

Wariant Choroby Creutzfeldta-Jakoba: aktualny stan wiedzy

Variant Creutzfeldt-Jakob disease: an update

National Creutzfeldt-Jakob Disease Surveillance Unit, School of Molecular and Clinical Medicine, University of Edinburgh, Western General Hospital, EH4 2XU, United Kingdom
Adres do korespondencji: James W. Ironside, Professor of Clinical Neuropathology, tel.: +44 131 537 1980, faks: +44 131 343 1404, e-mail: james.ironside@ed.ac.uk

Tłumaczył: Paweł P. Liberski

Podziękowania

National CJD Surveillance Unit jest finansowany przez Departament Zdrowia i Egzekutywę Szkocką (Scottish Executive). Bank mózgow w NCJDSU jest finansowany przez Medical Research Council (G0900580). Wyrażam podziękowania dla statystyków biomedycznych NCJDSU za fachową pomoc. Jesteśmy wdzięczni krewnym pacjentów z chorobami wywołanymi przez priony za wyrażenie zgody na użycie tkanek w badaniach naukowych.

Autorzy dedykują sympozjum pamięci Prof. Huberta Kwiecińskiego

Praca finansowana ze środków własnych

Streszczenie

Choroby wywołane przez priony obejmują: chorobę Creutzfeldta-Jakoba (*Creutzfeldt-Jakob disease*, CJD), kuru, chorobę Gerstmana-Sträusslera-Scheinkera (GSS), śmiertelną rodzinną bezsenność (*fatal familial insomnia*, FFI) u człowieka, scrapie (polska nieużywana nazwa: *trzęsawka*) u owiec, kóz i muflonów, pasażowalną encefalopatię nerek (*transmissible mink encephalopathy*, TME), encefalopatię gąbczastą bydła albo chorobę szalonych krów oraz przewlekłą chorobę wyniszczającą u jeleni (*chronic wasting disease*). Wariant choroby Creutzfeldta-Jakoba (vCJD) jest to nowa choroba z grupy chorób wywołanych przez priony spowodowana pasażem czynnika encefalopatii gąbczastej bydła (BSE). Przed wystąpieniem vCJD obserwowano pasaż BSE na kota domowego, pumę, ocelota, lwa i bizona. Większość przypadków vCJD obserwowano w Wielkiej Brytanii, mniejszą liczbę w 11 innych krajach. Wszystkie definitywne przypadki vCJD wystąpiły u homozygot Met Met w kodonie 129. genu kodującego PrP (*PRNP*). W wyniku zakażenia przez przewod pokarmowy czynnik infekcyjny vCJD replikuje się w tkance limfatycznej przed wystąpieniem objawów klinicznych choroby. Obecnie cztery prawdopodobne przypadki vCJD zidentyfikowano u biorców masy czerwonej krwi uzyskanej od asymptomatycznych dawców, którzy następnie zmarli na vCJD. Ostatnio jeden przypadek prawdopodobnego pasażu vCJD poprzez koncentrat czynnika VIII wystąpił w Wielkiej Brytanii u starszego chorego z hemofilią. Ostatnie doniesienie o teście laboratoryjnym wykonywanym we krwi, który może być zastosowany do detekcji vCJD, wskazuje na możliwość identyfikacji zakażonych osób być może jeszcze przed wystąpieniem objawów klinicznych.

Słowa kluczowe: wariant choroby Creutzfeldta-Jakoba, vCJD, prion, białko prionu, krew, osocze, transfuzja

Summary

Prion diseases, a group of infectious, fatal neurodegenerations comprise kuru, Creutzfeldt-Jakob disease (CJD), Gerstmann-Sträussler-Scheinker disease (GSS) and fatal familial insomnia (FFI) in man, scrapie in sheep, goats and mouflons, bovine spongiform encephalopathy (BSE) or mad cow disease and chronic wasting disease in elk and mule deer. Variant Creutzfeldt-Jakob disease (vCJD) is a novel human prion disease caused by the bovine spongiform encephalopathy agent. Most cases have occurred in the UK, with smaller numbers in 11 other countries. In Poland, vCJD has not been observed. All definite vCJD cases have occurred in methionine homozygotes at codon 129 in the prion protein gene (*PRNP*). Following oral infection, the vCJD agent replicates in lymphoid tissues during the asymptomatic phase of the incubation period. At present, four probable cases of vCJD infection have been identified following transfusion of red blood cells from asymptomatic donors who subsequently died from vCJD. Recently, one case of likely transmission of vCJD infection by UK Factor VIII concentrates has been reported in an elderly haemophilic patient in the UK. The recent report of a blood test that may be used to detect vCJD has raised the possibility of a new way to identify infected individuals, perhaps even before the onset of clinical symptoms.

Key words: variant CJD, prion, prion protein, blood, plasma, transfusion

WSTĘP

Choroby wywoływane przez priony (*prion diseases*), zwane także pasażowalnymi encefalopatiami gąbczastymi (*transmissible spongiform encephalopathies*)⁽¹⁻²⁾, to grupa śmiertelnych chorób neurozwyrodnieniowych człowieka i zwierząt. Choroby wywoływane przez priony obejmują choroby sporadyczne, nabyte (jatrogenne) i dziedziczne (genetyczne) (tabela 1). Przykładem chorób wywoływanych przez priony u zwierząt może być encefalopatia gąbczasta bydła albo choroba „szalonych krów” (*bovine spongiform encephalopathy*, BSE) oraz scrapie, szeroko występująca choroba owiec. Choroby te są pasażowalne eksperymentalnie i w warunkach naturalnych; przez wiele lat natura czynnika infekcyjnego była niepewna, sugerowano, że jest nim „wirus powolny” (*slow virus*) lub wirino. W 1982 roku Stanley B. Prusiner zaproponował „hipotezę prionu”, sugerując, że czynnik infekcyjny składa się w całości ze zmodyfikowanego białka gospodarza, białka prionu (PrP), nieposiadającego komponentu kwasu nukleinowego i częściowo opornego na degradację proteolityczną⁽³⁾.

Prawidłowa (komórkowa) izoforma białka prionu (PrP^c, od *cellular* – komórkowy) podlega ekspresji w wielu tkankach organizmu, ale występuje w najwyższym stężeniu w neuronach mózgowia⁽²⁾. W chorobach wywoływanych przez priony PrP^c ulega nieprawidłowemu zwinieniu (*misfolding*) w izoformę nieprawidłową (oznaczoną jako PrP^{Sc} lub PrP^d, od *disease* – choroba), która gromadzi się w ośrodkowym układzie nerwowym (OUN). Miejsce oraz dokładny mechanizm procesu nieprawidłowego zwiniania się pozostają niepewne. PrP^{Sc} wykazuje zwiększony odsetek konformacji β-fałdowej, co powoduje, że jest ono relatywnie oporne na degradację proteolityczną w porównaniu z PrP^c⁽²⁾. PrP^{Sc} jest ściśle powiązane z infekcyjnością i wydaje się, że stanowi główny, jeśli nie jedyny, komponent czynnika infekcyjnego. Wysoka zawartość konformacji β-fałdowej odpowiada za stabilność białka i za relatywną oporność na konwencjonalne metody antywirusowej i antibakteryjnej dekontaminacji. Co więcej, za pomocą współcześnie rekomendowanych metod

Sporadyczne:	
Sporadyczna postać choroby Creutzfeldta-Jakoba	
Sporadyczna śmiertelna bezsenność (<i>sporadic fatal insomnia</i>)	
Prionopatia wrażliwa na proteiny (<i>protease-sensitive prionopathy</i>)	
Nabyte:	
Od człowieka:	Kuru
	Jatrogenna postać choroby Creutzfeldta-Jakoba
Od krów:	Wariant choroby Creutzfeldta-Jakoba
Genetyczne:	
	Rodzinna postać choroby Creutzfeldta-Jakoba
	Choroba Gerstmana-Sträusslera-Scheinkera i jej warianty
	Śmiertelna rodzinna bezsenność (<i>fatal familial insomnia</i>)

Tabela 1. Klasyfikacja chorób wywoływanych przez priony u człowieka

dekontaminacji niekoniecznie można usunąć całą infekcyjność⁽⁴⁾ i żadna z tych metod nie jest możliwa do zastosowania w stosunku do krwi i osocza.

WARIANT CHOROBY
CREUTZFELDTA-JAKOBA (vCJD)

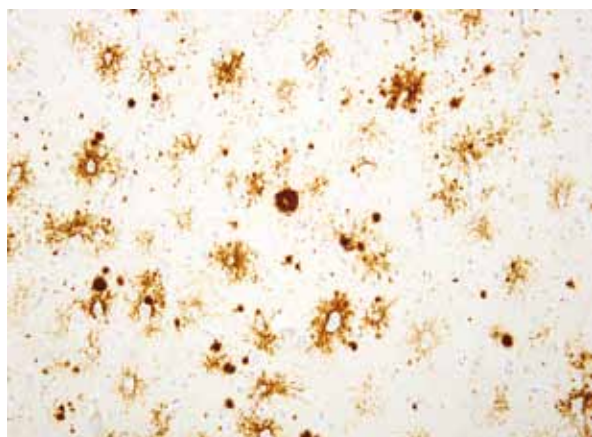
Sporadyczna postać CJD (sCJD) jest to najczęstsza forma chorób wywoływanych przez priony u człowieka (tabela 1), występująca na całym świecie z roczną częstością 1,5 na milion populacji⁽⁵⁾. Istnieją dowody na genetyczną predyspozycję do sCJD, aczkolwiek dokładna przyczyna występowania tej choroby nie jest znana. Naturalnie występujący polimorfizm kodonu 129. genu kodującego białka prionu (*PRNP*), znajdującego się u człowieka na chromosomie 20., może kodować metioninę (M) lub walinę (W) (tabela 2)⁽⁶⁾. Odnotowano przewagę homozygot w sCJD, szczególnie 129^{MM}, w stosunku do populacji generalnej (tabela 2).

W 1990 roku w Wielkiej Brytanii został przywrócony nadzór epidemiologiczny nad CJD w celu identyfikacji potencjalnego efektu epidemii BSE na człowieka. BSE rozwinęła się jako epidemia w Wielkiej Brytanii po jej opisanie w 1985 roku. Do chwili obecnej zidentyfikowano ponad 180 000 przypadków. Jednak jeżeli weźmie się pod uwagę asymptomatyczne przypadki BSE, całkowita liczba brytyjskich krów zainfekowanych BSE może sięgnąć 3 milionów, z których znaczny odsetek przedostał się do łańcucha pokarmowego człowieka⁽⁷⁾. W 1996 roku brytyjski National CJD Surveillance Unit (NCJDSU) odnotował nową formę choroby wywołanej przez priony u człowieka, obecnie znaną jako wariant CJD (vCJD)⁽⁸⁾. vCJD posiada kliniczny i patologiczny fenotyp odmienny od sCJD i innych form chorób wywoływanych przez priony u człowieka⁽⁹⁾, charakteryzując się młodym wiekiem zachorowania oraz typowym obrazem neuropatologicznym z obecnością blaszek kwitnących (*florid plaques*) w OUN (rys. 1) i przewagą diglikozylowanej formy PrP^d w badaniu Western blot. Wszystkie definitywne przypadki vCJD są homozygotami 129^{MM} genu *PRNP*, co sugeruje genetyczną wrażliwość tej populacji na vCJD. Niemniej jednak odnotowano pojedynczy możliwy przypadek vCJD u heterozygoty *PRNP* 129^{MV}⁽¹⁰⁾.

Dane epidemiologiczne wskazujące, że wybuch epidemii BSE w Wielkiej Brytanii był odpowiedzialny za pojawienie się vCJD, zostały poparte wynikami eksperymentalnego pasażu BSE i vCJD na myszy, zarówno wsobne, jak i transgeniczne. Eksperymenty te wykazały, że czynnik vCJD ma podobne właściwości biologiczne jak czynnik infekcyjny BSE i że są one odmienne od

Polimorfizm kodonu 129. <i>PRNP</i> (%)			
	MM	MV	VV
Populacja ogólna	39	50	11
sCJD	63	19	18
vCJD	100	-	-
M – metionina, V – walina			

Tabela 2. Polimorfizm genu kodującego białko prionu (PrP) w populacji ogólnej i w chorobach wywoływanych przez priony



Rys. 1. Immunohistochemia dla PrP^d w korze czolowej vCJD wykazuje intensywne barwienie dużej blaszki kwitnącej oraz wielu mniejszych blaszek i amorficznego materiału wokół neuronów i naczyń krwionośnych. Przeciwciało anti-PrP (KG9) z podbarwieniem hematoksylina

charakterystyk czynnika sCJD⁽¹¹⁻¹²⁾. Potwierdziło to, że vCJD jest nową chorobą, jedyną wśród chorób wywoływanych przez priony u człowieka nabytą od innego gatunku (tabela 1). Badania epidemiologiczne przeprowadzone przez NCJDSU wskazują, że najbardziej prawdopodobnym źródłem ekspozycji na BSE jest konsumpcja zainfekowanych produktów mięsnych⁽¹³⁾. Po doustnej ekspozycji na BSE czynnik infekcyjny podlega replikacji w układzie limfatycznym obejmującym śledzionę, migdałki, węzły chłonne i tkankę limfatyczną jelita⁽⁹⁾. Miano infekcyjności w układzie limfatycznym vCJD jest w przybliżeniu 2-3 log niższe niż w tkankach OUN⁽¹⁴⁾. W retrospektywnej analizie immunohistochemicznej stwierdzono obecność PrP^d w tkance limfatycznej wyrostka robaczkowego u 2 chorych, u których wykonano appendektomię do 2 lat przed wystąpieniem objawów vCJD⁽¹⁵⁾. Odkrycia te, prowadzące do hipotezy, że infekcyjność może być obecna we krwi w przebiegu inkubacji vCJD⁽¹⁶⁾, zostały wsparte

Kraj	Liczba pierwotnych przypadków	Liczba wtórnych przypadków: po transfuzji krwi
UK	172	3
Francja	25	-
Hiszpania	5	-
Irlandia	4	-
USA	3	-
Holandia	3	-
Portugalia	2	-
Włochy	2	-
Kanada	2	-
Japonia	1	-
Arabia Saudyjska	1	-
Tajwan	1	-

Tabela 3. Wariant CJD na świecie (marzec 2010 r.)



Rys. 2. Immunohistochemia dla PrP^d w śledzionie asymptomaticznego przypadku infekcji vCJD po przetoczeniu krwi wykazuje barwienie foliularnych komórek dendrytycznych i makrofażów w centrach terminalnych. Anti-PrP (KG9) z podbarwieniem hematoksylina

badaniami, w których wykazano obecność infekcyjności we krwi owiec eksperymentalnie zakażonych BSE przed wystąpieniem objawów klinicznych⁽¹⁷⁾.

Do marca 2011 roku w Wielkiej Brytanii odnotowano 175 definitywne i prawdopodobne przypadki vCJD, w 11 innych krajach stwierdzono 49 przypadków (tabela 3). Częstość występowania vCJD zmniejszyła się w Wielkiej Brytanii od lat 1999-2000, jednak liczba asymptomaticznych przypadków zakażenia pozostaje niepewna; wyniki wcześniejszych badań obecności PrP^d w migdałkach i wyrostku robaczkowym sugerują prewalencję rzędu 1 na 10 000 mieszkańców Wielkiej Brytanii^(15,18-19). Liczba ta jest wyższa niż obecna liczba przypadków vCJD w Wielkiej Brytanii, co sugeruje, że niektóre przypadki vCJD mogą mieć przedłużony okres asymptomaticznego nosicielstwa, który nie prowadzi do rozwoju klinicznej choroby we wszystkich przypadkach. Współcześnie prowadzona analiza epidemii vCJD w Wielkiej Brytanii sugeruje, że końcówka (*tail*) epidemii może być potencjalnie długa, ze szczytem częstości rocznego zachorowania rzędu 11 przypadków, reprezentujących zarówno pierwotne przypadki doustnej infekcji BSE, jak i wtórne przypadki pasażu poprzez krew u wszystkich genotypów PRNP⁽²⁰⁾.

INFEKCYJNOŚĆ vCJD WE KRWI

Dotychczas w Wielkiej Brytanii odnotowano trzy przypadki vCJD u osób, które były biorcami nieubogoleukocytarnej (*non-leukodepleted*) masy erytrocytarnej pochodzącej od asymptomaticznych dawców brytyjskich, którzy następnie, już po donacji krwi, zmarli na vCJD⁽²¹⁻²²⁾. Wszyscy trzej biorcy byli homozygotami 129^{MM} z okresem inkubacji 6,5-7,8 roku, które upłynęły pomiędzy datą transfuzji a początkiem objawów choroby. Obraz kliniczny i neuropatologiczny u biorców był podobny do obserwowanego w innych przypadkach vCJD^(21,23). Jednakże asymptomaticzna infekcja vCJD została wykryta u starszego przypadku, który był biorcą jednej jednostki nieubogoleukocytarnej (*non-leukodepleted*) masy erytrocytarnej uzyskanej od innego

asymptomatycznego dawcy, u którego następnie rozwinął się vCJD⁽²⁴⁾. Biorca nie wykazywał objawów vCJD ani innych objawów choroby neurologicznej i zmarł z niepowiązanej przyczyny 5 lat po transfuzji. Analiza polimorfizmu kodonu 129. genu *PRNP* wykazała, że biorca ten był heterozygotą (129^{MV}). U biorcy nie odnotowano objawów neuropatologicznych vCJD ani obecności, metodą Western blot, PrP^d w OUN. Jednakże badanie immunohistochemiczne na PrP^d wykazało obecność tego białka w śledzionie (rys. 2) i szczylnych węzłach chłonnych, ale nie w migdałkach lub wyrostku robaczkowym; w analizie Western blot ujawniono obecność PrP^d w śledzionie⁽²⁴⁾.

Identyfikacja vCJD u 4 osób, u których przeprowadzono transfuzję masy czerwonych krwinek od zainfekowanych vCJD dawców, silnie wskazuje na fakt, że krew jest zakaźna w czasie inkubacji vCJD. Ponieważ donacja od asymptomatycznych dawców, którzy później zachorowali na vCJD, obejmowała także osocze wykorzystywane do jego przetwarzania⁽²¹⁾, dane te znowy wywołały obawy o możliwość przepasazowania vCJD poprzez pochodne osocza. W przewidywaniu i jako odpowiedź na te obawy w Wielkiej Brytanii wprowadzono szereg przedsięwzięć w celu zmniejszenia ryzyka pasażu vCJD przez krew i produkty pochodzące z osocza⁽²⁵⁻²⁶⁾. Jest nieprawdopodobne, by którakolwiek z tych metod wyeliminowała całe ryzyko, ale wydaje się, że usunięcie leukocytów (leukodeplecja) może zredukować miano infekcyjności we krwi⁽²⁷⁾.

Ministerstwo Zdrowia (*Department of Health*) Wielkiej Brytanii zamówiło ekspertyzę ryzyka w celu oceny możliwości pasażu BSE przez krew i produkty krwiopochodne⁽²⁸⁾. Konkluzja tej oceny została oparta na generalnie pesymistycznych przesłankach dotyczących prawdopodobnego miana infekcyjności we krwi w przypadku vCJD i potencjalnych konsekwencji poszczególnych stadiów przetwarzania osocza używanych w produkcji jego pochodnych. I tak biorcy koncentratu czynnika VIII i IX mają wystarczająco podwyższone ryzyko vCJD, aby wprowadzić dodatkowe działania w zakresie zdrowia publicznego w celu minimalizacji ryzyka wtórnej infekcji. Z kolei chorzy leczeni w latach 1980-2001 uzyskiwanym w Wielkiej Brytanii koncentratem czynników krzepnięcia, włączając większość dorosłych pacjentów z hemofilią, zostali poinformowani, że należą do grupy podwyższonego ryzyka infekcji vCJD⁽²⁹⁾. Takie podejście zostało zarekomendowane przez UKHCDO (UK Haemophilia Centre Doctors' Organisation) oraz zalecone przez UK Haemophilia Society.

INFEKCJA vCJD U CHOREGO Z HEMOFILIĄ W WIELKIEJ BRYTANII

Około 4000 chorych z zaburzeniami krzepnięcia, którzy podlegali terapii uzyskiwanym w Wielkiej Brytanii koncentratem czynników krzepnięcia, jest zarejestrowanych w brytyjskiej narodowej bazie danych chorych na hemofilię (National Haemophilia Database). Retrospektywna analiza immunohistochemiczna autopsji przeprowadzona u 22 chorych na hemofilię, którzy zmarli przed 1998 rokiem, nie wykazała obecności infekcji vCJD⁽³⁰⁾. W 2006 roku NCJDSU i UKHCD rozpoczęły prospektywne nadzór w celu wykrycia przypadku(ów) vCJD, posługując się ba-

daniem Western blot zastosowanym do neutralizowanych tkanek limfatycznych i mózgu pozyskanych podczas biopsji lub autopsji po wyrażeniu odpowiedniej zgody. Do 2009 roku uzyskano tkanki od 17 chorych (10 autopsji i 7 biopsji), począwszy od pojedynczej próbki biopsyjnej aż po pełną autopsję. W przypadku autopsji śledziona pojedynczego przypadku wykazała obecność silnego sygnału PrP^d przy wielokrotnym badaniu w pojedynczym obszarze⁽¹⁹⁾. Chorym był 73-letni mężczyzna zamieszkały w Wielkiej Brytanii bez historii zaburzeń neurologicznych; analiza kodonu 129. genu *PRNP* wykazała, że był on heterozygotą 129^{MV}. Chory ten otrzymał ponad 9000 jednostek czynnika VIII otrzymanego z puli brytyjskiego osocza. W puli tej znalazło się także osocze od dawcy, który następnie zmarł na vCJD. Ponadto chory ten otrzymał transfuzję 14 jednostek masy czerwonych krwinek oraz kilkakrotnie podlegał zabiegom chirurgicznym i inwazyjnej endoskopii. Ocena relatywnego poziomu ryzyka zakażenia vCJD poprzez dietę, zabiegi chirurgiczne/endoskopię, transfuzję krwi i pochodne osocza sugeruje, że najbardziej prawdopodobną drogą infekcji była transfuzja kontaminowanych pochodnych osocza⁽¹⁹⁾. Chory ten jest pierwszym w Wielkiej Brytanii przypadkiem infekcji vCJD u osoby z hemofilią; do chwili obecnej nie stwierdzono klinicznego przypadku vCJD u jakiegokolwiek chorego leczonego koncentratami czynników krzepnięcia brytyjskiego pochodzenia.

PRZYSZŁE DZIAŁANIA

Wiele wątpliwości co do częstości występowania asymptomatycznej infekcji vCJD w Wielkiej Brytanii i ryzyka zakażenia vCJD przez krew i komponenty osocza można by rozwiązać, gdybyśmy dysponowali przesiewowym testem dla vCJD. Obecnie testuje się kilka odmiennych podejść do tego zagadnienia, aczkolwiek trudności w opracowaniu metody o dostatecznej czułości i swoistości są bardzo duże^(25,31). Choć istnieje doniesienie na temat pojedynczego testu zdolnego do wykrycia infekcyjności vCJD we krwi u naczelnych eksperymentalnie zakażonych BSE⁽³²⁾, badanie to zostało obecnie przerwane⁽³³⁾. Szczegóły innego testu wykrywającego infekcyjność vCJD we krwi opublikowano niedawno. Test ten okazał się pozytywny dla próbek krwi vCJD, ale nie sCJD i próbek kontroli⁽³⁴⁾. Ocena czułości i swoistości wymienionego testu wymaga dalszych badań, jak również stwierdzenia, czy nadaje się on do zastosowania jako test przesiewowy dla vCJD na dużą skalę. Jest prawdopodobne, że nacisk publiczny wymusi implementację takiego testu tak szybko, jak to jest możliwe, szczególnie u osób świadomych zwiększonego ryzyka wystąpienia u nich vCJD, zwłaszcza w Wielkiej Brytanii. Jednak nawet jeżeli zostanie opracowany odpowiedni test przesiewowy dla vCJD, pojawi się presja na opracowanie kolejnego potwierdzającego testu, w celu oceny zagadnień czułości i swoistości testu przesiewowego^(25,35). Brak jakiegokolwiek leczenia lub profilaktyki dla vCJD bądź innych chorób wywoływanych przez priony każe zastanowić się nad zasadnością testowania ludzi, szczególnie należących do grupy ryzyka. Niezbędny jest ciągły nadzór nad vCJD w celu bardziej całościowej oceny ryzyka wymienionych chorób oraz uzyskania informacji

o prevalencji choroby, przede wszystkim w odniesieniu do tych nosicieli genotypów *PRNP*, u których dotychczas nie stwierdzono vCJD.

PIŚMIENNICTWO:

BIBLIOGRAPHY:

1. Ironside J.W.: Creutzfeldt-Jakob disease. *Brain Pathol.* 1996; 6: 379-388.
2. Prusiner S.B.: Prions. *Proc. Natl Acad. Sci. USA* 1998; 95: 13363-13383.
3. Prusiner S.B.: Novel proteinaceous infectious particles cause scrapie. *Science* 1982; 216: 136-144.
4. WHO Infection Control Guidelines for Transmissible Spongiform Encephalopathies. World Health Organisation 2000, Geneva.
5. Brown P., Cathala F., Raubertas R.F. i wsp.: The epidemiology of Creutzfeldt-Jakob disease: conclusion of a 15-year investigation in France and review of the world literature. *Neurology* 1987; 37: 895-904.
6. Alperovitch A., Zerr I., Pocchiari M. i wsp.: Codon 129 prion protein genotype and sporadic Creutzfeldt-Jakob disease. *Lancet* 1999; 353: 1673-1674.
7. Smith P.G., Bradley R.: Bovine spongiform encephalopathy (BSE) and its epidemiology. *Br. Med. Bull.* 2003; 66: 185-198.
8. Will R.G., Ironside J.W., Zeidler M. i wsp.: A new variant of Creutzfeldt-Jakob disease in the UK. *Lancet* 1996; 347: 921-925.
9. Ironside J.W., McCardle L., Horsburgh A. i wsp.: Pathological diagnosis of variant Creutzfeldt-Jakob disease. *APMIS* 2002; 110: 79-87.
10. Kaski D., Mead S., Hyare H. i wsp.: Variant CJD in an individual heterozygous for PRNP codon 129. *Lancet* 2009; 374: 2128.
11. Bruce M.E., Will R.G., Ironside J.W. i wsp.: Transmissions to mice indicate that 'new variant' CJD is caused by the BSE agent. *Nature* 1997; 389: 498-501.
12. Scott M.R., Will R., Ironside J. i wsp.: Compelling transgenic evidence for transmission of bovine spongiform encephalopathy prions to humans. *Proc. Natl Acad. Sci. USA* 1999; 96: 15137-15142.
13. Ward H.J., Everington D., Cousens S.N. i wsp.: Risk factors for variant Creutzfeldt-Jakob disease: a case-control study. *Ann. Neurol.* 2006; 59: 111-120.
14. Bruce M.E., McConnell I., Will R.G. i wsp.: Detection of variant Creutzfeldt-Jakob disease infectivity in extraneural tissues. *Lancet* 2001; 358: 208-209.
15. Hilton D.A., Ghani A.C., Conyers L. i wsp.: Prevalence of lymphoreticular prion protein accumulation in UK tissue samples. *J. Pathol.* 2004; 203: 733-739.
16. Turner M.L., Ironside J.W.: New-variant Creutzfeldt-Jakob disease: the risk of transmission by blood transfusion. *Blood Rev.* 1998; 12: 255-268.
17. Houston F., McCutcheon S., Goldmann W. i wsp.: Prion diseases are efficiently transmitted by blood transfusion in sheep. *Blood* 2008; 112: 4739-4520.
18. Clewley J.P., Kelly C.M., Andrews N. i wsp.: Prevalence of disease related prion protein in anonymous tonsil specimens in Britain: cross sectional opportunistic survey. *Br. Med. J.* 2009; 338: b1442.
19. Peden A., McCardle L., Head M.W. i wsp.: Variant CJD infection in the spleen of a neurologically asymptomatic UK adult patient with haemophilia. *Haemophilia* 2010; 16: 296-304.
20. Garske T., Ghani A.C.: Uncertainty in the tail of the variant Creutzfeldt-Jakob disease epidemic in the UK. *PLoS One* 2010; 5: e15626.
21. Hewitt P.E., Llewelyn C.A., Mackenzie J., Will R.G.: Creutzfeldt-Jakob disease and blood transfusion: results of the UK Transfusion Medicine Epidemiological Review study. *Vox Sang.* 2006; 91: 221-230.
22. Wroe S.J., Pal S., Siddique D. i wsp.: Clinical presentation and pre-mortem diagnosis of Creutzfeldt-Jakob disease associated with blood transfusion. *Lancet* 2006; 368: 2061-2067.
23. Head M.W., Yull H., Ritchie D.L. i wsp.: Pathological investigation of the first donor and recipient pair linked by blood transfusion-associated variant Creutzfeldt-Jakob disease infection. *Neuropathol. Appl. Neurobiol.* 2009; 35: 433-436.
24. Peden A.H., Head M.W., Ritchie D.L. i wsp.: Preclinical vCJD after blood transfusion in a PRNP codon 129 heterozygous patient. *Lancet* 2004; 364: 527-529.
25. Turner M.L., Ludlam C.A.: An update on the assessment and management of the risk of transmission of variant Creutzfeldt-Jakob disease by blood and plasma products. *Br. J. Haematol.* 2008; 144: 14-23.
26. Millar C.M., Connor N., Dolan G. i wsp.: Risk reduction strategies for variant Creutzfeldt-Jakob disease transmission by UK plasma products and their impact on patients with inherited bleeding disorders. *Haemophilia* 2010; 16: 305-315.
27. Gregori L., McCombie N., Palmar D. i wsp.: Effectiveness of leucoreduction for removal of infectivity of transmissible spongiform encephalopathies from blood. *Lancet* 2004; 364: 529-531.
28. DH risk assessment for vCJD infectivity in blood products. Det Norske Veritas 2003. Adres: http://www.dnv.com/binaries/vCJD_Update_Report_tcm4-74414.pdf.
29. Variant CJD and blood products. Health Protection Agency 2004. Adres: http://www.hpa.org.uk/webw/HPAweb &HPAwebStandard/HPAweb_C/195733818681?p=1191942152861.
30. Lee C.A., Ironside J.W., Bell J.E. i wsp.: Retrospective neuropathological review of prion disease in UK haemophilic patients. *Thromb. Haemost.* 1998; 80: 909-911.
31. Brown P.: Creutzfeldt-Jakob disease: reflections on the risk from blood product therapy. *Haemophilia* 2007; 13 suppl. 5: 33-40.
32. Amorfix detects vCJD prions in blood from non-human primates. Adres: <http://www.analytica-world.com/news/e/108609/>.
33. Corporate update on vCJD test development. Adres: http://www.amorfix.com/pdf_press/pr_2010/2010_05_31_corporate_update_on_vCJD.pdf.
34. Edgeworth J., Farmer M., Sicilia A. i wsp.: Detection of prion infection in variant Creutzfeldt-Jakob disease: a bold-based assay. *Lancet* 2011; 377: 487-493.
35. Gregori L.: A prototype assay to detect vCJD-infected blood. *Lancet* 2011; 377: 444-446.