

CREUTZFELDTOVA-JAKOBOVA CHOROBA: RIZIKÁ, VÝSKYT A MOŽNOSTI DIAGNOSTIKY NAJVÝZNAMNEJŠEJ PRENOSNEJ DEMENCIE

MUDr. Eva Mitrová, DrSc.

Ústav preventívnej a klinickej medicíny Slovenskej Zdravotníckej Univerzity, Bratislava

Práca prináša stručný prehľad najdôležitejších humánných prionových chorôb s dôrazom na Creutzfeldtovu-Jakobovu chorobu. Podrobnejšie sa zaoberá súčasnými možnosťami včasnej a špecifickej diagnostiky. Poukazuje na možné riziká nákazy a vzhľadom na doterajšie neúspechy terapeutického úsilia, zdôrazňuje veľký význam prevencie tak iatrogennej a genetickej formy, ako aj nového variantu Creutzfeldtovej-Jakobovej choroby.

Kľúčové slová: prionové choroby, diagnostika, riziko prenosu, prevencia.

Kľúčové slová MeSH: prionózy – diagnostika, prevencia a kontrola; prenos choroby; Creutzfeldtov-Jakobov syndróm.

Klasický variant Creutzfeldtovej-Jakobovej choroby (CJch) bol vyčlenený ako samostatná nozologická jednotka už na začiatku 20. rokov 20. storočia (2, 6). Diagnostika bola až do r. 1968 nešpecifická – spočívala na klinických príznakoch a typickom histopatologickom náleze spongiózy, zániku neurónov a astrocytózy v mozgu. Pre zriedkavý výskyt (1 príp./1 mil. obyv./1 rok) CJch celých 40 rokov pútala iba obmedzenú pozornosť, až kým v r. 1968 Carleton Daniel Gajdušek nedokázal, že toto smrteľné a neliečiteľné neurodegeneratívne ochorenie je prenosné a spája sa s ním riziko nákazy ďalších jedincov (4). Týmto sa vytvorila možnosť dôkazu CJch experimentálnym prenosom nákazy z človeka na zviera (10), ale pre diagnostické ciele bol takýto postup príliš náročný a zdĺhavý. Analýza epidemiologických údajov a neurohistologických zmien v CNS ukázala, že táto prenosná demencia človeka patrí do skupiny nákaz, ktoré postihujú aj chovné zvieratá – ovce a kozy. Choroba oviec bola známa v Anglicku už v 18. storočí ako „scrapie“. Na územie bývalého Rakúska-Uhorska sa scrapie, slovensky „klusavka“, zavliekla zo Španielska na konci 18. stor. Prvý výskyt klusavky oviec v bývalom Československu sme dokázali špecifickými diagnostickými metódami v r. 1991 (11).

Opísanú skupinu humánnych a animálnych nákaz odlišovali od dovtedy známych infekcií neobvykle dlhá asymptomatická fáza a netypické biologické vlastnosti pôvodcu – najmä mimoriadna odolnosť na chemickú a fyzikálnu sterilizáciu. Spoločné vlastnosti nákazy u ľudí a zvierat – najmä prenosná povaha ochorenia, charakteristický obraz spongiózy neuropilu a nezápalový nález v mozgu sa premietli do spoločného názvu skupiny – transmissibilné spongiformné encefalopatie (TSE).

Objav prenosnej povahy u smrteľnej choroby podnietil intenzívny výskum na viacerých špičkových výskumných pracoviskách. Výsledkom bola prvá laboratórna špecifická diagnostická metóda – elektrónmikroskopické demonštrovanie glykoproteínových fibril, ktoré sú prítomné v mozgu každého postihnutého človeka, alebo zvierat. Patrícia Mertzová ich zviditeľnila v r. 1981 (9) najprv u zvierat nakazených scrapie, podľa čoho ich nazvala so Scrapie Asociované Fibrily (SAF). Zakrátko Stanley Prusiner izoloval a podrobne analyzoval identický glykoproteín, ktorý sa v zdravom organizme nevyskytuje a označil ho „prion“ (skratka odvodená z – proteinaceous infectious protein). Prusiner vyslovil hypotézu, že pôvodcom choroby je samotná bielkovina, ktorá na rozdiel od vírusov bez účasti DNA, alebo RNA, dokáže prenášať nákazu (15). Jeho predpoklad zatiaľ nebol jednoznačne potvrdený (čo nebránilo, aby získal v r. 1987 Nobelovu cenu). Bez ohľadu na to, či prion sám je, alebo nie je pôvodca ochorenia, nie je pochybnosť, že reprezentuje špecifický diagnostický marker definitívnej diagnózy TSE tak u ľudí ako u zvierat. Toto sa odrazilo v novšom skupinovom názve – „prionové choroby“. Postupne sa ukázalo, že škodlivý „prion“ je patologicky zmenená normálna, užitočná bunková prionová bielkovina, prítomná v každom organizme. Rozdiel medzi normálnou a patologickou bielkovinou (prionom) je iba v ich štruktúre – konformácii.

Dnes poznáme aj ďalšie prionové choroby človeka – Gerstmann-Sträussler-Sheinkerov syndróm (GSS) (7) a Fatálnu familiárnu insomniu (FFI) (12), ale nič sa nezmenilo na tom, že CJch je nielen najdlhšie a najlepšie známa, ale aj najrozšírenejšia, najpočetnejšia a stále aj najvýznamnejšia neliečiteľná, smrteľná prionová choroba človeka.

U klasickej CJch sú známe 3 formy:

1. Sporadická CJch (sCJch) je v celosvetovom merítku najčastejšia (85 %). Jej pôvod nebol zatiaľ objasnený (19).

2. Iatrogénna CJch vzniká po liečebných zákrokoch. K prvým iatrogénnym prípadom patrí prenos po transplantácii rohovky. V r. 1985 sa zistila CJch u mladistvých s hypofyzárnou nedostatočnosťou po liečení rastovým hormónom ľudského pôvodu. Najviac takýchto pacientov diagnostikovali vo Francúzsku a aj keď Svetová zdravotnícka organizácia (SZO) hneď v roku 1985 zakázala takýto prípravok podávať, ojedinele sa ešte stále diagnostikujú nové prípady. Táto skutočnosť svedčí o mimoriadne dlhej, desiatky rokov trvajúcej inkubačnej dobe u periférnej nákazy. Novšie vznikli početné prípady CJch po transplantácii dura mater. Najväčší súbor pacientov zaznamenali v Japonsku. Podiel iatrogénnych prípadov je 1–3% všetkých CJch, ale ich výskyt môže stúpať s nárastom počtu transplantácií.

3. Genetická forma, bola pôvodne nazývaná familiárnou podľa výskytu 2 a viacerých postihnutých CJch v rodine. Zavedenie molekulárne genetických vyšetrení ukázalo nielen prítomnosť CJch – špecifických mutácií prionového génu u všetkých „familiárnych“ prípadov, ale tiež to, že sa takáto mutácia môže vyskytnúť aj u pacienta, kde sa nedarí nájsť viac ako 1 výskyt CJch v rodine. Inak povedané – všetky familiárne prípady sú genetické, ale nie všetky genetické sú familiárne. Doterajšie práce, vychádzajúce ešte stále predovšetkým z hodnotenia viacnásobného výskytu ochorenia v rodinách, udávajú z celkového počtu CJch 10–15% familiárnych prípadov. S rastúcim počtom molekulárne genetických vyšetrení u suspektných pacientov možno predpokladať, že sa tento podiel zvýši.

Najčastejšia a najvýznamnejšia mutácia ľudského prionového génu je na kodóne 200 (E200K). Jej kauzálny vzťah k CJch bol dokázaný na slovenskom súbore pacientov, kde tvorí až 75% (12). CJch – špecifická mutácia sa môže vyskytnúť aj u „zdravých“ príbuzných pacientov s genetickou formou. Nie u všetkých dôjde časom ku klinickej manifestácii CJch. Zatiaľ nie sú k dispozícii metódy, ktoré by umožnili rozlíšiť nosičov mutácie, u ktorých sa ochorenie vyvíja a mohli by byť zdrojom nákazy. Preto takýto asymptomatickí nosiči sa považujú za genetickú rizikovú skupinu CJch a nie sú vhodnými darcami tkanív a orgánov. Vzhľadom na neobvyčajne vysoké percento genetickej formy CJch a prítomnosť „zdravých“ nosičov mutácie E200K sa na Slovensku zaviedlo genetické testovanie všetkých darcov rohoviek. Doteraz z 538 vyšetrených sa u dvoch našla kontraindikácia darcovstva – mutácia E200K.

Okrem bodových mutácií, ktoré signalizujú odchýlku od normy, venuje sa stále viac pozornosti aj polymorfizmu, pri ktorom sa na určitých kodónoch prionového génu (PRNP) môžu nájsť rôzne aminokyseliny aj v rámci normálneho výskytu. Jeden z takýchto dôležitých polymorfizmov je na kodóne 129. V normálnej populácii tu môže byť na oboch alelách metionín, alebo valín (homozygoti), alebo je na jednej alele valín, na druhej metionín (heterozygoti). Aj keď samotný polymorfizmus vznik ochorenia nevyvoláva, má dokázaný vplyv na vnímavosť ku exogénnej nákaze (1), na manifestáciu genetickej formy a tiež na dĺžku klinickej fázy ochorenia. Homozygotita na kodóne 129 zvyšuje predispozíciu k iatrogénnej nákaze (14), metionín na oboch alelách je najčastejší, teda zvyšuje riziko aj u genetickej formy s mutáciou E200K (12) a pri mutácii 178 polymorfizmus určuje fenotyp ochorenia. Ak je mutácia na alele kde sa na kodóne 129 vyskytuje metionín, vzniká fatálna familiárna insomniá, ak je na alele s valínom, vyvíja sa klinicky familiárna forma CJch (13).

Celosvetový význam CJch výrazne narástol, keď „zásluhou“ človeka vznikla v Anglicku v r. 1986 epidémia bovinnej spongiformnej encefalopatie (BSE). Jej pôvod nie je dokázaný. Z viacerých hypotéz sú najpravdepodobnejšie dve – nákaza pochádza:

1. z klusavky oviec, alebo
2. zo sporadického prípadu BSE.

Mechanizmus vzniku epidémie je objasnený: výroba mäsokostnej múčky (MKM) z chorých zvierat pri zníženej teplote a obmedzenej chemickej dekontaminácii – kontaminovanou MKM sa krmil hovädzí dobytok (najmä teľatá a dojné kravy) – nakazené zvieratá sa opäť

Tabuľka 1. Pomocné kritériá pre odlišenie sCJch a vCJch

Príznaky	Naznačuje vCJch	Naznačuje sCJch
Včasné príznaky psychiatrické	prítomné	neprítomné
Včasné príznaky senzorické	prítomné	neprítomné
Rýchla klinická progresia	neprítomná	prítomná
Vek	pod 40 r.	nad 40 r.
Trvanie ochorenia	viac ako 12 mes.	menej ako 6 mes.
Typické EEG	neprítomné	často prítomné
MRI	„pulvinarový príznak“	nc.caudatus a putamen
Codon 129 PRNP	Met/Met	Met/Met, Met/Val, Val/Val

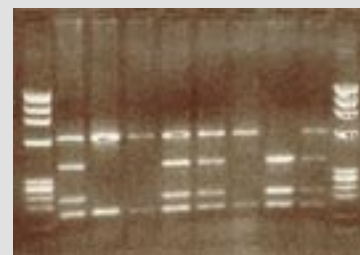
spracovali na MKM tak dlho, až kým táto „recyklácia“ nákazy vyústila v rozsiahlu epidémiu.

Aj keď skúsenosť hovorí, že klusavka oviec sa na človeka neprenáša, vznik BSE vyvolal u odborníkov od začiatku obavy z prenosu nákazy na človeka. V r. 1996 sa opodstatnenosť obáv potvrdila, keď sa diagnostikovalo 10 prípadov ochorenia, ktoré sa výrazne líšili od dovtedy známej CJch (18), vznikol nový variant ochorenia (vCJch). Na prvý pohľad bol u vCJch nápadný mladší vek postihnutých, dlhší klinický priebeh ochorenia, výraznejšie psychické zmeny, pretrvávajúca bolesť – neprítomná u klasického variantu a oneskorený vývoj demencie. Neskôr sa odhalil ďalší, zásadný rozdiel: kým u klasického variantu bol pôvodca nákazy dostupnými metódami zistený len v CNS, u nového variantu sa ho podarilo dokázať aj v periférnych lymfatických orgánoch, čo významne zvyšuje riziko prenosu nákazy (5). Všetci doteraz diagnostikovaní pacienti boli na kodóne 129 metionínovi homozygoti (tabuľka 1).

Diagnostika CJch sa v súčasnosti opiera o:

1. Klinické príznaky, kde ku kardinálnym patrí rýchle progredujúca demencia (99,9%) a myklonus (80%), ktoré sú súčasťou diagnostických kritérií SZO. V prodromálnom štádiu sa často objavujú poruchy spánku, nekľud, úzkosť, neraz aj halucinácie. Ku včasným príznakom patrí obvykle ataxia, kognitívne zmeny, poruchy zraku. Kým je pacient schopný konzumovať potravu, pomerne často badať bulimiu, ktorá nápadne kontrastuje s postupnou kachektizáciou. Výnimočne sa objavuje svrbenie kože bez povrchového nálezu, obdobne ako u klusavky. Postupne sa objavujú pyramídové a extrapyramídové príznaky, niekedy centrálna slepota, stupňuje sa rigidita, pacient sa stáva neschopným pohybu a je stále viac závislý na okolí. Terminálny stav smeruje ku akinetickému mutizmu, smrť nastáva obvykle v dôsledku pridruženej infekcie. Priemerne manifestná fáza CJch netrvá viac ako 4,5–5 mesiacov, výnimočne dlhšie ako rok.

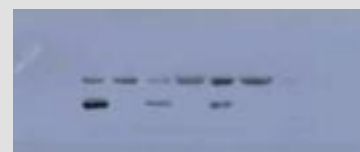
Obrázok 1. Polymorfizmus na kodóne 129 prionového génu (1, 4, 5 a 8 Met/Val, 2, 3 a 6 Met/Met, 7 Val/Val).



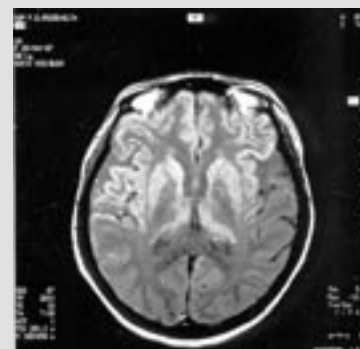
Obrázok 2. Sporadický prípad CJch. Mozoček. Imunohistochemický dôkaz prionu.



Obrázok 3. Dôkaz proteínu 14-3-3 Western blotom v likvore postihnutých CJch.



Obrázok 4. MRI nálež u sporadickej formy CJch (cauda nc.caudati, putamen).



2. Klinické vyšetrovacie metódy vychádzajú zo štandardných postupov, kde počítačová tomografia (CT) slúži predovšetkým vylúčeniu inej (napr. cievnej, nádorovej, zápalovej, demyelinizujúcej) etiológie. Typický elektroencefalografický (EEG) nález 0,5–2 Hz generalizovaných, synchronizovaných bi/trifázických komplexov sa udáva až u 80 % pacientov a patrí k diagnostickým kritériám SZO (17). Keďže môže ísť o prechodný nález, je dôležité vyšetrenie viackrát opakovať. Výnimočne sa typický nález môže vyskytovať aj u Alzheimerovej choroby, metabolickej, alebo toxikkej encefalopatie.

Stále väčšiu hodnotu nadobúda vyšetrenie magnetickou rezonanciou (MRI). U vCJch je pomocným klinickým diagnostickým kritériom tzv. „pulvinarový príznak“ a u sporadickej formy CJch nápadný signál v cauda nc. caudati a v putamene (3).

Ak štandardné vyšetrovacie metódy nepoukazujú na alternatívnu diagnózu prídu na rad:

3. ciele laboratórne testy. Ku včasným nešpecifickým laboratórnym metódam patrí vyšetrenie proteínu 14-3-3 v likvore. U CJch býva biochemický a cytologický nález v likvore normálny, ale v dôsledku masívneho rozpadu neurónov v CNS možno v cerebrospinálnom moku Western blotom dokázať viacere proteíny, z ktorých najviac prepracovaná je detekcia proteínu označovaného 14-3-3. Rôzne pracoviská udávajú špecifitu a senzitivitu matódy v rozpätí od 78–95%, pričom najlepšie výsledky sa dosahujú u sporadickej CJch, menej sľubné u vCJch. V každom prípade tento „marker odumierania neurónov“ je cennou diagnostickou pomôckou, patrí tiež k diagnostickým kritériám SZO (20). Falošná pozitivita bola pozorovaná u Alzheimerovej choroby a u niektorých encefalitíd (napr. herpes zoster).

Ku včasným laboratórnym vyšetreniam radíme genetické testy, pomocou ktorých sa detekujú TSE-špecifické mutácie a stanovuje polymorfizmus na kodóne 129.

U vCJch možno využiť prítomnosť prionu v periférnych lymfatických orgánoch, ktorý sa dá imunohistochemicky dokázať v biotickom tkanive tonzíl (5). Táto metóda nie je zatiaľ jednoznačne odporúčaná a je stále predmetom posudzovania z etického hľadiska.

Definitívne potvrdenie diagnózy je v súčasnosti možné väčšinou až po smrti pacienta. Nešpecifické, ale veľmi spoľahlivé a akceptované je neurohistopatologické stanovenie diagnózy. Špecifická diagnostická metóda je dôkaz prionu v mozgu. Tento sa môže uskutočniť demonštráciou SAF, Western-blotom a imunohistochemicky, po-

mocou antiprionových poly- alebo monoklonálnych protilátok.

Diagnostika CJch sa z hľadiska konečného stupňa istoty rozlišuje na:

1. definitívnu
2. pravdepodobnú
3. možnú (tabuľka 2).

Kauzálna terapia doteraz nezaznamenala žiadne očividné úspechy. V minulosti sa krátko pripisoval určitý úspech amantadínovým preparátom, ale aj keď sa zdalo, že u pokusných zvierat predlžujú prežívanie, ich zdravotný stav sa nemenil a prognóza bola infaustná.

Pred dvoma rokmi vzbudila mimoriadny záujem správa, že nastalo zlepšenie u pacientky postihnutej vCJch, liečenej tricyklickými derivátmi fenotiazínu a akridínu. Pokus o terapiu vCJch staval na výsledkoch Prusiner a spolupracovníkov, ktorí in vitro zistili, že testované deriváty brzdia premenu bunkového prionového proteínu na patologický prion a dokonca opisali aj spätnú premenu prionu na normálny bunkový prionový proteín (8). Nakoľko u testovaných preparátov sa jednalo o schválené farmakoterapeutiká iných ochorení, bolo ich možné na žiadosť príbuzných okamžite aplikovať. Žiaľ, vývoj ochorenia u prvej liečenej pacientky, ani u ďalších, kontrolovaných súborov nepotvrdil žiaduci účinok.

Pri terapeutických úvahách o CJch bude treba mať na pamäti, že aj v prípade objavenia efektívnej liečby táto môže priniesť

očakávaný výsledok len ak sa začne podávať včas, na začiatku klinickej manifestácie ochorenia. V poslednom období sme opakovane svedkami protrahovaného priebehu klinickej fázy, čo čiastočne súvisí aj s kvalitou ošetrovania, keďže bezprostrednou príčinou smrti u CJch bývajú najčastejšie infekty dýchacích a močových ciest. U takýchto pacientov so 7 a viacmesačným priebehom nachádzame dramatický úbytok nervových buniek, ktorý neumožňuje pri zachovaní existencie vyhovujúcu kvalitu života. Pokiaľ sa nájde účinná terapia, pri súčasných diagnostických možnostiach je z hľadiska jej účinnosti najperspektívnejšia genetická forma TSE, nakoľko u tejto genetickej vyšetrenie umožňuje včasnú diagnózu a rýchle nasadenie liečby. Toto je, okrem predmanželského poradenstva, ďalšou z motivácií, pre ktoré sa odporúča genetické vyšetrenie pokrvných príbuzných pacientov s genetickou formou CJch.

V súčasnosti k najúčinnnejším zbraňam proti šíreniu CJch patrí prevencia iatrogennej CJch, ale predovšetkým vCJch. Výskyt postihnutých vCJch v USA, Kanade a Hong Kongu u osôb, ktoré sa dlhodobo zdržiavali v Anglicku pred zavedením efektívnych ochranných opatrení proti BSE signalizuje, že nakazení jedinci v inkubačnej dobe sa môžu vyskytovať na celom svete. Skutočnosť, že sa podarilo preniesť z ovce nakazenej BSE chorobu na ďalšie zviera transfúziou krvi, upozorňuje na možnosť sekundárnej humánnej nákazy

Tabuľka 2. Diagnostické kritériá humánnych TSE

1. Sporadická TSE
1.1 Definitívna dg. Neuropatologicky /imunocytochemicky/ SAF/ Western blotom potvrdená
1.2 Pravdepodobná dg.
1.2.1 I + 2 príznaky z II + III.
1.2.2 Možná dg. + pozitívna 14-3-3
I. Rýchle progredujúca demencia, +
II. a) Myoklonus
b) Vizúálne, alebo cerebellárne príznaky
c) Pyramídové, alebo extrapyramídové príznaky
d) Akinetický mutizmus
III. Typické EEG
1.3 Možná dg. I + 2 príznaky z II + trvanie kratšie ako 2 roky
2. Nový variant CJch
1.1 Definitívna dg. Progresívne neuropsychiatrické ochorenie a neuropatologicky potvrdený nvCJch
1.2 Pravdepodobná dg.
1.2.1 I. + 4 z II. + EEG nevykazuje typický nález + bilaterálny signál v pulvinare talamu intenzívnejší ako v okolitých štruktúrach
1.2.2 I + pozitívna tonzilárna biopsia
I. a) Progresívne neuropsychiatrické ochorenie
b) Trvanie dlhšie ako 6 mesiacov
c) Rutinné vyšetrenie nesvedčí o alternatívnej dg.
d) V anamnéze chýba možná iatrogénna expozícia
e) Chýba dôkaz genetickej formy CJch
II. a) Včasné psychiatrické príznaky
b) Pretrvávajúce bolestivé senzorické príznaky
c) Ataxia
d) Myoklonus alebo chorea alebo dystónia
e) Demencia
3.3 Možná dg. I + 4 z II + EEG nevykazuje typický nález

z jedincov, u ktorých sa ešte vCJch klinicky neprejavila. Preto boli vylúčení z darcovstva krvi osoby, ktoré sa v kritickom období zdržiavali na území Anglicka. Nemožno celkom ignorovať ani možnosť, že pred zavedením vyšetrovania BSE sa tiež vyskytli na území Čiech a Slovenska nakazené asymptomatické zvieratá, ktoré sa mohli dostať do potravinového reťazca. Takúto úvahu podporuje výskyt postihnutých vCJch, ktorí nikdy neboli v Anglicku a boli diagnostikovaní vo Francúzsku a Taliansku. Z uvedeného vyplýva, že aj keď sa v Anglicku priblížil nárast nových prípadov vCJch, poznanie príznakov, diferenciálnej diagnózy a možností laboratórnej diagnostiky CJch patrí k aktuálnym úlohám neurológie a psychiatrie.

Literatúra

1. Alperovitch A, Zerr I, Pocchiari M, Mitrová E, et al. Codon 129 prion protein genotype and sporadic Creutzfeldt-Jakob disease. *Lancet*, 1999; 353: 1673–1674.
2. Creutzfeldt HG. Über eine eigenartige herdförmige Erkrankung der Zentralnervensystems. *Zeit.Ges. Neurol. Psychiat.* 1920; 57: 1–18.
3. Finkenstaedt M, Szudra A, Zerr I, et al. MR imaging of Creutzfeldt-Jakob disease. *Radiology*, 1996; 199: 793–798.
4. Gibbs J, Gajdušek DC, Asher DM, et al. Creutzfeldt-Jakob disease (spongiform encephalopathy). Transmission to chimpanzee. *Science*, 1968; 161: 388–389.
5. Hill AF, Zeidler M, Ironside J, and Collinge. Diagnosis of new variant by tonsil biopsy. *Lancet*, 1997; 349: 99–100.
6. Jakob A. Über eine eigenartige Erkrankungen des Zentralnervensystems mit bemerkenswertem anatomischen befunde. *Deutsch. Ztschr. Nervenkn. Laipz.* 1921; 70: 132–146.
7. Jirásek A, Holý V, Chodura V, Koukolík F, et al. Gerstmannova-Sträusslerova-Scheinkerova nemoc. *Čsl. patologie*, 1986; 4: 193–197.
8. Korth C, Barnaby CH, May E, Prusiner S. Acridine and pjenothiazine derivatives as pharmacotherapeutics for prion disease. *PNAS*, 2001; 98 (17): 9836–9841.
9. Merz P, Somerville RA, Wisniewski H, et al. Abnormal fibrils from scrapie-infected brain. *Acta Neuropathol. (Berl)* 1981; 54: 63–74.
10. Mitrová E, Mayer V. Neurohistology of early preclinical lesions in experimental subacute spongiform encephalopathy. *Biológia*, 1977; 32: 663–672.
11. Mitrová E, Hunčaga Š, Hocman G, et al. Clusters of CJD in Slovakia: The first laboratory evidence of scrapie. *Europ J Epid.* 1991; 7 (5): 520–523.
12. Mitrová E, Belay G. Creutzfeldt-Jakob disease with E200K mutation in Slovakia: Characterization and development. *Acta Virol.* 2002; 46: 31–39.
13. Monari L, Cen SG, Brown P, et al. Fatal familial insomnia and familial CJD: Different prion proteins determined by a DNA polymorphism. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1994; 91: 2839–2842.
14. Palmer MS, Dryden AJ, Hughes JT, Collinge J. Homozygous genotype predisposes to sporadic Creutzfeldt-Jakob disease. *Nature*, 1991; 352: 340–341.
15. Prusiner S. Novel proteinaceous particles cause scrapie. *Science*, 1982; 216: 136–144.
16. Scott MR, Will R, Ironside J, et al. Compelling transgenic evidence for transmission of bovine spongiform encephalopathy prions to humans. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 1999; 96 (26): 15137–15142.
17. Steinhoff BJ, Racker S, Herrendorf G, et al. Accuracy and reliability of periodic sharp wave complexes in Creutzfeldt-jakob disease. *Arch. Neurol.* 1996; 53 (2): 162–166.
18. Will R, Ironside J, Zeidler M, et al. A new variant of Creutzfeldt-jakob disease in UK. *Lancet*, 1996; 347: 197–198.
19. Will R, Alperovitch A, Poser S, et al. Descriptive epidemiology of CJD in six European countries. *Ann Neurol* 1998; 43: 763–767.
20. Zerr I, Bodemer M, Gefeller O, et al. Detection of 14-3-3 protein in the cerebrospinal fluid supports the diagnosis of Creutzfeldt-Jakob disease. *Annals of Neurol.* 1998; 43 (1): 32–40.