c Scrapie The Center for Food Security & Public Health, Iowa state University [www.cfsph.iastate.edu/.../pdfs/scrapie.pdf](http://www.cfsph.iastate.edu/.../pdfs/scrapie.pdf) Erişim:21.01.2012
- Anonim 2007d Sheep and goat health report. A National Institute for Animal Agriculture Publication [http://www.oppociety.org/Library\\_\\_files/NIAA\\_Special\\_Issue\\_Dec\\_08.pdf](http://www.oppociety.org/Library__files/NIAA_Special_Issue_Dec_08.pdf) Erişim: 19.02.2012
- Anonim 2009 Scientific Opinion on genetic TSE resistance in goats in all European Union Member States European Food Safety Authority (EFSA), Parma, Italy *EFSA Journal* 2009; 7(11):1371
- Anonim (2010) Scientific Opinion on Risk of transmission of TSEs via semen and embryo transfer in small ruminants (sheep and goats) *EFSA Journal* 7(1):1429
- Anonim (2011a) 14/06/2011 tarih ve 679 no’lu Bakanlık Oluru [http://www.tagem.gov.tr/mevzuat/halk\\_elinde.pdf](http://www.tagem.gov.tr/mevzuat/halk_elinde.pdf) erişim 22.11.2011

- Anonim 2011b [http://www.nobelprize.org/nobel\\_prizes/medicine/laureates/1976/gajdusek-lecture.pdf](http://www.nobelprize.org/nobel_prizes/medicine/laureates/1976/gajdusek-lecture.pdf) Erişim: 19.09.2011
- Anonim (2011c). <http://www.mcb.uct.ac.za/cann/335/Prions.html> Erişim 24.10.2011
- Anonim (2011d) [http://www.rightdiagnosis.com/a/alpers\\_syndrome/inherit.htm](http://www.rightdiagnosis.com/a/alpers_syndrome/inherit.htm) Erişim 24.10.2011
- Anonim (2011e) <http://www.whonamedit.com/synd.cfm/1459.html> Erişim. 24.10.2011
- Anonim (2011f). <http://www.ebi.ac.uk/gxa/gene/ENSG00000171864> Erişim: 04.11.2011
- Anonim (2011g). National Scrapie Plan for Great Britain. <http://svs.mri.sari.ac.uk/NSP.htm> Erişim 14.01.2011
- Anonim (2011h) The Nobel Prize in Physiology or Medicine 1997 [http://nobelprize.org/nobel\\_prizes/medicine/laureates/1997/prusiner.html](http://nobelprize.org/nobel_prizes/medicine/laureates/1997/prusiner.html)
- Anonim (2011i) European Commission Research Directorate-General Inventory Of National Research Activities In Transmissible Spongiform Encephalopathies (Tses) In Europe 2003 [http://ec.europa.eu/research/quality-of-life/pdf/tse-finalreport-april2003\\_en.pdf](http://ec.europa.eu/research/quality-of-life/pdf/tse-finalreport-april2003_en.pdf) Erişim 22.11.2011
- Anonim (2011j) <http://www.radikal.com.tr/Radikal.aspx?aType=GazeteResmiBuyuk&ArticleID=1071971>
- Anonim (2011k) <http://www.cnnturk.com/2011/guncel/12/09/deli.dana.vizeyi.macardan.almis/639805.0/index.html>
- Anonim (2012) Scrapie Disease Information. [http://www.aphis.usda.gov/animal\\_health/animal\\_diseases/scrapie/](http://www.aphis.usda.gov/animal_health/animal_diseases/scrapie/) Erişim :27.02.2012
- Arnold M, Meek C, Webb C R and Hoinville L J (2002). Assessing the efficiency of a ram-genotyping programme to reduce susceptibility to scrapie in Great Britain. *Preventive Veterinary Medicine*, 56: 227-249
- Arsac J-N, Andreoletti O, Bilheude J-M, Lacroux C, Benestad S L, and Baron T (2007). Similar Biochemical Signatures and Prion Protein Genotypes in Atypical Scrapie and Nor98 Cases, France and Norway. *Emerging Infectious Diseases*, 13: 1
- Asante E A, Linehan J M, Desbruslais M, Joiner S, Gowland I, Wood A L, Welch J, Hill A F, Lloyd S E, Wadsworth J D F and Collinge J (2002). BSE prions propagate as either variant CJD-like or sporadic CJD-like prion strains in transgenic mice expressing human prion protein. *The EMBO Journal*, 21:6358 – 6366.
- Babar M E, Farid A, Benkel B F, Ahmad J, Nadeem A, Imran M(2009). Frequencies of PrP genotypes and their implication for breeding against scrapie susceptibility in nine Pakistani sheep breeds. *Mol Biol Rep* 36:561–565
- Barillet F, Mariat D, Amigues Y, Faugeras R, Caillat H, Moazami-Goudarzi K, Rupp R, Babilliot J M, Lacroux C, Lugan S, Schelcher F, Chartier C, Corbie`re F, Andre`oletti O and Perrin-Chauvineau C (2009). Identification of seven haplotypes of the

caprine PrP gene at codons 127, 142, 154, 211, 222 and 240 in French Alpine and Saanen breeds and their association with classical scrapie. *Journal of General Virology*, 90: 769–776

- Baron T, Bencsik A, Biacabe A-G, Morignat E and Bessen R A (2007). Phenotypic Similarity of Transmissible Mink Encephalopathy in Cattle and L-type Bovine Spongiform Encephalopathy in a Mouse Model. *Emerging Infectious Diseases*, 13: 12.
- Barria M A, Mukherjee A, Gonzalez-Romero D, Morales R, Soto C (2009). De Novo Generation of Infectious Prions In Vitro Produces a New Disease Phenotype. *PLoS Pathogens*, 5: 5
- Baskakov I V (2007). The reconstitution of mammalian prion infectivity de novo. *FEBS Journal*, 274: 576–587
- Basler K, Oesch B, Scott M, Westaway D, Wälchli M, Groth D F, McKinley M P, Prusiner S B and Weissmann C (1986). Scrapie and cellular PrP isoforms are encoded by the same chromosomal gene. *Cell*, 46: 3, 417–428.
- Baylis M, Goldmann W, Houston F, Cairns D, Chong A, Ross A, Smith A, Hunter N and McLean A R (2002). Scrapie epidemic in a fully PrP-genotyped sheep flock. *Journal of General Virology*, 83, 2907–2914
- Baylis M, Chihota C, Stevenson E, Goldmann W, Smith A, Sivam K, Tongue S and Gravenor M B (2004). Risk of scrapie in British sheep of different prion protein genotype. *Journal of General Virology*, 85: 2735–2740
- Beck E, Daniel P M (1969). Degenerative diseases of the central nervous system transmissible to experimental animals. *Postgrad. med. J.*, 45: 361–370.
- Beck J A, Campbell T A, Adamson G, Poulter M, Uphill J B, Molou E, Collinge J, Mead S (2008). Association of a null allele of SPRN with variant Creutzfeldt–Jakob disease. *J Med Genet*, 45:813–817.
- Behrens A, Genoud N, Naumann H, Rüllicke T, Janett F, Heppner F L, Ledermann B and Aguzzi A (2005). Absence of the prion protein homologue Doppel causes male sterility. *The EMBO Journal*, 21: 3652 – 3658.
- Belt P B G M, Muileman I H, Schreuder B E C, Ruijter J B, Gielkens A L J and Smits M A (1995). Identification of five allelic variants of the sheep PrP gene and their association with natural scrapie. *Journal of General Virology*, 76: 509–517.
- Benestad S L, Sarradin P, Thu B, Schönheit J, Tranulis M A and Bratberg B (2003). Cases of scrapie with unusual features in Norway and designation of a new type, Nor98. *Veterinary Record*, 153: 202–208.
- Benestad S L, Arsac J-N, Goldmann W, Nöremark M (2008). Atypical/Nor98 scrapie: properties of the agent, genetics, and epidemiology. *Vet. Res.*, 39:19.
- Béringue V, Bencsik A, Le Dur A, Reine F, Lan Lai T, Chenais N, Tilly G, Biacabé A-G, Baron T, Vilotte J-L, Laude H (2006). Isolation from Cattle of a Prion Strain Distinct

- from That Causing Bovine Spongiform Encephalopathy. *PLoS Pathogens*, 2:10, e112.
- Bhakdi S, Bohl J (2003). Prions, mad cow disease, and preventive measures: a critical appraisal. *Med Microbiol Immunol*, 192: 117–122.
- Billinis C, Panagiotidis C H, Psychas V, Argyroudis S, Nicolaou A, Leontides S, Papadopoulous O and Sklaviadis T (2002). Prion protein gene polymorphisms in natural goat scrapie. *Journal of General Virology*, 83:713–721.
- Billinis C, Psychas V, Leontides L, Spyrou V, Argyroudis S, Vlemmas I, Leontides S, Sklaviadis T and Papadopoulous O (2004). Prion protein gene polymorphisms in healthy and scrapie-affected sheep in Greece. *Journal of General Virology* 85: 547–554
- Blackwood W, Buxton H, Cumings j N, Robertson J and Tucker M (1963). Diffuse cerebral degeneration in infancy (Alpers' disease). *Arch. Dis. Childh.* 38: 193.
- Bolton D C, McKinley M P, Prusiner S B (1982). Identification of a protein that purifies with the scrapie prion. *Science*, 218: 4579, 1309-1311
- Borchelt D R, Taraboulos T and Prusiner S B (1992). Evidence for Synthesis of Scrapie Prion Proteins Endocytic Pathway. *The journal of biological chemistry*, 267: 23, 16188-16199.
- Bosch X (2001), UK drug company's vCJD infected drug causes chaos in Spain. *The Lancet*, 357: 9256, 618, 24.
- Bossers A, Schreuder B E C, Muileman I H, Belt P B G M and Smits M A (1996). PrP genotype contributes to determining survival times of sheep with natural scrapie. *Journal of general virology*, 77:2669-2673.
- Bossers A, Harders F L, and Smits M A (1999). PrP genotype frequencies of the most dominant sheep breed in a country free from scrapie. *Arch Virol* 144: 829–834
- Brown P, Gajdusek D C (1991). Survival of scrapie virus after 3 years' interment. *Lancet*. 2;337(8736):269-70.
- Brown D R, Qin K, Herms J W, Madlung A, Manson J, Strome R, Fraser P E, Kruck T, von Bohlen A, Schulz-Schaeffer W, Giese A, Westaway D, Kretzschmar H (1997). The cellular prion protein binds copper in vivo. *Nature*, 18:25;390
- Brown P (1998). 1755 and all that: a historical primer of transmissible spongiform encephalopathy. *Raymond Bradley British Medical Journal*, 19: 1688–1692.
- Brownstein M J (2004). PCR (Polymerase Chain Reaction) *Encyclopedia of Biological Chemistry*, 3. q
- Bruce M E (1993). Scrapie strain variation and mutation. *Br Med Bull.* ,49(4):822-38.
- Bruce M E, Will R G, Ironside J W, McConnell I, Drummond D, Suttie A, McCordle L, Chree A, Hope J, Birkett C, Cousens S, Fraser H, Bostock C J (1997). Transmissions

to mice indicate that 'new variant' CJD is caused by the BSE agent. *Nature*, 89(6650):498-501.

Büeler H, Fischer M, Lang Y, Bluethmann H, Lipp H-P, DeArmond S J, Prusiner S B, Aguet M & Weissmann C (1992). Normal development and behaviour of mice lacking the neuronal cell-surface PrP protein. *Nature*, 356: 577- 582.

Büeler H, Aguzzi A, Sailer A, Greiner R A, Autenried P, Aguet M, Weissmann C (1993). Mice devoid of PrP are resistant to scrapie. *Cell*, 2:73(7):1339-47.

Buschmann A, Biacabe A G, Ziegler U, Bencsik A, Madec J Y, Erhardt G, Lühken G, Baron T, Groschup M H (2004). Atypical scrapie cases in Germany and France are identified by discrepant reaction patterns in BSE rapid tests. *J Virol Methods*, 117(1):27-36.

Calzolari L, Lysek D A, Pérez D R, Güntert P and Wüthrich K (2005). Prion protein NMR structures of chickens, turtles, and frogs. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 102:3

Capobianco R, Casalone C, Suardi S, Mangieri M, Miccolo C, Limido L, Catania M, Rossi G, Di Fede G, Giaccone G, G Bruzzone M, Minati L, Corona C, Acutis P, Gelmetti D, Lombardi G, Groschup M H, Buschmann A, Zanusso G, Monaco S, Caramelli M, Tagliavini F (2007). Conversion of the BASE Prion Strain into the BSE Strain: The Origin of BSE? *PLoS Pathogens*, 3: 3. e31.

Casalone C, Zanusso G, Acutis P, Ferrari S, Capucci L, Tagliavini F, Monaco S and Maria Caramelli (2004). Identification of a second bovine amyloidotic spongiform encephalopathy: Molecular similarities with sporadic Creutzfeldt-Jakob disease. *PNAS*, 2: 101, 3065-3070.

Casellas J, Caja G, Bach R, Francino O and Piedrafita J (2007). Association analyses between the prion protein locus and reproductive and weight traits in Ripollesa sheep. *Journal of animal science*, 85:592-597.

Caughey B, Race R E, Ernst D, Buchmeier M J and Chesebro B (1989). Prion protein biosynthesis in scrapie-infected and uninfected neuroblastoma cells. *J Virol*, 63(1): 175-181

Caughey B and Baron G S (2006). Prions and their partners in crime. *Nature*, 443:19

Cavallo G, Lembo D, Cavallo- Rivistadi R (2002). Prions: A Mystery Unravelling? *Biologia / Biology Forum* 95: 2, pp. 211-238

Chaudhuri T K and Paul S (2006). Protein-misfolding diseases and chaperone-based therapeutic approaches. *FEBS Journal*, 273:1331–1349

Cho H J (1976). Is the scrapie agent a virus? *Nature* 262: 411 – 412.

Choi S-H, Kim I-C, Kim D-S, Kim D-W, Sung-Hwa C, Choi H-H, Choi I, Yeo J-S, Song M-N and Park H-S (2006). Comparative genomic organization of the human and bovine PRNP locus. *Genomics*, 87: 5, 598-607.

- Claudio S and Joaquin C (2004). The controversial protein-only hypothesis of prion propagation. *Nature Medicine*, 10: S63–S67 .
- Cloucard C, Beaudry P, Elsen J M, Milan D, Dussaucy M, Bounneau C, Schelcher F, Chatelain J, Launay J M and Laplanche T J L (1995). Different allelic effects of the codons 136 and 171 of the prion protein gene in sheep with natural scrapie. *Journal of General Virology*, 76: 2097-2101.
- Cochius J I, Burns R J, Blumbergs P C, Mack K, Alderman C P (1990). Creutzfeldt-Jakob disease in a recipient of human pituitary-derived gonadotrophin. *Australian and New Zealand Journal of Medicine*, 20: 4, 592–593.
- Cochius J I, Hyman N, Esiri M M (1992). Creutzfeldt-Jakob disease in a recipient of human pituitary-derived gonadotrophin: a second case. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*, 55: 1094-1095.
- Colin L M, Harris J O, Gajdusek C, Gibbs C J, Bernoulli C and Asher D M (1979). Creutzfeldt-Jakob Disease: Patterns of Worldwide Occurrence and the Significance of Familial and Sporadic Clustering. *Annals of Neurology*, 5: 2.
- Collinge J, Palmer M S, Dryden A J (1991). Genetic predisposition to iatrogenic Creutzfeldt-Jakob disease, *The Lancet*, 337: 8755, 1441-1442.
- Collinge J, Sidle Katie C L, Meads J, Ironside J & Hill A F (1996). Molecular analysis of prion strain variation and the aetiology of 'new variant' CJD. *Nature*, 383: 685-690.
- Collinge J, Whitfield J, McKintosh E, Beck J, Mead S, Thomas D J, Alpers M P (2006). Kuru in the 21st century—an acquired human prion disease with very long incubation periods. *Lancet*, 24: 367(9528), 2068-74.
- Colussi S, Vaccari G, Maurella C, Bona C, Lorenzetti R, Troiano P, Casalnuovo F, Di Sarno A, Maniaci M G, Zuccon F, Nonno R, Casalone C, Mazza M, Ru G, Caramelli M, Agrimi U and Acutis P L (2008). Histidine at codon 154 of the prion protein gene is a risk factor for Nor98 scrapie in goats *Journal of General Virology*, 89: 3173–3176
- Commission Decision (2002). Laying down minimum requirements for a survey of prion protein genotypes of sheep breed. <http://www.save-foundation.net/intern/pdf/EU%20genotyping%20021218.pdf> Erişim: 19.01.2011
- Commission Decision (2003/100/EC) <http://www.save-foundation.net/intern/pdf/EU%20breeding%20program%20030213.pdf>
- Commission of the European Communities Brussels 20.12.1996 COM(96) 582 final/2 [http://aei.pitt.edu/6290/1/003459\\_1.pdf](http://aei.pitt.edu/6290/1/003459_1.pdf) Erişim 22.11.2011
- Comincini S, Facchetti A, Del Vecchio I, Peoc'h K, Laplanche J L, Magrassi L, Ceroni M, Ferretti L, Nano R (2004). Differential expression of the prion-like protein doppel gene (PRND) in astrocytomas: a new molecular marker potentially involved in tumor progression. *Anticancer Res.* ,24(3a):1507-17.
- Cordeiro Y, Silva J L (2005). The hypothesis of the catalytic action of nucleic acid on the conversion of prion protein. *Protein Pept Lett.* , 12(3):251-5.



- Cosseddu G M, Agrimi U, Pinto J & Schudel A A: (2007). Advances in scrapie research. *Rev. sci. tech. Off. int. Epiz.*, 26: 657-668.
- Crick F (1958). On Protein Synthesis. *The Symposia of the Society for Experimental Biology* 12: 138-163.
- Crick F (1970). Central dogma of molecular biology. *Nature*, 227: 8
- Dawson M and Vilas V D R (2008). Control of classical scrapie in Great Britain. *In Practice*, 30: 330-333.
- Dawson M, Moore R C, Bishop S C (2008). Progress and limits of PrP gene selection policy. *Vet. Res.* 39: 25
- De Bosschere H, Roels S, Vanopdenbosch E, Benestad S L (2004). First Belgian Nor98 scrapie case diagnosed via active surveillance. *Stratfeed Symposium*, 16th – 18th June 2004, Namur -Belgium <http://stratfeed.cra.wallonie.be/doc/poster7-CERVA.pdf>
- De Vries F, Borchers N, Hamann H, Drögemüller C, Reinecke S, Lüpping W, Distl O (2004). Associations between the prion protein genotype and performance traits of meat breeds of sheep. *Veterinary Record* 155: 140-143
- De Vries F, Hamann H, DröGemüller C, Ganter M. And Distl O (2005). Analysis of Associations Between the Prion Protein Genotypes and Production Traits in East Friesian Milk Sheep. *J. Dairy Sci.* 88: 392–398.
- De Armond S J, Mobley W C, DeMott D L, BA, Barry R A, Beckstead J H and Prusiner S B (1987). Changes in the localization of brain prion proteins during scrapie infection. *Neurology*, 37:8, 1271.
- DeBurman S K, Raymond G J, B Caughey, Lindquist S (1997). Chaperone-supervised conversion of prion protein to its protease-resistant PNAS, 94: 25, 13938-13943
- Deleault N R, Lucassen R W and Supattapone S (2003). RNA molecules stimulate prion protein conversion. *Nature* 425: 717-720
- Demirpençe E (2008). 1997 Nobel Tıp Ödülü:bulaşıcı proteinlerin öyküsü. *Hacettepe Tıp Dergisi* 39:1-3
- DeSilva U, Guo X, Kupfer D M, Fernando S C, Pillai A T V, Najjar F Z, So S, Fitch G Q and Roe B A (2003). Allelic variants of ovine prion protein gene (PRNP) in Oklahoma sheep. *Cytogenet Genome Res* 102:89–94
- Detwiler L A (1992). Scrapie, *Rev. sci. tech. Off. int. Epiz.*, 11(2): 491-537.
- Detwiler L A, Baylis M (2003). The epidemiology of scrapie. *rev. Sci. Tech. İnt. Epiz.*, 22 (1): 121-143.
- Dickinson A G, Meikle V M H, Fraser H (1967). Identification of a gene which controls the incubation period of some strains of scrapie agent in mice. *Journal of Comparative Pathology*, 78: 3, 293-299.

- Dickinson A G, Stamp J T and Renwick C C (1974). Maternal and lateral transmission of scrapie in sheep. *J. COMP. PATH.* 84.
- Diepen P V, McLean B and Frost D (2007). Livestock breeds and Organic farming systems. <http://orgprints.org/10822/1/breeds07.pdf> Erişim 15.01.2012
- Donnelly C A, Ferguson N M, Ghani A C and M Roy (2002). Implications of BSE infection screening data for the scale of the British BSE epidemic and current European infection levels. *Anderson Proc Biol Sci.* 7: 269(1506), 2179–2190.
- Drögemüller C, Leeb T and Distl O (2001). Breeding for resistance to scrapie: Detection of polymorphisms in the prion protein gene in German sheep breeds. *Arch. Tierz.*, 44:280-287
- Dumpitak C, Beekes M, Weinmann N, Metzger S, Winklhofer K F, Tatzelt J, Riesner D (2005). The polysaccharide scaffold of PrP 27-30 is a common compound of natural prions and consists of alpha-linked polyglucose. *Biol Chem.*, 386: (11), 1149-55.
- Ebringer A, Pirt J, Wilson C, Cunningham P, Thorpe C and Ettelaie C (1997). Bovine Spongiform Encephalopathy: Is It an Autoimmune Disease Due to Bacteria Showing Molecular Mimicry with Brain Antigens? *Environ Healt Perspct* 105:1172-1174.
- Ebringer A, Pirt J, Wilson C, Thorpe C, Tiwana H, Cunningham P, Ettelaie C (1998). Bovine Spongiform Encephalopathy: Comparison between the 'Prion' Hypothesis and the Autoimmune Theory. *Journal of Nutritional & Environmental Medicine*, 8: 265-273.
- Ehsani S, Huo H, Salehzadeh A, Pocanschi C L, Watts J C, Wille H, Westaway D, Rogaeva E, St George-Hyslop PH, Schmitt-Ulms G (2010). Family reunion--the ZIP/prion gene family. *Prog Neurobiol*, 93(3):405-20.
- Elsen J M, Amigues Y, Schelcher F, Ducrocq V, Andreoletti O, Eychenne F, Khang J V T, Poivey J P, Lantier F and Laplanche J L (1999). Genetic susceptibility and transmission factors in scrapie: detailed analysis of an epidemic in a closed flock of Romanov. *Arch Virol*, 144: 431–445.
- Ervin W, William J W, Harold A S (2001). A role for intermolecular disulfide bonds in prion diseases? *PNAS* , 98:8, 4334–4336.
- Espinosa J-C, Herva M-E, Andréoletti O, Padilla D, Lacroux C, Cassard H, Lantier I, Castilla J and Torres J-M (2009). Transgenic Mice Expressing Porcine Prion Protein Resistant to Classical Scrapie but Susceptible to Sheep Bovine Spongiform Encephalopathy and Atypical Scrapie, *Emerg Infect Dis.* 2009, DOI: 10.3201/eid1508.081218
- Evans M F (2009). The polymerase chain reaction and pathology practice. *Diagnostic Histopathology* 15:7, 344-356.
- Everest S J, Thorne L, Barnicle D A, Edwards J C, Elliott H, Jackman R and Hope J Atypical prion protein in sheep brain collected during the British scrapie-surveillance programme (2006). *J Gen Virol*, 87: 2, 471-477.

- Evoniuk J, Stoltenow C, O'Rourke K, Moore B, Redmer D (2005). Assessment of the Genetic Risk and Impact of Lateral Transmission in a Valine-Associated Scrapie Outbreak in Sheep. *American Journal of Veterinary Research*, 66(8):1-6
- Ferguson N M, Donnelly C A, Woolhouse M E J and Anderson R M (1997). The epidemiology of BSE in cattle herds in Great Britain. II. Model construction and analysis of transmission dynamics. *Phil. Trans. R. Soc. Lond. B*, 352(1355): 803–838.
- Fediaevsky A, Morignat E, Ducrot C and Calavas D (2009). A Case–Control Study on the Origin of Atypical Scrapie in Sheep. *France Emerging Infectious Diseases*, 15: 5
- Fediaevsky A, Calavas D, Gasqui P, Moazami-Goudarzi K, Laurent P, Arsac J-N, Ducrot C and Moreno C (2010). Quantitative estimation of genetic risk for atypical scrapie in French sheep and potential consequences of the current breeding programme for resistance to scrapie on the risk of atypical scrapie. *Genetics Selection Evolution* 42:14
- Fischer R (2010). Prion Diseases In North America. John NAVC Conference <http://www.cabi.org/cabdirect/FullTextPDF/2010/20103178367.pdf> Erişim: 25.05.2011
- Fontaine S N and Brown D R (2009). Mechanisms of Prion Protein Aggregation. *Protein & Peptide Letters*, 16: 14-26.
- Foster J D and Dickinson A G (1988). The unusual properties of CH1641, a sheep-passaged isolate of scrapie. *Veterinary Record*, 123:5-8.
- Foster J D, Hope J and Fraser H (1993). Transmission of bovine spongiform encephalopathy to sheep and goats. *Veterinary Record*, 133:339-341
- Foster J, McKenzie C, Parnham D, Drummond D, Goldmann W, Stevenson E, Hunter N (2006). Derivation of a scrapie-free sheep flock from the progeny of a flock affected by scrapie. *Vet Rec.* 8:159, (2):42-5.
- Fournier J-G, Escaig-Haye F, Villemeur T B, Robain O, Lasmézas C I, Deslys J-P, Dormont D and Brown P (1998). Distribution and submicroscopic immunogold localization of cellular prion protein (PrP<sub>c</sub>) in extracerebral tissues. *Cell and Tissue Research*, 292: 1, 77-84.
- França L, Carrilho E and Kist L (2005). Quarterly A review of DNA sequencing techniques. *Reviews of Biophysics*, 35: 2, 169-200
- François D; Elsen J M; Barillet F; Lajous D; Eychenne F; Palhiere I (2002). Breeding sheep for scrapie resistance. Proceedings of the meeting of the Sub-Network on Genetic Resources of the FAO-CIHEAM Inter-Regional Cooperative Research and Development Network on sheep and goats, jointly organized by CIHEAM, FAO and Istituto Zootecnico e Caseario per la Sardegna (IZCS), Sassari (Italy), 9-11 May 2002FAO/CIHEAM/IZCS 29-35

- Frootan F, Nikbakht G, Ozgentürk N O, Ün C (2011). Prion Protein Coding Gene (PRNP) Variability in Sheep from Turkey and Iran. *Biochem Genet* DOI 10.1007/s10528-011-9470-4
- Gama L T, Carolini M I, Santos-Silvia M F, Pimenta J A and Costa M S (2006). Prion protein genetic polymorphisms and breeding strategies in Portuguese breeds of sheep. *Livestock Science* 99: 175– 184.
- Gambetti P Kong, Q, Zou W, Parchi P and Chen S G (2003). Sporadic and familial CJD: classification and characterisation. *Br Med Bull*, 66 (1): 213-239.
- Gavier-Widén D, Nöremark M, Benestad S, Simmons M, Renström L, Bratberg B, Elvander M, af Segerstad C H (2004). Recognition of the Nor98 variant of scrapie in the Swedish sheep population. *J Vet Diagn Invest.* 16(6):562-7.
- Georgsson G, Sigurdarson S, Brown P (2006). Infectious agent of sheep scrapie may persist in the environment for at least 16 years. *J Gen Virol.* 87(Pt 12):3737-40.
- Ghani A C (2002). The epidemiology of variant Creutzfeldt-Jakob disease in Europe. *Microbes Infect.* 4(3):385-93.
- Ghetti B, Dlouhy S R, Giaccone G, Bugiani O, Frangione B, Farlow M R, Tagliavini F (1995). Gerstmann-Straussler-Scheinker disease and the Indiana kindred. *Brain Pathology*, 5, 1, 61-75.
- Glatzel M, Ott P M, Linder T, Gebbers J O, Arnold G, Wüst W, Huber G, Moch H, Podvinec M, Stamm B and Aguzzi A (2003). Human prion diseases: epidemiology and integrated risk assessment. *The Lancet Neurology*, 2: 757-763.
- Goldfarb L G, Brown P, Mitrovà E, Cervenáková L, Goldin L, Korczyn A D, Chapman J, Gálvez S, Cartier L, Rubenstein R (1991). Creutzfeldt-Jacob disease associated with the PRNP codon 200Lys mutation: an analysis of 45 families. *Eur J Epidemiol.* 7(5):477-86.
- Goldfarb L G, Cervenakova L, Gajdusek D C (2004). Genetic studies in relation to kuru: an overview. *Curr Mol Med.* , 4(4):375-84.
- Goldmann W, Hunter N, Fosters J D, Salbaum J M, Beyreuther K and Hopes J (1990). Two alleles of a neural protein gene linked to scrapie in sheep. *Proc. Nati. Acad. Sci. USA*, 87: 2476-2480.
- Goldmann W, Hunter N, Benson G, Foster J D and Hope J (1991). Different scrapie-associated fibril proteins (PrP) are encoded by lines of sheep selected for different alleles of the Sip gene. *Journal of General Virology*, 72: 2411-2417.
- Goldmann W, Baylis M, Chihota C, Stevenson E and Hunter N (2005). Frequencies of PrP gene haplotypes in British sheep flocks and the implications for breeding programmes. *Journal of Applied Microbiology* 98: 1294–1302
- Goldmann W, Houston F, Stewart P, Perucchini M, Foster J, Hunter N (2006). Ovine prion protein variant A(136)R(154) L(168)Q(171) increases resistance to experimental

- challenge with bovine spongiform encephalopathy agent. *J Gen Virol.* 87: 12, 3741-5.
- Gönülalp İ (2008). Türkiye'deki melez koyun ırklarında prion geni analizi. Y. Lisans Tezi, Yıldız Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü
- Gootwine E, Abdulkhaliq A, Jawasreh K I Z, Valle Zarate A (2008). Screening for polymorphism at the prion protein (PrP) locus ( PRNP) in Awassi and Assaf populations in Israel, the Palestinian Authority and Jordan *Small Ruminant Research* 77: 80–83
- Gordon W S (1946). Louping-ill, Tick-borne Fever and Scrapie. *The Veterinary Record*, 58: 47, 516.
- Gorjanc G, Plohl M and Kompan D (2008). Calculation of prp genotype and NSP type probabilities in Slovenian sheep *Acta agriculturae Slovenica*, 92:2
- Gorjanc G, Kovač M, Kompan D (2010). Inference of genotype probabilities and derived statistics for PrP locus in the Jezersko Solcava sheep. *Livestock Science* 129: 232-236
- Gravenor M B, Cox D R, Hoinville L J, Hoek A & McLean A R (2000). Encephalopathies: Scrapie in Britain during the BSE years. *Nature* 406: 584-585
- Groschup M H, Lacroux C, Buschmann A, Lühken G, Mathey J, Eiden M, Lugan S, Hoffmann C, Espinosa J C, Baron T, Torres J M, Erhardt G and Andreoletti O (2007). Classic Scrapie in Sheep with the ARR/ARR Prion Genotype in Germany and France *Emerging Infectious Diseases*, 13: 8
- Hadlow W J (1995). Neuropathology and the Scrapie-Kuru Connection. *Brain Pathology*, 5: 1, 27–31.
- Hadlow W J (2008). Kuru likened to scrapie: the story remembered. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci.* 27: 363(1510), 3644.
- Hagenaars T J, Melchior M B, Bossers A, Davidse A, Engel B and van Zijderveld F G (2010). Scrapie prevalence in sheep of susceptible genotype is declining in a population subject to breeding for resistance. *BMC Vet Res.*, 6: 25
- Haigh C L and Brown D R (2006). Prion protein reduces both oxidative and non-oxidative copper toxicity. *Journal of Neurochemistry*, 98: 677–689.
- Haybaeck J, Heikenwalder M, Klevenz B, Schwarz P, Margalith I, Bridel C, Mertz K, Zirdum E, Petsch B, Fuchs T J, Stitz L, Aguzzi A (2011). Aerosols Transmit Prions to Immunocompetent and Immunodeficient Mice. *PLoS Pathogens*, 7: 1.
- Healy A M, Hannon D, Morgan K L, Weavers E, Collins J D, Doherty M L (2004). A paired case–control study of risk factors for scrapie in Irish sheep flocks. *Preventive Veterinary Medicine*, 64: 73–83

- Hill A F, Joiner S, Linehan J, Desbruslais M, Lantos P L and Collinge J (2000). Species-barrier-independent prion replication in apparently resistant species. *PNAS*, 97: 18, 10248-10253.
- Hoinville Linda J, Tongue S C, Wilesmith J W (2010). Evidence for maternal transmission of scrapie in naturally affected flocks. *Preventive Veterinary Medicine*, 93: 121–128.
- Hope J, Hunter N C (1988). Scrapie-associated fibrils, PrP protein and the Sinc gene. *Found Symp.* , 135:146-63.
- Hopp P, Ulvund M J , Jarp, J. (2001). A Case-Control Study On Scrapie In Norwegian Sheep Flocks *Preventive Veterinary Medicine* 51: 183-198
- Hopp P, Omer M K and Heier B T (2006). A case–control study of scrapie Nor98 in Norwegian sheep flocks. *J Gen Virol*, 87:12, 3729-3736.
- Horiuchi M, Yamazaki N, Ikeda T, Ishiguro N, Shinagawa M (1995b). A cellular form of prion protein (PrPC) exists in many non-neuronal tissues of sheep. *J Gen Virol.* ,76: 10, 2583-2587.
- Hornshaw M P, McDermott J R, Candy J M (1995). Copper binding to the N-terminal tandem repeat regions of mammalian and avian prion protein. *Biochem Biophys Res Commun.* , 15:207(2):621-9
- Hsiao K, Baker H F, Crow T J, Poulter M, Owen F, Terwilliger J D, Westaway D, Ott J, Prusiner S B (1989). Linkage of a prion protein missense variant to Gerstmann-Straussler syndrome, *Nature*, 338, 6213, 342-345.
- Hunter N, Foster J D, Dickinson A G, Hope J (1989). Linkage of the gene for the scrapie-associated fibril protein (PrP) to the Sip gene in Cheviot sheep. *Vet Rec.* 1989, 8:124(14):364-6.
- Hunter N, Goldmann W, Smith G and Hope J (1994). The association of a codon 136 PrP gene variant with the occurrence of natural scrapie *Arch Virol*, 137:171-t77
- Hunter N, Goldmann W, Foster J D, Cairns D, Smith G (1997). Natural scrapie and PrP genotype: case-control studies in British sheep. *Veterinary Record*, 141: 6, 137-140.
- Hunter N and Cairns D (1998). Scrapie-free Merino and Poll Dorset sheep from Australia and New Zealand have normal frequencies of scrapie-susceptible PrP genotypes. *Journal of General Virology* 79: 2079–2082
- Hunter N (2003). Scrapie and experimental BSE in sheep. *Br Med Bull*, 66(1): 171-183.
- Ianella P, McManus C M, Caetano A R, Paiva S R(2011). PRNP haplotype and genotype frequencies in Brazilian sheep: Issues for conservation and breeding programs. *Research in Veterinary Science* 2011
- Ikeda T, Horiuchi M, Ishiguro N, Muramatsu Y, Kai-Uwe G D and Shinagawa M(1995). Amino acid polymorphisms of PrP with reference to onset of scrapie in Suffolk and Corriedale sheep in Japan. *Journal of General Virology* 76: 2577-2581

- Inoue Y (2009). Life Cycle of Yeast Prions: Propagation Mediated by Amyloid Fibril. *Protein & Peptide Letters*, 16: 271-276
- Jeffrey M and Wells G A H (1988). Spongiform Encephalopathy in a Nyala (*Tragelaphus angusi*). *Vet. Pathol.* 25:398-399.
- Karami M, Amirinia C, Kashan N E J, Amirmozafari N, Chamani M and Banabazi M H (2011). Polymorphisms of the prion protein gene Arabi sheep breed in Iran *African Journal of Biotechnology*, 10(70): 15819-15822
- Kastelic M, Kompan D (2009). The Effect Of Prp Genotype On Growth Of Rams On Test Station Biotechnology in Animal Husbandry. 25(5-6):277-284
- Kastelic M, Horvat S and Kompan D (2010). Effect of PrP genotype on milk traits in Bovška sheep. *Archiv Tierzucht* 53: 2, 194-204
- King, R C, Stansfield W D, Mulligan P K (2006). *A Dictionary of Genetics*, 7th Edition Oxford University Press. 346
- Kirkwood J K, Wells G A, Wilesmith J W, Cunningham A A, Jackson S I (1990). Spongiform encephalopathy in an arabian oryx (*Oryx leucoryx*) and a greater kudu (*Tragelaphus strepsiceros*). *Vet Rec.* 127(17):418-20.
- Klein TR, Kirsch D, Kaufmann R, Riesner D (1998). Prion rods contain small amounts of two host sphingolipids as revealed by thin-layer chromatography and mass spectrometry. *Biol Chem.* ,379:655-66.
- Knight R S G, Will R G (2004). Prion Diseases. *Neurol Neurosurg Psychiatry*, 75:i36-i42
- Konold T, Moore S J, Bellworthy S J and Simmons H A (2008). Evidence of scrapie transmission via milk. *BMC Veterinary Research*, 4:14
- Krebs B, Wiebelitz A, Balitzki-Korte B, Vassallo N, Paluch S, Mitteregger G, Onodera T, Kretzschmar H A and Herms J J (2007). Cellular prion protein modulates the intracellular calcium response to hydrogen peroxide. *neurochem.* ,100: 358–367.
- Kupfer L, Hinrichs W, Groschup M H (2009). Prion Protein Misfolding. *Current Molecular Medicine*, 9: 7, 826-835
- L'Homme Y, Leboeuf A, Cameron J (2008). PrP genotype frequencies of Quebec sheep breeds determined by real-time PCR and molecular beacons *The Canadian Journal of Veterinary Research*,72:320–324
- Lacroux C, Corbie `Re F, Tabouret G, Lugan S, Costes P, Mathey J , Delmas J M , Weisbecker J L , Foucras G, Cassard H, Elsen J M, Schelcher F and Andre ´Oletti O (2007). Dynamics and genetics of PrP<sup>Sc</sup> placental accumulation in sheep. *Journal of General Virology*, 88: 1056–1061.
- Laegreid W W, Clawson M L, Heaton M P, Green B T, O'Rourke K I and Knowles D P
- Lagriffoul G, Astruc J M, Barillet F, Bouix J, Bouffartigue B, François D, Larroque H, Praud J P, Raoul J, Rupp R, Sidani C and Tiphine L (2010). Sheep breeding programs in

France using modern reproductive methods: application for genetic improvement of scrapie resistance in the national sheep flock 8th World Merino Conference, May 3-5, Rambouillet, France

- Laplanche J L, Delasnerie-Lauprêtre N, Brandel J P, Chatelain J, Beaudry P, Alperovitch A, Launay J M (1994). Molecular genetics of prion diseases in France. French Research Group on Epidemiology of Human Spongiform Encephalopathies. *Neurology*, 44(12):2347-51.
- Laurent M (1996). Prion diseases and the 'protein only' hypothesis: a theoretical dynamic study. *Biochem J.*, 15: 318, 35–39.
- Lee M A, Manley T R, Glass B C, Anderson R M, Wilson S J, O'Keefe J S, Tisdall D J, McEwan J C, Phua S H & Tate M L(2007). Distribution of prion protein genotypes in breeds of sheep in New Zealand. *New Zealand Veterinary Journal* 55:5,222-227
- Legname G, Nelken P, Guan Z, Kanyo Z F, DeArmond S J and Prusiner S B (2002). Prion and doppel proteins bind to granule cells of the cerebellum. *PNAS*, 99: 25,16285–16290.
- Li A, Sakaguchi S, Shigematsu K, Atarashi R, Roy B C, Nakaoke R, Arima K, Okimura N, Kopacek J, Katamine S (2000). Physiological expression of the gene for PrP-like protein, PrPLP/Dpl, by brain endothelial cells and its ectopic expression in neurons of PrP-deficient mice ataxic due to Purkinje cell degeneration. *Am J Pathol.*, 157(5):1447-52.
- Liberski P P and Gajdusek D C (1997). Kuru: Forty Years Later, A Historical Note. *Brain Pathology*, 7: 555-560.
- Ligos C, Giovanna Cancedda M, Carta A, Santucci C, Maestrale C, Demontis F, Saba M, Patta C, DeMartini J C, Aguzzi A and Sigurdson C J. Sheep with Scrapie and Mastitis Transmit Infectious Prions through the Milk *Journal of Virol* 2011, 85(2):1136. DOI: 10.1128/JVI.02022-10
- Lin J-C and Liu H-L (2006). Protein Conformational Diseases: From Mechanisms to Drug Designs. *Current Drug Discovery Technologies*, 3: 145-153.
- Lloyd S E, Grizenkova J, Pota H (2009). Collinge Shadoo (Sprn) and prion disease incubation time in mice. *J Mamm Genome*, 20(6): 367-74.
- Loiacono C M, Thomsen B V, Hall S M, Kiupe M, Sutton D, O'Rourke K, Barr B, Anthenill L, Keane D (2009). Nor98 scrapie identified in the United States. *J Vet Diagn Invest* 21:454-463.
- Lühken G, Buschmann A, Groschup M H and Erhardt G (2004). Prion protein allele A136 H154 Q171 is associated with high susceptibility to scrapie in purebred and crossbred German Merinoland sheep *Arch Virol* 149: 1571–1580
- Lühken G, Buschmann A, Brandt H, Eiden M, Groschup M H, Erhardt G (2007). Epidemiological and genetical differences between classical and atypical scrapie cases. *Vet. Res* 38: 65–80.



- Lühken G, Lipsky S, Peter C, Erhardt G (2008). Prion protein polymorphisms in autochthonous European sheep breeds in respect to scrapie eradication in affected flocks *Small Ruminant Research* 75: 43–47
- Lupi O and Achiame M (2007). Peryassu An Emerging Concept of Prion Infections as a Form of Transmissible Cerebral Amyloidosis. *Prion*, 1(4): 223–227.
- MacKnight C (2001). Clinical Implications of Bovine Spongiform Encephalopathy. *Food Safety C1d*, 32: 1726-1731
- Maestrale C, Carta A, Attene S, Galistu A, Santucciu C, Cancedda M G, Saba M, Sechi S, Patta C, Bandino E and Ligios C (2009). p.Asn176Lys and p.Met137Thr dimorphisms of the PRNP gene significantly decrease the susceptibility to classical scrapie in ARQ/ARQ sheep. *Animal Genetics*, 40: 982–985.
- Makrinou E, Collinge J, Antoniou M (2002). Genomic characterization of the human prion protein (PrP) gene locus. *Mammalian Genome*, 13: 696–703.
- Manetto V, Medori R, Cortelli P, Montagna P, Tinuper P, Baruzzi A, Rancurel G, Hauw J J, Vanderhaeghen J J, Maillieux P (1992). Fatal familial insomnia: clinical and pathologic study of five new cases. *Neurology*, 42(2):312-9.
- Marijanovic Z, Caputo A, Campana V, Zurzol C (2009). Identification of an Intracellular Site of Prion Conversion. *PLoS Pathogens*, 5: 5, e1000426
- Marsh R F and Hadlow W J (1992). Transmissible mink encephalopathy. *Rev. sci. tech. Off. int. Epiz.*, 11(2): 539-550
- Martinsa V R, Lindenb R, Prado M A M, Walz R, Sakamotod A C, Izquierdoe I, Brentani R R (2002). Cellular prion protein: on the road for functions. *FEBS Letters*, 512: 25-28
- Maurizio Pocchiari (1997). Animal vaccine-related Transmissible Spongiform Encephalopathy risks: Scrapie outbreak in Italy. WHO Consultation on Public Health and Animal Transmissible Spongiform ncephalopathies: Epidemiology, Risk and Research Requirements, Geneva, Swizterland 1-3 December 1999
- May W W (1968), Creutzfeldt-jakob disease. *Acta Neurol. Scandinav.* 44: 1-32
- McIntyre K M, Gubbins S, Goldmann W, Hunter N, Baylis M (2008). Epidemiological Characteristics of Classical Scrapie Outbreaks in 30 Sheep Flocks in the United Kingdom *PLoS ONE*, 3: 12, e3994
- McKinley M P, Taraboulos A, Kenaga L, Serban D, Stieber A, DeArmond S J, Prusiner S B, Gonatas N (1991). Ultrastructural localization of scrapie prion proteins in cytoplasmic vesicles of infected cultured cells. *Laboratory investigation a journal of technical methods and pathology*, 65; 6, 622-630.
- McKintosh E, Tabrizi S J and Collinge J (2003). Prion diseases. *Journal of NeuroVirology*, 9: 183–193.

- Medori Ra, Tritschler H-J, LeBlanc A, Villare F, Manetto V, Chen M.S H Y, Xue R, Leal S, Montagna P, Cortelli P, Tinuper P, Avoni P, Mochi M, Baruzzi A, Hauw J J, Ott J, Lugaresi E, Autilio-Gambetti L and Gambetti P (1992). Fatal Familial Insomnia, a Prion Disease with a Mutation at Codon 178 of the Prion Protein Gene. *N Engl J Med*, 326:444-449.
- Michel V and Bakovic M (2007). Lipid rafts in health and disease. *Biol. Cell*, 99: 129–140
- Mo H, Moore R C, Cohen F E, Westaway D, Prusiner S B, Wright P E, and Dyson H J (2001). Two different neurodegenerative diseases caused by proteins with similar structures. *PNAS*, 98: 52352–2357
- Molina A, Juárez M and Rodero A (2006). Merino sheep breed's genetic resistance to scrapie: genetic structure and comparison of five eradication strategies. *Prev Vet Med*. 17: 75(3-4).
- Moore R C, Lee I Y, Silverman G L, Harrison P M, Strome R, Heinrich C, Karunaratne A, Pasternak S H, Chishti M A, Liang Y, Mastrangelo P, Wang K, Smit Afa, Katamine S, Carlson G A, Cohen F E, Prusiner S B, Melton D W, Tremblay P, Hood LE, Westaway D (1999). Ataxia in prion protein (PrP)-deficient mice is associated with upregulation of the novel PrP-like protein Doppel. *Journal of molecular biology*, 292: 4, 797-817.
- Morales R, Abid K, Soto C (2007). The prion strain phenomenon: molecular basis and unprecedented features. *Biochim Biophys Acta*. ,1772(6):681-91.
- Morange M (2008). What history tells us XIII. Fifty years of the Central Dogma *J. Biosci.*, 33:2, 171–175
- Moreno C R, Moazami-Goudarzi K, Laurent P, Cazeau G, Andreoletti O, Chadi S, Elsen J.-M and Calavas D (2007). Which PrP haplotypes in a French sheep population are the most susceptible to atypical scrapie? *Arch Virol*, 152: 1229–1232.
- Moum T, Olsaker I, Hopp P, Moldal T, Valheim Mette, Moum T and Benestad S L (2005). Polymorphisms at codons 141 and 154 in the ovine prion protein gene are associated with scrapie Nor98 cases. *Journal of General Virology*, 86:231–235.
- Mullis K B (1990). The Unusual Origin of the Polymerase Chain Reaction. *Scientific American* 56-65
- Nathanson N, Wilesmith J and Griot C (1997). Bovine Spongiform Encephalopathy (BSE): Causes and Consequences of a Common Source Epidemic. *Am. J. Epidemiol.* 145 (11): 959-969.
- National Scrapie Surveillance Plan (2011) [http://www.aphis.usda.gov/animal\\_health/animal\\_diseases/scrapie/downloads/national\\_scrapie\\_surv\\_plan.pdf](http://www.aphis.usda.gov/animal_health/animal_diseases/scrapie/downloads/national_scrapie_surv_plan.pdf) Erişim 3.12.2011
- Nentwig A, Oevermann A, Heim D, Botteron C, Zellweger K, Drögemüller C, Zurbriggen A, Seuberlich T (2007). Diversity in Neuroanatomical Distribution of Abnormal Prion Protein in Atypical Scrapie. *PLoS Pathog.* ,3(6):e82.

- Nodelijk G, van Roermund H J, van Keulen L J, Engel B, Vellema P, Hagens T J (2011) Breeding with resistant rams leads to rapid control of classical scrapie in affected sheep flocks. *Veterinary Research*, 42:5, 3-11.
- O'doherty E, Healy A, Aherne M, Hanrahan J P, Weavers E, Doherty M, Roche J F, Gunn M, Sweeney T (2002). Prion protein (PrP) gene polymorphisms associated with natural scrapie cases and their flock-mates in Ireland *Research in Veterinary Science*, 73: 243–250
- Öner Y, Yesilbag K, Tuncel E and Elmaci C (2011). Prion protein gene (PrP) polymorphisms in healthy sheep in Turkey. *Animal*, 5:11, 1728–1733.
- O'Rourke K I, Feng Y, Rendulich J, DiFruscio C (2010). Prion genotypes of scrapie-infected Canadian sheep 1998–2008. *The Canadian Journal of Veterinary Research*, 74:228–232
- Özkan E, Soysal M I, Uzun B, Özkorkmaz E G, Togan I. (2011) Prp Gene Based Scrapie Susceptibility in Native Turkish Sheep: Do We Need To Introduce a Breeding Programme to Select For Resistance to Scrapie in Turkey?. *Sustainable Conservation of Livestock Breeds Diversity for the Future: Impact of Globalization of Animal Breeding and the Loss of Farm Animal Genetic Diversity - a Conflict? RBI 8th Global Conference on the Conservation of Animal Genetic Resources, Tekirdağ / Türkiye, 4-8 OCTOBER 2011*
- Palhière I, Brochard M, Astruc J-M, Barillet F, Bed'Hom B, Bibé1 B, Bouix J, Elsen O C J-M, François D, Griffon L, Jullien E, Orlianges M, Perret G, Tribon P (2011) Breeding For Scrapie Resistance In France 55th Annual meeting of the European Association for Animal Production Bled, September 5th-9th, 2004 Commission on Animal Genetics, [http://www.eaap.org/Previous\\_Annual\\_Meetings/2004Bled/papers/GM2.16\\_Palhiere.pdf](http://www.eaap.org/Previous_Annual_Meetings/2004Bled/papers/GM2.16_Palhiere.pdf) Erişim: 22.11.2011
- Pan K-M, Baldwin M, Nguyen J, Gasset M, Serban A, Groth D, Mehlhorn I, Huang Z, Fletterick R J, Cohen F E (1992). Conversion of  $\alpha$ -helices into  $\beta$ -sheets features in the formation of the scrapie prion proteins. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 90: 10962-10966.
- Parchi P, Chen S G, Brown P, Zou W, Capellari S, Budka H, Hainfellner J, Reyes P F, Golden G T, Hauw J J, Gajdusek D. C and Gambetti P (1998). Different patterns of truncated prion protein fragments correlate with distinct phenotypes in P102L Gerstmann–Sträussler–Scheinker disease. *PNAS*, 95: 14 8322-8327.
- Parchi P, Wenquan Z, Wang W, Brown P, Capellari S, Ghetti B, Kopp N, Schulz-Schaeffer W J, Kretzschmar H A, Head M W, Ironside J W, Gambetti P and Chen S G (2000). Genetic influence on the structural variations of the abnormal prion protein. *PNAS*, 97: 18, 10168-10172.

- Philippe P, Ducrot C, Pascal R, Laurent R, Nathalie J and Calavas D (2005). Sheep Feed and Scrapie. France Emerging Infectious Diseases. 11: 8.
- Pongolini S, Bergamini F, Iori A, Migliore S, Corradi A, Bassi S (2009). Prion protein genotypes of Italian sheep breeds with lysine-171 and phenylalanine-141 detection. Veterinary Microbiology 137: 1-2, 18
- Powell-Jackson J, Kennedy P, Whitcombe E M, Weller R O, Preece M A, Newsom-Davis J (1985). Creutzfeldt-jakob disease after administration of human growth hormone. The Lancet, 326: 8449, 244-246.
- Premzl M, Sangiorgio L, Strumbo B, Graves J A. M, Simonic T and Gready J E (2003). Shadoo, a new protein highly conserved from fish to mammals and with similarity to prion protein. Gene, 18:314,89-102.
- Premzl M and Gamulin V (2007). Comparative genomic analysis of prion genes. BMC Genomics, 8: 1.
- Prusiner S B (1982). Novel proteinaceous infectious particles cause scrapie. Science, 9:216, 4542
- Prusiner S B (1991). Molecular biology of prion diseases. Science, 14:252 (5012):1515-22
- Prusiner S B (1994). Inherited prion diseases. Proc. Natl.Acad.Sci. USA, 91:4611-4614.
- Prusiner S B, Hsiao K K (1994). Human prion diseases. Annals of Neurology, 35: 4, 385–395.
- Prusiner S B (1997). Prion Diseases and BSE crisis. Science 278:245-251
- Prusiner S B (1998). Prion Biology and Diseases. Cold Spring Harbor Laboratory Press, 794, New York.
- Prusiner S B (1998). Prions. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 95: pp. 13363–13383.
- Prusiner S B (1999). Prion Biology And Diseases. Cold Spring Harbor Laboratory Press. 2: 7, USA.
- Pushie M J, Pickering I J, Martin G R, Tsutsui S, Jirik F R and George G N (2011). Prion protein expression level alters regional copper, iron and zinc content in the mouse brain. Metallomics, 3: 206-214
- Regulation (Ec) No 999/2001 Of The European Parliament And Of The Council [http://ec.europa.eu/food/fs/afs/marktlab/marktlab14\\_en.pdf](http://ec.europa.eu/food/fs/afs/marktlab/marktlab14_en.pdf)
- Richt J A, Kunkle R A, Alt D, Nicholson E M, Hamir A N, Czup S, Kluge J, Davis A J, Hall S M (2007) Identification and Characterization of two Bovine Spongiform Encephalopathy cases Diagnosed in the United States. Journal of Veterinary Diagnostic Investigation, 19: 2 142-154.
- Riesner D (2003). Biochemistry and structure of PrP<sup>C</sup> and PrP<sup>Sc</sup>. Br Med Bull, 66 (1): 21-33

- Rodríguez-Martínez A B, Garrido J M, Maza S, Benedicto L, Geijo M, Gómez N, Minguijón E, Benestad and S L, Juste R A (2010). Atypical/Nor98 scrapie in the Basque Country: a case report of eight outbreaks. *BMC Veterinary Research*, 6:17.
- Roels S, Renard C, De Bosschere H, Geeroms R, Van Poucke M, Peelman L & Vanopdenbosch E (2002). Detection of polymorphisms in the prion protein gene in the Belgian sheep population: Some preliminary data *General Virology*, 83: 2907–2914
- Rognoni P, Chiarelli L R, Comincini S, Azzalin A, Miracco C, Valentini G (2010). Biochemical signatures of doppel protein in human astrocytomas to support prediction in tumor malignancy. *J Biomed Biotechnol*, 301067, 9.
- Rongyan Z, Xianglong L, Lanhui L, Xiangyun L AND Fujue F (2008). Evolution and Differentiation of the Prion Protein Gene (PRNP) Among Species. *N Journal of Heredity*, 99(6):647–652.
- Sakudo A and Curr K I (2009). Prion Protein Functions and Dysfunction in Prion Diseases. *Med Chem.* ,16(3):380-9.
- Santucci C, Maestrone C, Madau L, Attene S, Cancedda M G, Demontis F, Tilocca M G, Saba M, Macciocu S, Carta A and Ligios C (2010). Association of N176K and L141F dimorphisms of the PRNP gene with lack of pathological prion protein deposition in placentas of naturally and experimentally scrapie-affected i ARQ/ARQ sheep. *J Gen Virol*, 91: 2402-2407.
- Sarradin P, Melo S, Barc C, Lecomte C, Andréoletti O, Lantier F, Dacheux J-L and Gatti J-L (2008). Semen from scrapie-infected rams does not transmit prion infection to transgenic mice. *Reproduction*, 135: 415-418
- Saunders G C, Cawthraw S, Mountjoy S J, Hope J and Windl O (2006.) PrP genotypes of atypical scrapie cases in Great Britain. *Journal of General Virology* 87: 3141–3149
- Saunders S E, Bartelt-Hunt S L, Bartz J C (2008). Prions in the environment Occurrence, fate and mitigation. *Prion*, 2(4): 162–169
- Saunders G C, Lantier I, Cawthraw S, Berthon P, Moore S J, Arnold M E, Windl O, Simmons M M, Andre´ oletti O, Bellworthy S and Lantier F (2009). Protective effect of the T112 PrP variant in sheep challenged with bovine spongiform encephalopathy. *Journal of General Virology*, 90: 2569–2574.
- Sawalha R M, Villanueva B, Brotherstone S, Rogers P L, Lewis R M (2010). Prediction of prion protein genotype and association of this genotype with lamb performance traits of Suffolk sheep. *J Anim Sci.* 88(2):428-34.
- Schröder B, Franz B, Hempfling P, Selbert M, Jürgens T, Kretzschmar H A, Bodemer M, Poser S, Zerr I (2001). Polymorphisms within the prion-like protein gene (Prnd) and their implications in human prion diseases, Alzheimer’s disease and other neurological disorders. *Hum Genet.* , 109(3):319-25.
- Scott H C (2009). Protein-misfolding in neurodegenerative disease. *Internet Journal of Neurology*, 11: 2

- Sezenler T, Özder M (2009). Türkiye’de Merinoslaştırma Çalışmaları Hasad Hayvancılık Dergisi, 25:291.
- Shkundina I S and Ter-Avanesyanyan M D (2007). Prions. Biochemistry, 72: 13, pp. 1519\_1536
- Sidani C, Astruc J-M, Baelden M, Barillet F, Bibé B, Bonnot A, Boscher M-Y, Bouchel D, Bouffartigue B, Bouix J, Brochard M, Dion F, Francois D, Jouhet E, Jullien E, Leymarie C, Moreno C R, Orlianges M, Palhière I, Perret G, Raoul J, Raynal A, Tiphine L, Tribon P (2012). The French Ovine Scrapie Plan: Results And Prospects. <http://www.kongressband.de/wcgalp2010/assets/pdf/0412.pdf> erişim: 21.01.2012
- Sigurdson C J, Peter K, Nilsson R, Hornemann S, Manco G, Fernández-Borges N, Schwarz P, Castilla J, Wüthrich K and Aguzzi A (2010). A molecular switch controls interspecies prion disease transmission in mice. The Journal of Clinical Investigation, J Clin Invest. , 120: (7):2590–2599.
- Silverman G L, Qin K, Moore R C, Yang Y, Mastrangelo P, Tremblay P, Prusiner S B, Cohen F E and Westaway D (2000). Doppel Is an *N*-Glycosylated, Glycosylphosphatidylinositol-anchored Protein. The journal of biological chemistry, 275: 35, 26834–26841.
- Singh A, Mohan M L, Isaac A O, Luo X, Petrak J, Vyoral D, Singh N (2009). Prion Protein Modulates Cellular Iron Uptake: A Novel Function with Implications for Prion Disease Pathogenesis. PLoS ONE, 4: 2, e4468
- Singh N, Das D, Singh A, Maradumane L (2010). Prion protein and metal interaction: physiological and pathological implications. Current Issues in Molecular Biology 12: 2, 99-107
- Solforosi L, Bellon A, Schaller M, Cruite J T, Abalos G C, Williamson R. A (2007). Toward molecular dissection of PrPC-PrPSc interactions. The Journal of Biological Chemistry, 282 : 10, P: 7465-7471
- Sönmez R, Kaymakçı M, Eliçin A, Tuncel E, Wassmuth R, Taşkın T (2009). Türkiye Koyun Islahı Çalışmaları. U. Ü. Ziraat Fakültesi Dergisi(Journal of Agricultural Faculty of Uludag University), Cilt 23:2,43-65
- Soto C (2003). Unfolding the role of protein misfolding in neurodegenerative diseases. Nat. Rev. Neurosci., 4: 49-60.
- Stahl N, Borchelt D R, Hsiao K and Prusiner S B (1987). Scrapie prion protein contains a phosphatidylinositol glycolipid. Cell, 51: 2, Pages 229-240
- Steele A D., Emsley J G, Özdinler P H, Lindquist S and Macklis J D (2006). Prion protein (PrP<sup>c</sup>) positively regulates neural precursor proliferation during developmental and adult mammalian neurogenesis. PNAS, 103:9, 3416-3421.
- Steen J S (2011). A Selected Chronological Bibliography of Biology and Medicine-Part I, Delta State University. <http://ntweb.deltastate.edu/jtift/scbm/scbm-1.html> Erişim 13.11.2011

- Stevens K B, Vilas V J D R and Guitián J (2009). Classical sheep scrapie in Great Britain: spatial analysis and identification of environmental and farm-related risk factors *BMC Veterinary Research*, 5:33
- Sweeney T, Hanrahan J P, O'doherty E (2006). Is there a relationship between prion protein genotype and ovulation rate and litter size in sheep? *Anim Reprod Sci.* 101: 1-2, 153-157
- Sweeney T and Hanrahan J P (2008). The evidence of associations between prion protein genotype and production, reproduction, and health traits in sheep. *Vet. Res.* 39:28
- Sweeting B, Khan M Q, Chakrabartty A and Pai E F (2010). Structural factors underlying the species barrier and susceptibility to infection in prion disease. *Biochem. Cell Biol.* ,88: 195–202.
- Taraboulos A, Scott M, Semenov A, Avrahami D, Prusiner S B (1994). Biosynthesis of the prion proteins in scrapie-infected cells in culture. *Braz J Med Biol Res.* ,27(2):303-7
- Taraboulos A, Scott M, Semenov A, Avrahami D, Laszlo L, Prusiner S B (1995). Cholesterol depletion and modification of COOH-terminal targeting sequence of the prion protein inhibit formation of the scrapie isoform. *J Cell Biol.* ,129(1):121-32.
- Taşkın T, Kaymakçı M, Bilgen G, Gücel M, Ün C (2010). Kıl Keçi Sürülerinde Scrapie Risk Faktörlerinin Belirlenmesi Üzerine Bir Araştırma: “Manisa ve İzmir Örneği”. *Hayvansal Üretim* 51,2: 7-15
- Telling G C, Scott M, Mastrianni J, Gabizon R, Torchia M, Cohen F E, DeArmond S J and Prusiner S B (1995). Prion propagation in mice expressing human and chimeric PrP transgenes implicates the interaction of cellular PrP with another protein. *Cell*, 83: 1, 79-90.
- Thackray A M, Madec J-Y, Wong E, Morgan-Warren R, Brown D R, Baron T and Bujdoso R (2003). Detection of bovine spongiform encephalopathy, ovine scrapie prion-related protein (PrP<sup>Sc</sup>) and normal PrP<sup>C</sup> by monoclonal antibodies raised to copper-refolded prion protein. *Biochem J*, 370: 81±90
- Thackray A M, Fitzmaurice T J, Hopkins L and Bujdoso R (2006). Ovine plasma prion protein levels show genotypic variation detected by C-terminal epitopes not exposed in cell-surface PrP<sup>C</sup>. *Biochem J*, 400: 349–358
- Thomas D L (2011). Genetics Of Scrapie Resistance In Sheep. <http://www.ansci.wisc.edu> Erişim: 05.11.2011
- Thorgeirsdottir S, Sigurdarson S, Thorisson H M, Georgsson G and Palsdottir A (1999). PrP gene polymorphism and natural scrapie in Icelandic sheep. *Journal of General Virology*, 80: 2527–2534
- Torres J-M, Andréoletti O, Lacroux C, Prieto I, Lorenzo P, Larska M, Baron T and Espinosa J-C (2011). Classical Bovine Spongiform Encephalopathy by Transmission of H-Type Prion in Homologous Prion Protein Context. *Emerging Infectious Diseases*, 17: 9.

- Tranulis M A, Osland A, Bratberg B and Ulvund M J (1999). Prion protein gene polymorphisms in sheep with natural scrapie and healthy controls in Norway. *Journal of General Virology*, 80: 1073–1077
- Tranulis M A (2002). Influence of the prion protein gene, Prnp ,on scrapie susceptibility in sheep. *APMIS* 110: 33–43.
- Travaglino E, Comincini S, Benatti C, Azzalin A, Nano R, Rosti V, Ferretti L and Rosangela Invernizzi (2005). Overexpression of the Doppel protein in acute myeloid leukaemias and myelodysplastic syndromes. *British Journal of Haematology*, 128: 877–884
- Trevitt C R and Singh P N (2003). Variant Creutzfeldt-Jakob disease: pathology, epidemiology, and public health implications. *Am J Clin Nutr*, 78: 651S–6S.
- Tsunoda K, Namikawa T, Sato K, Hasnath M A, Nyunt M M, Rajbandary H B, Loc C B, Zanchiv T, Chang H, Sun W, Dorji T (2010). Prion Protein Polymorphisms and Estimation of Risk of Scrapie in East Asian Sheep. *Biochem Genet*, 48:13-25
- Uboldi C, Paulis M, Guidi E, Bertoni A, Di Meo G Pia, Perucatti A, Iannuzzi L, Raimondi E, Brunner R M, Eggen A´, Ferretti L (2006). Cloning of the bovine prion-like Shadoo (SPRN) gene by comparative analysis of the predicted genomic locus. *Mammalian Genoma*, 17: 1130-1139.
- Un C, Oztabak K, Ozdemir N, Akıs I, Mengi A (2007). Genotyping of PrP gene in native Turkish sheep breeds. *Small Ruminant Research*. Rumin-3285: 5.
- Uptain S M and Lindquist S (2002). Prions As Protein-Based Genetic Elements. *Annu. Rev. Microbiol.* ,56:703–41
- Vaccari G, Petraroli R, Agrimi U, Eleni C, Perfetti M G, Di Bari M A, Morelli L, Ligios C, Busani L, Nonno R and DiGuardo G (2001). PrP genotype in Sarda breed sheep and its relevance to scrapie. *Arch. Virol.* ,146 (10): 2029-2037.
- Vaccari G, Di Bari M A, Morelli L, Nonno R, Chiappini B, Antonucci G, Marcon S, Esposito E, Fazzi P, Palazzini N, Troiano P, Petrella A, Di Guardo G and Agrimi U (2006). Identification of an allelic variant of the goat PrP gene associated with resistance to scrapie. *Journal of General Virology*, 87: 1395–1402
- Vaccari G, Scavia G, Sala M, Osseddu G C, Chiappini B, Conte M, Esposito E, Lorenzetti R, Perfetti G, Marconi P, Scholl F, Barbaro K, Bella A, Nonno R, Grimi U A (2009). Protective effect of the AT 137RQ and ARQK 176 PrP alleles against classical scrapie in Sarda breed sheep. *Vet. Res.* ,40: 19.
- Van Kaam J B C H M , Finocchiaro R, Vitale M, Pinelli F, Scimonelli M, Vitale F, Portolano B, Oltenacu P A, Caracappa S (2008). Prion protein gene frequencies in three Sicilian dairy sheep populations. *Ital .J.Anim.Sci.* 7: 87-94
- Vasicek D, Bauer M, Oravcova M, Vasikova K (2010).Evaluation of haplotype frequencies of ovine PRNP gene in subpopulation of valachian breed in Slovakia. *Acta fytotechnica et zootechnica* 77-79



- Vitezica Z G, Moreno C R, Bodin L, François D, Barillet F, Brunel J C and Elsen J M (2006). No associations between PrP genotypes and reproduction traits in INRA 401 sheep. *J. Anim. Sci.* 84: 1317–1322.
- Wadsworth J D F, Joiner S, Linehan J M, Desbruslais M, Fox K, Cooper S, Cronier S, Asante E A, Mead S, Brandner S, Hill A F and Collinge J (2008). Kuru prions and sporadic Creutzfeldt–Jakob disease prions have equivalent transmission properties in transgenic and wild-type mice. *PNAS*, 105: 10, 3885-3890.
- Warter J M (2001). Inherited human prion diseases. *Bull Acad Natl Med.* 185(2):405-15.
- Watts J C and Westaway D (2007). The prion protein family: Diversity, rivalry, and dysfunction. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Basis of Disease*, 1772: 6, 654-672.
- Weissmann C (2004). The state of the prion. *Microbiology*, 2: 861.
- Wilfred G, Huntert N, Fosters J D, Salbaum J M, Beyreuther K and Hopes J (1990). Two alleles of a neural protein gene linked to scrapie in sheep. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 87: 2476-2480.
- Will R G, Ironside J W, Zeidler M, Cousens S N, Estibeiro K, Alperovitch A, Poser S, Pocchiari M, Hofman A, Smith P G (1996). A new variant of Creutzfeldt-Jakob disease in the UK. *Lancet*, 347: 920-25
- Will R G (2003). Acquired prion disease: iatrogenic CJD, variant CJD, kuru. *British Medical Bulletin*, 66: 255–265.
- Williams E S (2005). Chronic Wasting Disease. *Vet Pathol*, 42:530–549
- Windig J J, Eding H, Moll L and Kaal L (2004). Effects on inbreeding of different strategies aimed at eliminating scrapie sensitivity alleles in rare sheep breeds in The Netherlands *Animal Science*, 79: 11-20
- Wineland N E, Detwiler L A, Salman M D (1998). Epidemiologic analysis of reported scrapie in sheep in the United States: 1,117 cases (1947-1992). *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 212: 5, 713-718.
- Wiśniewska E, Lühken G, Mroczkowski S And Erhardt G (2006). Prion protein (PrP) gene polymorphisms and breeding for resistance to scrapie in Polish Merino sheep. *Arch. Tierz., Dummerstorf* 49: 365-371
- Wisniewska E and Mroczkowski S (2009). Different breeding strategies for scrapie resistance depending on breed-specific PrP allele and genotype frequencies in the Polish sheep. *Züchtungskunde*, 81,(3): S.180–189
- Wisniewska E and Mroczkowski S (2010). Prion protein (PrP) gene polymorphism and simulation study of breeding oriented to scrapie resistance in Polish Merino and Polish Mountain Sheep. *Roczniki Naukowe Polskiego Towarzystwa Zootechnicznego*, t. 6, nr 4

- Wong C, Xiong L-W, Horiuchi M, Raymond L, Wehrly K, Chesebro B and Caughey (2001). Sulfated glycans and elevated temperature stimulate PrP<sup>Sc</sup>-dependent cell-free formation of protease-resistant prion protein. *EMBO J.* ,1: 20(3): 377–386.
- Wopfner F, Weidenhöfer G, Schneider R, von Brunn At, Gilch S, Schwarz T F, Werner T and M Schätzl H (1999). Analysis of 27 mammalian and 9 avian PrPs reveals high conservation of flexible regions of the prion protein. *Journal of Molecular Biology*, 289: 5, 1163-1178.
- Wyatt J M, Pearson G R, Smerdon T N, Gruffydd-Jones T J, Wells G A and Wilesmith J W (1991). Naturally occurring scrapie-like spongiform encephalopathy in five domestic cats. *Veterinary Record*, 129:233-236.
- Yokoyama T, Kimura K M, Ushiki Y, Yamada S, Morooka A, Nakashiba T, Sassa T, Itohara S (2001). *In Vivo* Conversion of Cellular Prion Protein to Pathogenic Isoforms, as Monitored by Conformation-specific Antibodies Takashi The *Journal of Biological Chemistry*. 276: 11265-11271
- Young R, Passet B, Vilotte M, Crihiu E P, Béringue V, Provost F Le, Laude H and Vilotte J-L (2009). The prion or the related Shadoo protein is required for early mouse embryogenesis. *Febs Letters*, 583: 19, 3296-3300.
- Zamponi G W and Stys P K (2009). Role of prions in neuroprotection and neurodegeneration A mechanism involving glutamate receptors? *Prion*, 3(4): 187–189.
- Zerr I, Sigrid P (2002). Clinical diagnosis and differential diagnosis of CJD and vCJD. *APMIS*, 110:1,88–98.
- Zhang C C, Steele A D, Lindquist S and Lodish H F (2006). Prion protein is expressed on long-term repopulating hematopoietic stem cells and is important for their self-renewal. *PNAS*, 103: 7, 2184-2189
- Zou W-Q, Gambetti P (2005). From Microbes to Prions: The Final Proof of the Prion Hypothesis. *Cell*, 121: 2, 155-157

## ÖZGEÇMİŞ

1976 yılında Konya-Bozkır ilçesinde doğmuştur. İlk ve orta öğrenimini burada tamamladıktan sonra Konya Veteriner sağlık Meslek Lisesini bitirerek 1993 yılında, o zamanki adıyla Tarım ve Köyişleri Bakanlığı bünyesine Sivas Tarım İl Müdürlüğünde Veteriner Sağlık Teknisyeni olarak göreve başlamıştır. 1993-1996 yılları arasında Sivas, 1996-2002 yılları arasında Van Erciş'de çalışmıştır. 2002 yılında Van Yüzüncü Yıl Veteriner Fakültesini bitirmiş, aynı yıl Eskişehir-Mihalgazi İlçe Tarım Müdürlüğünde Veteriner Hekim olarak göreve başlamıştır. 2003 yılından bu yana Bandırma Koyunculuk Araştırma İstasyonunuda Veteriner Hekim olarak görev yapmakta ve 2005 yılından beri Namık Kemal Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsünde doktora eğitimine devam etmektedir. Evli ve bir çocuk babasıdır.