© Aktualn Neurol 2013, 13 (3), p. 195–200

Marianna Makowska

Received: 20.06.2013
Accepted: 22.07.2013
Published: 29.11.2013

Choroba Creutzfeldta-Jakoba – współczesne metody diagnostyki

Creutzfeldt-Jakob disease – diagnostic methods

Uniwersytecki Szpital Kliniczny nr 1 im. N. Barlickiego, ul. Kopcińskiego 22, 90-153 Łódź, tel.: 42 677 69 50, faks: 42 678 11 76
Adres do korespondencji: Dr Marianna Makowska, Zakład Patologii Molekularnej i Neuropatologii Uniwersytetu Medycznego w Łodzi, ul. Czechosłowacka 8/10, 92-216 Łódź, tel./faks: 42 679 14 77, e-mail: marianna_makowska@yahoo.com
Praca finansowana ze środków własnych

Streszczenie

Choroba Creutzfeldta-Jakoba (*Creutzfeldt-Jakob disease*, CJD) należy do chorób wywoływanych przez priony (encefalopatii gąbczastych). Jest to postępująca, śmiertelna i nieuleczalna choroba o charakterze neurozwyrodnieniowym. Jej przyczyną jest akumulacja patologicznego białka prionu (*scrapie*, PrP^{Sc}) w ośrodkowym układzie nerwowym. Choroba objawia się postępującym otępieniem, zaburzeniami mowy i wzroku oraz motoryki pod postacią mioklonii, ataksji oraz niedowładu kończyn i zaburzeń równowagi. Bezpośrednią przyczyną zgonu jest najczęściej odoskrzelowe zapalenie płuc. Okres inkubacji choroby wynosi zazwyczaj od kilku do kilkunastu lat, a zgon następuje najczęściej od kilku do kilkunastu miesięcy od wystąpienia pierwszych objawów klinicznych. Trudności w przyżyciowym rozpoznawaniu choroby Creutzfeldta-Jakoba wynikają z braku swoistego markera umożliwiającego pewną identyfikację czynnika infekcyjnego oraz nie zawsze charakterystycznego obrazu klinicznego wymagającego różnicowania z innymi chorobami o charakterze otępiennym. Aktualnie jedyną pewną metodą rozpoznania jest przeprowadzenie badania neuropatologicznego. Klasyczna triada objawów neuropatologicznych występujących w przebiegu chorób wywoływanych przez priony obejmuje zmiany gąbczaste, rozplem astrogleju oraz utratę neuronów. Publikacja jest przeglądem aktualnych informacji na temat najnowszych metod diagnostycznych, w tym EEG, badań neuroobrazowych oraz laboratoryjnych, które znacznie poprawiły możliwość rozpoznania.

Słowa kluczowe: prion, choroby prionowe, diagnostyka, choroba Creutzfeldta-Jakoba, pasażowalne encefalopatie gąbczaste

Summary

Creutzfeldt-Jakob disease (CJD) belongs to prion diseases (transmissible spongiform encephalopathies). It's a progressive, fatal and untreatable neurodegenerative disease. Creutzfeldt-Jakob disease is caused by the pathological prion protein (*scrapie*, PrP^{Sc}) that accumulates in the central nervous system and other tissues. Symptoms of the disease include: rapidly progressing dementia, speach impairment and blurred vision, involuntary muscle movements e.g. myoclonus, ataxia, paresis or problems of balance and co-ordination. The direct cause of death is mostly pneumonia. The incubation period may vary from a few months to several years, death occurs over a few weeks or months after the onset of clinical symptoms. According to the current criteria, histopathological verification is mandatory for definitive diagnosis for a CJD. The neuropathological features of CJD are characterized by a triad of spongiosis, astrocytosis and neuronal loss. It's difficult to diagnose CJD because of the lack of a biospecific marker for CJD and not always characteristic clinical signs, which require differentiation with other disorders associated with dementia. This article is a short review of the recently published data on detection methods.

Key words: prion, prion disease, diagnosis, Creutzfeldt-Jakob disease, transmissible spongiform encephalopathies

WSTĘP

Choroba Creutzfeldta-Jakoba (*Creutzfeldt-Jakob disease*, CJD) należy do chorób wywoływanych przez priony, zwanych także pasażowalnymi encefalopatiami gąbczastymi (*transmissible spongiform encephalopathies*, TSEs). Są to choroby śmiertelne o charakterze neurozwyrodnieniowym. Przyczyną choroby jest akumulacja patologicznego białka prionu (*scrapie*, PrP^{Sc}) w ośrodkowym układzie nerwowym.

Do chorób wywoływanych przez priony występujących u ludzi zalicza się:

1. chorobę Creutzfeldta-Jakoba (CJD);
2. chorobę Gerstmanna-Sträusslera-Scheinkera;
3. śmiertelną rodzinną bezsenność (*fatal familial insomnia*, FFI);
4. kuru;
5. prionopatię ze zmienną wrażliwością na proteazę (*variably protease-sensitive prionopathy*, VPSP).

Pierwsze doniesienia na temat chorób wywoływanych przez priony pochodzą z XVIII wieku, kiedy to pojawiły się prace na temat trzęsawki (*scrapie*) u owiec. W 1987 roku Wells i wsp. opublikowali pierwszą pracę opisującą gąbczastą encefalopatię u bydła (*bovine spongiform encephalopathy*, BSE)[1], jednak etiologia BSE nadal nie została do końca wyjaśniona. Jedna z hipotez sugeruje, że jest ona skutkiem przeniesienia choroby z owiec na krowy przez karmę przygotowywaną ze szczątków owiec zakażonych trzęsawką[2]. Epidemia BSE osiągnęła apogeum w 1992 roku, kiedy w Wielkiej Brytanii 37 280 sztuk bydła zapadło na tę chorobę[3]. Przyczyna przeniesienia choroby ze zwierząt na człowieka pozostaje nieznana, prawdopodobnie jest nią spożywanie zakażonego mięsa wołowego. Pierwszą opisaną przez D.C. Gajduska w 1957 roku chorobą wywoływaną przez priony u ludzi była kuru, występująca wśród praktykującej kanibalizm grupy lingwistycznej Fore, zamieszkałej w Papui-Nowej Gwinei[4]. Opisany w 1996 „nowy" wariant choroby Creutzfeldta-Jakoba (vCJD) jest wynikiem przepasażowania BSE na człowieka w wyniku spożywania zainfekowanego mięsa[5]. Wprowadzony od tej pory nadzór epidemiologiczny prowadzony przez służby weterynaryjne zapobiegł wystąpieniu kolejnych epidemii BSE w Europie.

CHOROBA CREUTZFELDTA-JAKOBA

Literatura podaje cztery postacie choroby Creutzfeldta-Jakoba (CJD):

1. sporadyczna (*sporadic*, sCJD) – może odzwierciedlać spontaniczną zmianę konformacji białka prionowego;
2. jatrogenna (*iatrogenic*, iCJD) – związana z działaniami medycznymi (podanie hormonu wzrostu lub gonadotropiny uzyskiwanych z przysadek pacjentów zakażonych formą sporadyczną choroby Creutzfeldta-Jakoba oraz przeszczepy opony twardej mózgu lub rogówki, opisano też przypadki vCJD wywołane transfuzją krwi);
3. wariant (*variant*, vCJD) – wywołany przeniesieniem encefalopatii gąbczastej bydła na człowieka przez spożycie zakażonych produktów pochodzenia zwierzęcego;
4. rodzinna (*familial*, fCJD) – powstaje w wyniku mutacji genu *PRNP* kodującego białko prionu.

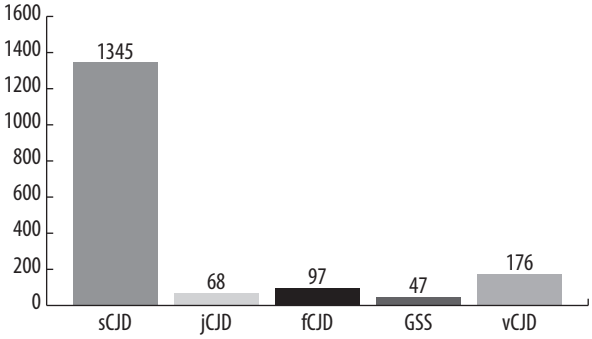
Sporadyczna forma choroby Creutzfeldta-Jakoba występuje z częstością 1–2 przypadki na 1000 000 mieszkańców rocznie. W latach 1990–2012 w Wielkiej Brytanii podejrzewano chorobę Creutzfeldta-Jakoba u 3001 osób, 1767 osób zmarło w tym czasie z powodu definitywnej lub prawdopodobnej CJD[6]. Od 1974 roku, kiedy po przeszczepie rogówki odnotowano pierwszy przypadek zachorowania na iCJD, opisano 226 przypadków zachorowania po podaniu hormonu wzrostu oraz 228 spowodowanych przeszczepem opony twardej[7].

Śmiertelność w wyniku chorób wywołanych przez priony w Wielkiej Brytanii ilustrują rys. 1 i 2.

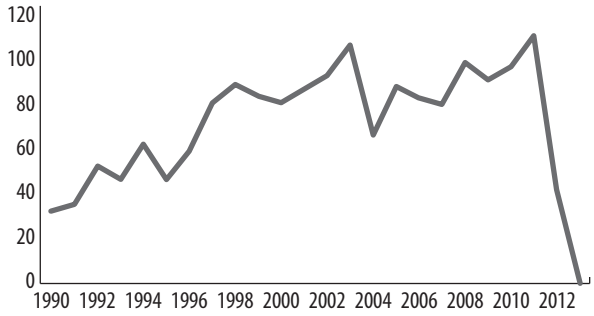
Okres inkubacji choroby wynosi zazwyczaj od kilku do kilkunastu lat, a zgon następuje najczęściej od kilku do kilkunastu miesięcy od wystąpienia pierwszych objawów klinicznych. Choroba objawia się postępującym otępieniem, zaburzeniami mowy i wzroku (zespół Heidenhaina) oraz motoryki pod postacią mioklonii, ataksji oraz niedowładu kończyn i zaburzeń równowagi. Bezpośrednią przyczyną zgonu jest najczęściej odoskrzelowe zapalenie płuc. Kliniczne i laboratoryjne kryteria diagnostyczne choroby Creutzfeldta-Jakoba zostały przedstawione w tabeli 1.

PATOGENEZA CHOROBY CREUTZFELDTA-JAKOBA

Przyczyną neurodegeneracji w przebiegu choroby Creutzfeldta-Jakoba jest odkładanie się patologicznej izoformy białka prionu – PrP^{Sc} – w ośrodkowym układzie nerwowym i innych tkankach. Powstaje ona poprzez zmianę konformacji przestrzennej formy prawidłowej białka PrP^{c} (*cellular*, c) występującego powszechnie w komórkach eukariotycznych. Dokładny mechanizm przekształcania prawidłowego białka w formę charakterystyczną dla białka patologicznego nie został do tej pory poznany. Wykazano, że w wyniku zmiany struktury białka prionu powstaje forma nierozpuszczalna w detergentach oraz częściowo oporna na trawienie enzymatyczne proteinazą K, która, akumulując się w mózgu, prowadzi do powstawania zmian strukturalnych[8]. Klasyczna triada objawów neuropatologicznych występujących w przebiegu chorób wywoływanych przez priony obejmuje zmiany gąbczaste, rozplem astrogleju oraz utratę neuronów[9]. Charakter neurotoksyczności prionów pozostaje niejasny. Nie wiadomo, czy jest ona powodowana utratą funkcji PrP^{c}, czy raczej toksycznymi właściwościami tworzącego się PrP^{Sc}.



Rys. 1. Liczba zgonów z powodu chorób wywoływanych przez priony w latach 1990–2012 z uwzględnieniem typu choroby. Źródło: National CJD Research & Surveillance Unit (NCJDRSU)



Rys. 2. Liczba zgonów w wyniku chorób wywoływanych przez priony w latach 1990–2012. Źródło: National CJD Research & Surveillance Unit (NCJDRSU)

Definitywna sCJD:

Typowy obraz neuropatologiczny i/lub stwierdzenie złogów PrP metodami immunohistochemicznymi, i/lub wykazanie odpornego na proteinazę K PrP metodą Western-blot, i/lub obecność włókienek powiązanych ze *scrapie*.

Prawdopodobna sCJD:

Gwałtownie postępujące otępienie oraz co najmniej dwa z czterech wymienionych objawów:

1) mioklonie
2) objawy wzrokowe lub móżdżkowe
3) objawy piramidowe lub pozapiramidowe
4) mutyzm akinetyczny

oraz dodatni wynik co najmniej jednego z wymienionych testów:

1) typowy zapis EEG
2) obecność białka 14-3-3 w płynie mózgowo-rdzeniowym (czas trwania choroby <2 lata)
3) nieprawidłowości w obrazie rezonansu magnetycznego w obrębie jądra ogoniastego lub/i skorupy w obrazowaniu dyfuzji (DWI-MR) lub w sekwencji inwersji i powrotu MR (FLAIR)

i inne badania nie sugerują alternatywnego rozpoznania.

Możliwa sCJD:

Postępujące otępienie oraz co najmniej dwa z czterech wymienionych objawów:

1) mioklonie
2) objawy wzrokowe lub móżdżkowe
3) objawy piramidowe lub pozapiramidowe
4) mutyzm akinetyczny

oraz brak wyników pozytywnych dla któregokolwiek z testów laboratoryjnych, które klasyfikowałyby przypadek jako „prawdopodobny",

oraz czas trwania choroby <2 lata

i inne badania nie sugerują alternatywnego rozpoznania.

Jatrogenna CJD:

Postępujące objawy móżdżkowe u pacjentów leczonych preparatami uzyskanymi z ludzkich przysadek mózgowych lub sporadyczna CJD z obecnym czynnikiem ryzyka, np. przeszczep opony twardej.

Rodzinna CJD:

Potwierdzona lub prawdopodobna CJD oraz potwierdzona lub prawdopodobna CJD u krewnego pierwszego stopnia i/lub zaburzenia neuropsychiatryczne oraz mutacja w genie kodującym białko PrP.

Tabela 1. Kliniczne i laboratoryjne kryteria diagnostyczne choroby Creutzfeldta-Jakoba. Źródło: National CJD Research & Surveillance Unit (NCJDRSU)

Fizjologiczna rola komórkowego białka prionu nie została ostatecznie ustalona, a w publikacjach na ten temat przedstawiane są sprzeczne wnioski. W 1992 roku wykazano ekspresję genu kodującego białko prionu *PRNP* u myszy już na wczesnych etapach embriogenezy, nie tylko w komórkach nerwowych, lecz także poza ośrodkowym układem nerwowym, sugerując udział białka prionu w rozwoju embrionalnym[10]. Z drugiej strony Büeler i wsp. w tym samym roku opublikowali pracę, w której dowodzą, że myszy z uszkodzonym genem kodującym białko prionu rozwijają się normalnie[11]. Białko prionu pełni przede wszystkim funkcję antyapoptyczną – chroni przed śmiercią komórkową wywoływaną przez białko Bax[12]. Poza tym wykazano, że komórki, w których występuje zmniejszona ekspresja białka prionu, są bardziej podatne na działanie stresu oksydacyjnego i łatwiej ulegają śmierci komórkowej[13], co sugeruje, że białko prionu pełni funkcję neuroprotekcyjną.

Należy zauważyć, że neurony, w których PrP nie ulega ekspresji, nie poddają się degeneracji w przebiegu chorób prionowych, nawet jeśli znajdują się w pobliżu komórek zainfekowanych. W modelu eksperymentalnym, przeprowadzonym przez Aguzziego i wsp., wykazano, że obecność białka prionu jest niezbędna do zakażenia. Po wprowadzeniu homogenatu mózgowego, pochodzącego ze zwierząt zakażonych *scrapie*, do organizmu myszy *knock out* z uszkodzonym genem *PRNP* kodującym PrP nie obserwowano replikacji prionów ani też zniszczenia tkanki nerwowej[14].

DIAGNOSTYKA CHOROBY CREUTZFELDTA-JAKOBA

Przyżyciowe rozpoznanie choroby Creutzfeldta-Jakoba jest skomplikowane z powodu trudności diagnostycznych w różnicowaniu objawów klinicznych z innymi chorobami neurozwyrodnieniowymi. Brak swoistego biomarkera stanowi dodatkowe utrudnienie w diagnostyce. EEG oraz metody obrazowe i laboratoryjne używane współcześnie znacznie poprawiły możliwość diagnostyki. Jednak większość z nich jest relatywnie nieswoista, a wynik dodatni nie determinuje rozpoznania jednoznacznie. Wykazano, że w postaci rodzinnej choroby Creutzfeldta-Jakoba wyniki badań są zazwyczaj negatywne, a wywiad rodzinny jest dodatni tylko w 30% przypadków[15]. Dużą nadzieję stwarza metoda wykrywania PrP^{Sc} w płynie mózgowo-rdzeniowym (PMR) za pomocą technik biologii molekularnej – RT-QuIC[16] (patrz praca Golańskiej i Liberskiego).

Według obowiązujących kryteriów w celu ustalenia rozpoznania konieczne jest przeprowadzenie badania neuropatologicznego. W vCJD patologiczne białko prionu można wykryć za pomocą biopsji migdałka podniebiennego[17], z kolei w przypadku sCJD – najczęstszej postaci choroby – biopsja mózgu pozostaje jedyną przyżyciową metodą diagnostyczną.

EEG

W analizie przeprowadzonej przez niemieckich naukowców czułość tego testu w diagnostyce sCJD oszacowano na 66%, z kolei specyficzność na 74%[18]. W przebiegu choroby występują charakterystyczne zmiany w obrazie EEG o zmiennej morfologii w zależności od stadium choroby – od rozlanego spowolnienia fal mózgowych i rytmicznej aktywności delta w okolicach czołowych we wczesnym etapie choroby do periodycznie występujących fal wolnych i ostrych o amplitudzie od 0,5 do 2,0 Hz w późniejszym stadium choroby, obserwowanych u 60–70% chorych[19]. Ostatecznie w stanie terminalnym pojawia się zapis areaktywy lub śpiączki alfa. Należy nadmienić, że w genetycznie uwarunkowanej postaci choroby Creutzfeldta-Jakoba typowe kompleksy iglica – fale wolne występują jedynie u 10% pacjentów. EEG pacjentów z jatrogenną postacią CJD zazwyczaj wykazuje ogniskowe zmiany korespondujące ze zmianami morfologicznymi, z kolei u pacjentów z wariantem CJD nie obserwuje się zmian EEG charakterystycznych dla sporadycznej CJD[20,21].

MRI

Rezonans magnetyczny został włączony do kryteriów diagnostycznych vCJD. Wyraźne zmiany sygnału w obrazie MRI obserwowane są u 71% pacjentów z vCJD. Badanie MRI wykazuje hiperintensywny sygnał w poduszce wzgórza (tzw. objaw poduszki, *pulvinar sign*). Objaw ten jest patognomoniczny dla vCJD[22]. Należy zauważyć, że zazwyczaj zmiany stają się bardziej wyraźne i rozsiane w miarę progresji choroby. U pacjentów z definitywnym lub prawdopodobnym rozpoznaniem sCJD podwyższony sygnał w obrębie kory mózgu obserwowano w 94% przypadków, z kolei u 68% pacjentów zmiany obejmowały również prążkowie i/lub wzgórze[23].

METODY LABORATORYJNE

Białko 14-3-3 i tau

Ponieważ białko prionu wywołujące chorobę Creutzfeldta-Jakoba jest białkiem komórkowym, choroba nie wywołuje odpowiedzi immunologicznej. Pobrany podczas rutynowej diagnostyki PMR nie wykazuje zazwyczaj nieprawidłowości poza średnio nasiloną pleocytozą[24]. Autorzy zalecają badanie obecności białka 14-3-3 oraz białka tau w PMR w trakcie postępowania diagnostycznego choroby Creutzfeldta-Jakoba[19]. Białko 14-3-3 należy do grupy białek pojawiających się w PMR w przypadku uszkodzenia neuronów. Czułość tego badania ocenia się na 85% w przypadku sCJD[25]. Nie jest ono jednak swoiste dla choroby Creutzfeldta-Jakoba, ponieważ białko to pojawia się w PMR również w przebiegu innych chorób o szybkiej progresji i masywnej utracie neuronów, na przykład w wirusowym zapaleniu mózgu,

padaczce, guzach pierwotnych, przerzutach do mózgu, poza tym w otępieniu z ciałami Lewy'ego, otępieniu czołowo-skroniowym oraz szybko postępującej chorobie Alzheimera[25,26], i daje fałszywie dodatnie wyniki w diagnostyce CJD. W postaci jatrogennej CJD czułość tego badania ocenia się na 75%, z kolei w wariancie CJD – jedynie na 40%. Wynik badania PMR jest zazwyczaj negatywny w przypadku śmiertelnej rodzinnej bezsenności i choroby Gerstmanna-Sträusslera-Scheinkera[27].
Białko tau również wykorzystywane jest jako marker CJD, ponieważ cechuje się porównywalną lub nawet wyższą czułością i swoistością niż białko 14-3-3[28].
W chwili obecnej rutynowe badania PMR podczas diagnostyki CJD obejmują detekcję białka tau i 14-3-3. Czułość takiego badania wynosi 94%, a swoistość – 68%[29]. Jednak wyniki stężenia obu markerów mogą być interpretowane tylko w połączeniu z wynikami badań obrazowych oraz obrazem klinicznym.

PMCA
Metoda PCMA (*protein misfolding cycling amplification*), opisana po raz pierwszy 10 lat temu, jest prostym, szybkim i efektywnym sposobem replikacji prionów *in vitro*. Podobnie jak PCR, PMCA jest cyklicznym procesem, w którym patologiczne białko prionu (PrP^{Sc}) jest inkubowane z białkiem prawidłowym (PrP^{c}) lub rekombinowanym (rPrP) w celu multiplikacji PrP^{Sc}. PrP^{Sc} syntetyzowane *de novo* ma te same właściwości biochemiczne jak PrP^{Sc} w tkankach[30]. Metoda ta pozwala na detekcję pojedynczej cząsteczki PrP^{Sc} oraz na powielenie prionów pochodnych z różnych szczepów. Pojedyncza analiza PMCA pozwala na uzyskanie wyników w ciągu 3 dni[31].

RT-QuIC
Najnowsza metoda detekcji patologicznego białka prionowego została opisana po raz pierwszy w 2010 roku. RT-QuIC (*real-time quaking-induced conversion*) polega na konwersji rekombinowanego białka PrP (rPrP) w agregaty PrP^{Sc}, obserwowanej w czasie rzeczywistym[32]. Wysoka efektywność RT-QuIC pozwala na detekcję białka patologicznego (PrP^{Sc}) z 2 μl PMR w czasie 50–200 razy krótszym niż PCMA[33]. Analizy wykazały, że RT-QuIC ma taką samą czułość (91%), ale znacznie większą swoistość (98% *vs* 55%) niż detekcja białka 14-3-3, dlatego jest to obecnie najbardziej obiecująca metoda diagnostyki sporadycznej formy choroby Creutzfeldta-Jakoba[34].

Immunohistochemia
Badania immunohistochemiczne pozwalają na definitywne rozpoznanie chorób wywoływanych przez priony dzięki wykorzystaniu przeciwciał anty-PrP. W tym celu stosuje się metodę *western blot* lub PET (*parafin-embedded tissue blotting*) i IHC oraz przeciwciała monoklonalne, na przykład 3F4 i 6H4[35]. Metoda ta nie umożliwia jednak różnicowania między PrP^{c} prawidłowym a PrP^{Sc} patologicznym. W wyniku braku swoistości wobec patogennego białka prionu zachodzi konieczność usunięcia z badanych tkanek prawidłowego białka za pomocą hydrolitycznego autoklawowania, mikrofal oraz inkubacji w kwasie mrówkowym. Brak ekspresji PrP^{Sc} w większości przypadków wyklucza rozpoznanie[36]. Reasumując: według obowiązujących wytycznych ostateczne rozpoznanie ustalane jest za pomocą biopsji mózgu oraz oceny histopatologicznej i wykazania depozytów patologicznego białka prionowego w ośrodkowym układzie nerwowym za pomocą badań immunohistochemicznych.

ZAKOŃCZENIE

Encefalopatie gąbczaste u ludzi są chorobami nieuleczalnymi i prowadzą do zgonu w ciągu kilkunastu miesięcy od rozpoznania. U chorych stosuje się jedynie leczenie objawowe obejmujące przede wszystkim karmienie rurką nosowo-gardłową lub żywienie parenteralne oraz dożylne podawanie płynów. Cewnikowanie pęcherza moczowego przeprowadza się, jeśli chory utracił kontrolę funkcji pęcherza. Klonazepam, pochodna benzodiazepiny, pomaga złagodzić napady miokloniczne. Z kolei antybiotykoterapia stosowana jest w przypadku powikłań, takich jak infekcje układu oddechowego lub moczowego. W szczególnych przypadkach przeprowadza się gastrostomię i/lub tracheotomię w celu ułatwienia karmienia i oddychania.

PIŚMIENNICTWO:
BIBLIOGRAPHY:

1. Wells G.A., Scott A.C., Johnson C.T. i wsp.: A novel progressive spongiform encephalopathy in cattle. Vet. Rec. 1987; 121: 419–420.
2. Liberski P.P., Bartosiewicz J.: Choroby wywoływane przez priony i choroba szalonych krów. Medycyna Praktyczna 2001; 1: 193–202.
3. Wilesmith J.W., Wells G.A., Ryan H. i wsp.: A cohort study to examine maternally-associated risk factors for bovine spongiform encephalopathy. Vet. Rec. 1997; 141: 239–243.
4. Gajdusek D.C., Gibbs C.J., Alpers M.P.: Experimental transmission of a Kuru-like syndrome in chimpanzees. Nature 1966; 209: 794–796.
5. Ironside J.: Creutzfeldt-Jakob disease. Brain Pathol. 1996; 6: 379–388.
6. National CJD Research & Surveillance Unit (NCJDRSU).
7. Brown P., Brandel J.P., Sato T. i wsp.: Iatrogenic Creutzfeldt-Jakob disease, final assessment. Emerg. Infect. Dis. 2012; 18: 901–907.
8. Pan K.M., Baldwin M., Nguyen J. i wsp.: Conversion of α-helices into β-sheets features in the formation of the scrapie prion proteins. Proc. Natl Acad. Sci. USA 1993; 90: 10962–10966.
9. Jeffrey M., Halliday W.G., Bell J. i wsp.: Synapse loss associated with abnormal PrP precedes neuronal degeneration in the scrapie-infected murine hippocampus. Neuropathol. Appl. Neurobiol. 2000; 26: 41–54.
10. Manson J., West J.D., Thomson V. i wsp.: The prion protein gene: a role in mouse embryogenesis? Development 1992; 115: 117–122.

11. Büeler H., Fischer M., Lang Y. i wsp.: Normal development and behaviour of mice lacking the neuronal cell-surface PrP protein. Nature 1992; 356: 577–582.
12. Bounhar Y., Zhang Y., Goodyer C.G., LeBlanc A.: Prion protein protects human neurons against Bax-mediated apoptosis. J. Biol. Chem. 2001; 276: 39145–39149.
13. Brown D.R., Schulz-Schaeffer W.J., Schmidt B., Kretzschmar H.A.: Prion protein-deficient cells show altered response to oxidative stress due to decreased SOD-1 activity. Exp. Neurol. 1997; 146: 104–112.
14. Aguzzi A., Brandner S., Marino S., Steinbach J.P.: Transgenic and knockout mice in the study of neurodegenerative diseases. J. Mol. Med. (Berl.) 1996; 74: 111–126.
15. Zerr I., Poser S.: Clinical diagnosis and differential diagnosis of CJD and vCJD. With special emphasis on laboratory tests. APMIS 2002; 110: 88–98.
16. McGuire L.I., Peden A.H., Orrú C.D. i wsp.: Real time quaking-induced conversion analysis of cerebrospinal fluid in sporadic Creutzfeldt-Jakob disease. Ann Neurol. 2012; 72: 278–285.
17. Hill A.F., Butterworth R.J., Joiner S. i wsp.: Investigation of variant Creutzfeldt-Jakob disease and other human prion diseases with tonsil biopsy samples. Lancet 1999; 353: 183–189.
18. Zerr I., Pocchiari M., Collins S. i wsp.: Analysis of EEG and CSF 14-3-3 proteins as aids to the diagnosis of Creutzfeldt-Jakob disease. Neurology 2000; 55: 811–815.
19. Krasnianski A., Meissner B., Heinemann U., Zerr I.: Clinical findings and diagnostic tests in Creutzfeldt-Jakob disease and variant Creutzfeldt-Jakob disease. Folia Neuropathol. 2004; 42 supl. B: 24–38.
20. Wieser H.G., Schindler K., Zumsteg D.: EEG in Creutzfeldt-Jakob disease. Clin. Neurophysiol. 2006; 117: 935–951.
21. Wieser H.G., Schwarz U., Blättler T. i wsp.: Serial EEG findings in sporadic and iatrogenic Creutzfeldt-Jakob disease. Clin. Neurophysiol. 2004; 115: 2467–2478.
22. Collie D.A., Sellar R.J., Zeidler M. i wsp.: MRI of Creutzfeldt-Jakob disease: imaging features and recommended MRI protocol. Clin. Radiol. 2001; 56: 726–739.
23. Shiga Y., Miyazawa K., Sato S. i wsp.: Diffusion-weighted MRI abnormalities as an early diagnostic marker for Creutzfeldt-Jakob disease. Neurology 2004; 63: 443–449.
24. Jacobi C., Arlt S., Reiber H. i wsp.: Immunoglobulins and virus-specific antibodies in patients with Creutzfeldt-Jakob disease. Acta Neurol. Scand. 2005; 111: 185–190.
25. Sanchez-Juan P., Green A., Ladogana A. i wsp.: CSF tests in the differential diagnosis of Creutzfeldt-Jakob disease. Neurology 2006; 67: 637–643.
26. Berg D., Holzmann C., Riess O.: 14-3-3 proteins in the nervous system. Nat. Rev. Neurosci. 2003; 4: 752–762.
27. Steinacker P., Aitken A., Otto M.: 14-3-3 proteins in neurodegeneration. Semin. Cell Dev. Biol. 201; 22: 696–704.
28. Brandel J.P., Peoch K., Beaudry P. i wsp.: 14-3-3 protein cerebrospinal fluid detection in human growth hormone-treated Creutzfeldt-Jakob disease patients. Ann. Neurol. 2001; 49: 257–260.
29. Hamlin C., Puoti G., Berri S. i wsp.: A comparison of tau and 14-3-3 protein in the diagnosis of Creutzfeldt-Jakob disease. Neurology 2012; 79: 547–552.
30. Soto C., Saborio G.P., Anderes L.: Cyclic amplification of protein misfolding: application to prion-related disorders and beyond. Trends Neurosci. 2002; 25: 390–394.
31. Morales R., Duran-Aniotz C., Diaz-Espinoza R. i wsp.: Protein misfolding cyclic amplification of infectious prions. Nat. Protoc. 2012; 287: 1397–1409.
32. Atarashi R., Sano K., Satoh K., Nishida N.: Real-time quaking-induced conversion: a highly sensitive assay for prion detection. Prion 2011; 5: 150–153.
33. Wilham J.M., Orrú C.D., Bessen R.A. i wsp.: Rapid end-point quantitation of prion seeding activity with sensitivity comparable to bioassays. PLoS Pathog. 2010; 6: e1001217.
34. Peden A.H., McGuire L.I., Appleford N.E.: Sensitive and specific detection of sporadic Creutzfeldt-Jakob disease brain prion protein using real-time quaking-induced conversion. J. Gen. Virol. 2012; 93: 438–449.
35. Zou W.Q., Zheng J., Gray D.M. i wsp.: Antibody to DNA detects scrapie but not normal prion protein. PNAS 2004; 101: 1380–1385.
36. Liberski P.P., Ironside J.W.: An outline of the neuropathology of transmissible spongiform encephalopathies (prion diseases). Folia Neuropathol. 2004; 42 supl. B: 39–58.

Informacja dla Autorów!

Chcąc zapewnić naszemu czasopismu **„AKTUALNOŚCI NEUROLOGICZNE”**
wyższą indeksację MNiSW i Index Copernicus, zwracamy się do Autorów
o dopełnienie poniższych warunków podczas przygotowywania pracy do publikacji:

– Publikację należy opatrzyć afiliacją z podaną nazwą ośrodka i jego pełnym adresem oraz numerem telefonu.

– Praca oryginalna powinna być poprzedzona **streszczeniem** zawierającym **od 200 do 250 słów**,
a poglądowa i kazuistyczna – **od 150 do 200**. Streszczeniu pracy oryginalnej należy nadać budowę strukturalną:
wstęp, materiał i metoda, wyniki, wnioski.

– Liczba **słów kluczowych** nie może być mniejsza niż **5**. Słowa kluczowe nie powinny być powtórzeniem tytułu.
Najlepiej stosować słowa kluczowe z katalogu MeSH.

– **Praca oryginalna** winna zawierać elementy: wstęp, materiał i metoda, wyniki, omówienie, wnioski, piśmiennictwo.

– **Piśmiennictwo** powinno być ułożone w **kolejności cytowania**.

Pełny Regulamin ogłaszania prac znajduje się na stronie 162.