

Milan Terzić¹
 Sanja Maričić²
 Bojan Štimec³
 Milan Savić⁴
 Vladimir Kostić⁵

¹ Institut za Ginekologiju i akušerstvo
 Kliničkog centra Srbije, Beograd

² Dom zdravlja "Savski venac", Beograd

³ Institut za Anatomiju, Medicinski fakultet
 Univerziteta u Beogradu

⁴ Bolnica za prevenciju i lečenje cerebro-vaskularnih
 bolesti "Sveti Sava", Beograd

⁵ Institut za Neurologiju Kliničkog centra Srbije,
 Beograd

Prioni

Ključne reči

Prioni
 Creutzfeldt-Jakobova bolest (CJD)
 Gerstmann-Straussler-Scheinkero
 bolest (GSS)
 fatalna familijarna insomnija (FFI)

Sažetak

Ovaj revijalni članak evaluira novu bolest prouzrokovanu patogenima nazvanim prioni. Za razliku od klasičnih infektivnih agenasa kao što su virusi i bakterije, prioni nemaju nezavisan genom i predstavljaju najvećim delom, ako ne i u potpunosti, abnormalnu formu sopstvenog prionskog proteina. Bolesti priona su retke progresivne neurodegenerativne i transmisivne bolesti koje pogađaju humanu populaciju i sve sisare.

Bolesti priona kod ljudi predstavljaju fatalne neurodegenerativne bolesti koje mogu biti sporadične, genetske i infektivne. Sporadični oblik nazvan je Creutzfeldt-Jakobova bolest, dok su nasledni oblici familijarna (f) Creutzfeldt-Jakobova bolest, Gerstmann-Straussler-Scheinkero
 bolest (GSS) i fatalna familijarna insomnija (FFI). Prioni su transmisivne partikule bez nukleinske kiseline izgrađene samo od modifikovanog sopstvenog prionskog proteina (PrPSc). Normalni celularni prionski protein (PrPc) konvertuje se u PrPSc posttranslacionim procesima kojima protein dobija beta strukturu. Kod fCJD, GSS i FFI mutacije PrP gena koje dovode do bolesti locirane su na kratkom kraku 20. hromozoma. Zbog toga bolesti priona predstavljaju konformacioni poremećaj proteina. Uprkos decenijskim izučavanjima, naročito intenziviranim u poslednjih nekoliko godina, bolesti priona ostaju enigma iz više razloga. Glavni problemi koji zahtevaju razjašnjenje su povezanost između infektivnosti i genetike, korelacija između genotipa i fenotipa i patogeneza oštećenja mozga.

Posle objavljivanja podataka da je samo u Austriji između 1969-1996. godine transmisivna spongiformna encefalopatija dijagnostikovana u 98 osoba, svetska javnost je postala svesna velike opasnosti, a informisanje populacije o ovoj opakoj bolesti postalo je ultimativno^{1,2,3}.

Donedavno se smatralo da sve infekcije prouzrokuju bakterije, virusi, gljivice ili paraziti, koji svoju DNK ili RNK koriste kao genetsku osnovu za biološke funkcije, odnosno nastanak patoloških stanja⁴. Pre dvadesetak godina ovaj stav je odbačen otkrićem da izvesne neurodegenerativne bolesti uzrokuje jedna proteinska supstancija^{5,6,7}.

Bolest priona prouzrokovana je novim patogenim agensima⁸. Za razliku od klasičnih infektivnih agenasa, prioni nemaju nezavisni genom i predstavljaju najvećim delom, ako ne i u potpunosti, samo izmenjeni protein domaćina. Iako još uvek nije dokazano kako se prioni umnožavaju, smatra se da B limfociti imaju ključnu ulogu u neuroinvazivnosti priona^{3,9,10}.

Ova *protein-only* hipoteza bazira se na konstataciji da se ekstraktom mozga bolest prenosila sa bolesne na zdravu eksperimentalnu životinju i da se infektivnost inokuluma nije mogla smanjiti ultravioletnim niti jonizujućim zračenjem¹¹. Ovi infektivni proteini, nazvani "prioni", razmnožavaju se u

organizmu i dovode do bolesti¹². Kako su pored infektivnih, identifikovani i prioni koji dovode do sporadičnih ili familijarnih neurodegenerativnih bolesti, koncept priona još teže je razumljiv.

Prioni prouzrokovatori infektivnih, sporadičnih i naslednih spongiformnih encefalopatija

Specifično histološko obeležje spongiformnih encefalopatija su multifokalni cerebralni prazni prostori koji leziju daju sunderast izgled¹³. Najčešću spongiformnu encefalopatiju ovaca i koza, nazvanu *scrapie bolest* odnosno *bolest češanja* (SB), prati jak osećaj svraba, koji se kod životinja manifestuje plašljivošću i stalnim češanjem. Bolest se na potomstvo prenosi najmanje deset generacija. Kod goveda prioni dovode do *bolesti ludih krava* (BSE - *bovina spongiformna encefalopatija*).

U humanoj populaciji poznate su različite forme spongiformnih encefalopatija (tabela 1).

Tabela 1. Spongiformne encefalopatije

Bolest	Tipični simptom	Uzrok	Incidenca	Vreme infekcija/egzitus
Kuru	ataksija, demencija,	infekcija	od 1975. godine poznato 2600 slučajeva, samo plemena Papua - Nova Gvineja	3 meseca - 1 godina
Creutzfeldt-Jacobova bolest	demencija, ataksija	a) sporadično b) nasledno 10-15% mutacijom PrP gena c) jatrogeno	a) 1/1.000.000 b) nasledno, samo 100 porodica c) samo 80 slučajeva	a) 1 mes. - 10 god. b) 1 godina c) /
Gerstmann-Sträussler-Scheinkerov sindrom	ataksija, demencija	familijarna mutacija PrP gena	samo 50 porodica	2-6 godina
Fatalna porodična insomnija	poremećaj spavanja, insomnija, demencija	familijarna mutacija PrP gena	9 porodica	1 godina

- a) Bolest kuru, otkrivena kod plemena Papua-Nova Gvineja, manifestuje se gubitkom koordinacije praćene demencijom i neizbežnim letalnim ishodom. Infekcija kod ovih plemena nastaje ritualnim kanibalizmom, a bolest se klinički ispoljava kroz 3-12 meseci^{14,15}.
- b) Sporadična Creutzfeldt-Jakobova bolest (CJD) ima incidenciju 1/1.000.000. i nastaje u šestoj deceniji života. Za razliku od kuru bolesti, najpre se ispoljava demencija, a zatim inkoordinacija (sporadična CJD). U retkim slučajevima CJD se može preneti jatrogeno instrumentima, transplantacijom dure, transfuzijama krvi ili ordiniranjem humanog hormona rasta (infektivna CJD)^{16,17,18,19}. Samo 10% slučajeva CJD ima naslednu osnovu i prenosi se familijarno (nasledna CJD)^{20,21}.

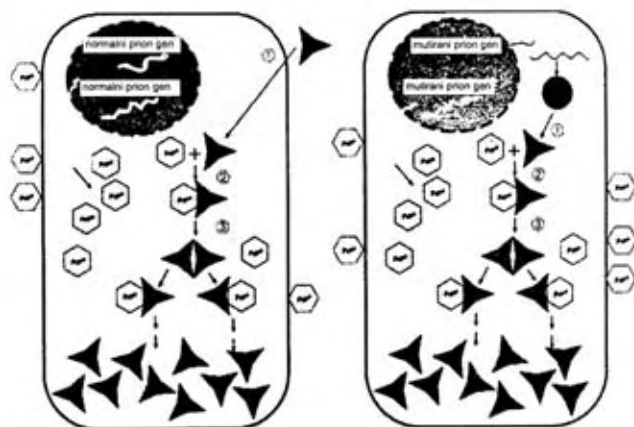
- c) Nasledan Gerstmann-Sträussler-Scheinkerov sindrom (GSS) ispoljava se inkoordinacijom, demencijom¹³.
- d) Fatalna porodična insomnija (FFI) karakteriše se poremećajem spavanja, gubitkom sna i demencijom.^{22,23,24}

Prion gen i prion protein

Prenošenjem *scrapie bolesti* na hrčka injekcijom ekstrakta mozga inficirane ovce moguće je sprovesti ispitivanje biologije, biohemije, efekata različitih doza i specifičnosti vrste¹³. Normalni ćelijski prion protein (PrP^C) prisutan je kod svih sisara, najviše u neuronima, mada neznatna ekspresija postoji u svim ćelijama i tkivima, jetri i pankreasu. Protein se stvara u ćelijama, transportuje na njenu površinu, ponovo preuzima u ćeliju, gde ga proteaze razgrađuju. Funkcije ovoga proteina na spoljnoj površini ćelijske membrane još nisu razjašnjene¹².

Kod obolelih hrčaka postoji oblik prion proteina rezistentan na proteaze (PrP^{Sc}). PrP^{Sc} je sasvim različit od PrP^C, jer je rezistentan na povišenu temperaturu, proteaze i kiseline, i akumulira se kao amiloid u inficiranim ćelijama. U obolelom organizmu nema znakova zapaljenja niti imunoloških reakcija, budući da PrP^{Sc} nije strani protein, nego isoforma PrP^C, sa identičnom aminokiselinskom sekvencom (slika 1a).

Slika 1. Model nastajanja a) infektivne i b) sporadične familijarne nasledne bolesti izazvane prionima



- a) PrP^C ○ je normalan ćelijski protein. PrP^{Sc} ▲ je protein koji dovodi do "bolesti češanja".
(1) Kod infekcije prionima, (2) stvara se heterodimerna veza između PrP^C i PrP^{Sc}, (3) sa pretvaranjem PrP^C u PrP^{Sc}. Iz kaskadne reakcije svi molekuli PrP^C pretvaraju se u PrP^{Sc}, nastaje rezistencija na proteaze, dolazi do akumulacije PrP^{Sc} i taloženja amiloida.
- b) (1) PrP^{Scm} ● je mutirani prion protein koji nastaje naslednom familijarnom ili sporadičnom mutacijom. Ovaj PrP^{Scm} protein je labilan i spontano se savijanjem pretvara u PrP^{Sc}, (2 i 3) pri čemu dolazi do kaskadne konverzije PrP^C u PrP^{Sc}, i akumulacije amiloida.

Prioni koji dovode do infektivnih bolesti

Prema Prusinerovoj teoriji¹³, za koju je autor 1997. godine dobio Nobelovu nagradu, patogenetski aktivni prioni nastaju konformacionim promenama fiziološki prisutnih priona.

Postavlja se pitanje: - Kako nastaju prioni? Najjednostavniji model za pretvaranje PrP^C u PrP^{Sc} može se objasniti na sledeći način: nakon infekcije, PrP^{Sc} sa PrP^C gradi jedan heterodimer u ćeliji, pri čemu se PrP^C pretvara u PrP^{Sc}. Sada dva postojeća PrP^{Sc} molekula grade heterodimere sa dva PrP^C molekula, pri čemu nastaju dva PrP^{Sc} molekula²⁵. Ova konverzija tercijarne strukture PrP^C u PrP^{Sc} vodi u kaskadu, sa eksponencijalnim umnožavanjem. Konverzija se obavlja savijanjem uz pomoć proteina nazvanog "chaperone". Prema "proteinskoj hipotezi" infekcija prionima i kaskadno pretvaranje PrP^C proteina u PrP^{Sc} može se odigrati samo ako ćelija poseduje PrP^C protein. U eksperimentalnim uslovima miševi koji nemaju PrP^C gen ne mogu se inficirati PrP^{Sc} genom.

Prema mišljenju Axelrada²⁶ PrP je komponenta nervnih ćelija i limfocita, a savijanje njegovog proteina je posledica autoimune reakcije. Organofosfatni pesticidi iniciraju autoimunu reakciju, pri čemu dolazi do odvajanja fosfatidilinozitolnog glikolipida PrP proteina. Tada se antitela vezuju za ovako oslobođeni PrP. Kod nekih osoba dolazi do mutacije kodona 129 i metionin-valin supstitucije, što predstavlja mehanizam samoodbrane, a pri tom nastaje savijanje PrP proteina u oblik koji je rezistentan na proteaze. Taj savijeni oblik PrP karakterističan je za transmisivnu spongiformnu encefalopatiju. Povećano stvaranje PrP dovodi do mehanizma pozitivne povratne sprege i ima za rezultat nastanak simptoma lezije mozga.

Istraživanjima na miševima dokazano je da se PrP^{Sc} vezuje za PrP^C koji je po primarnoj strukturi identičan. Takođe, sa prenošenjem priona s jedne na drugu vrstu eksperimentalnih životinja dolazi do produženja vremena inkubacije. Druga pasaža unutar nove vrste ima uobičajeno vreme inkubacije.

Specijes barijera je centralno mesto u diskusiji o mogućnostima prenosa BSE na ljude. Direktni prenos SB sa ovce na čoveka nije moguć. Specijes barijera između ovce i čoveka suviše je velika da bi se ostvarila interakcija između ovčijeg PrP^{Sc} i humanog PrP^C. Upoređivanjem primarne sekvence ovčijeg i humanog PrP^C dokazane su razlike u 25 aminokiselina. Struktura bovinog PrP^C razlikuje se od humanog u 30 aminokiselinskih sekvenci. Takođe, i protein koji omogućava pretvaranje PrP^C u PrP^{Sc} savijanjem (chaperon) specifičan je za vrstu. Analogno barijeri ovca-čovek, postoji i barijera između goveda i čoveka. Međutim, iako veoma teško, prenošenje bolesti sa goveda na čoveka ipak je moguće.

Ako se eksperimentalni miševi inficiraju humanim CJD, posle inkubacije od jedne godine dolazi do nastanka bolesti iako između mišjeg i humanog PrP^C postoji razlika u 28 aminokiselina.

Miševi sa ekspresijom humanog PrP^C gena mogu biti inficirani sa BSE. Ali, kod miševa nije dokazano pretvaranje

humanog već sopstvenog, endogenog PrP^C u PrP^{Sc}. To ukazuje da je specijes barijera između miša i govečeta manja nego između govečeta i čoveka. U ovim istraživanjima nije analizirana specijes specifičnost chaperona.

Celularna izoforma prionskog proteina je mali glikoprotein koji se nalazi na spoljnoj površini plazmatske membrane za koju je pričvršćen glikozilfosfatidilinozitolom²⁷.

Filogenetskom analizom 32 PrP sekvence i izučavanjem najverovatnijeg evolucionog spektruma amino-kiselinskih susptitucija, Kuznetsov i sar.²⁸ konstatuju da konformacione promene prionskog proteina nastaju kao posledica lezije (uništenja) alfa heliksa i beta-strukture priona.

Nedavni eksperimenti dokazuju da se BSE prenosi i na neke vrste majmuna²⁹. Neurološke promene obolelih životinja pokazuju sličnost sa novom varijantom CJD (vCJD), od koje obolevaju mlađe osobe.

Da bi se postavila dijagnoza CJD, moraju biti ispunjeni sledeći kriterijumi:

1. siguran dokaz postojanja PrP^{Sc},
2. dokaz progresivne demencije i tipičnih EEG promena, kao i najmanje dva od sledeća četiri simptoma:
 - a) mioklonusi,
 - b) vizualni ili cerebelarni simptomi,
 - c) piramidalni/ekstrapiramidalni poremećaji
 - d) akinetički mutizam.

Pre nekoliko godina postavljeno je pitanje na koje još uvek nema odgovora: -Da li postoji mogućnost prenošenja sporadične CJD s jedne na drugu osobu? Naime, Brown i sar.³⁰ su izvestili o smrti muškarca starog 53 godine koji je umro od sporadične CJD posle 18 meseci bolovanja. Četiri i po godine kasnije, umrla je njegova supruga posle kliničkog toka bolesti od mesec dana. Oboje su imali tipične kliničke i neuropatološke manifestacije bolesti, a patognomonični proteinaza-rezistentni amiloidni protein ("prion" protein - PrP) bio je identifikovan u uzorcima oba mozga. Niko od njih nije imao porodičnu anamnezu neuroloških bolesti, a molekulsko-genetska analiza njihovih PrP proteina bila je normalna. Takođe, nije bio utvrđen medicinski, hirurški niti dijetalni faktor koji je prethodio i koji je mogao biti povezan sa nastankom CJD.

Nasledne i sporadične bolesti izazvane prionima

Kod infektivnih bolesti izazvanih prionima patogeni PrP^{Sc} se dobija inokulacijom. Ovo ne važi za familijarne nasledne i sporadične forme spongiformne encefalopatije. Postavlja se pitanje kako kod njih dolazi do formiranja inicijalnog PrP^{Sc}. Analizom sekvenci PrP^C gena kod normalnih i aficiranih familija, dokazano je postojanje mutacija³¹. Do danas je poznato 18 različitih mutacija PrP^C gena, a za pet mutacija dokazana je udruženost sa familijarnim prionskim bolestima. Mutacije uglavnom dovode do destabilizacije proteinskog heliksa: mutantni PrP^C postaje nestabilan i ispoljava tendenciju

da se spontano, savijanjem, pretvori u PrP^{Sc} (slika 1b). Ovako stvoreni PrP^{Sc}, isto kao i infekcijom inokulisani, kod pacijenata dovodi do kaskadne konverzije PrP^C u PrP^{Sc}.

Terapija

Do danas nema mogućnosti uspešnog lečenja obolelih pacijenata^{6,32}. Na animalnom modelu moguće je primenom različitih polianjona produžiti vreme inkubacije i poboljšati stopu preživljavanja^{2,33}.

Perspektive

Iako "protein-only" hipoteza za prenošenje, nasleđivanje i sporadično nastajanje neurodegenerativne bolesti objašnjava

skoro sve analizirane fenomene, ona se ne može potpuno prihvatiti. Prema "virusnoj hipotezi" teoretski je moguće da infektivni agens nastaje kodiranjem PrP^{Sc} ćelije domaćina iz nukleinske kiseline specifične za "bolest česanja"⁶.

Prion se sastoji samo iz PrP^{Sc}. Još jedan jak argument za "protein-only" teoriju je činjenica da PrP^C protein u ekstracelularnim uslovima u prisustvu ekstrakta SB prelazi u PrP^{Sc}. Danas su aktuelne mogućnosti prevencije infekcije u humanoju populaciji, eliminisanjem animalnih materija koje su inficirane sa SB i BSE. U budućnosti će biti moguće smanjiti incidenciju spongiformnih encefalopatija indukovanih prionima, kao i morbiditet i mortalitet od bolesti prouzrokovanih prionima.

Prions

Milan Terzić¹
Sanja Maricic²
Bojan Stimec³
Milan Savic⁴
Vladimir Kostic⁵

¹ Institute of Ob/Gyn, Clinical Center of Serbia, Belgrade

² Public Health Center "Savski Venac", Belgrade

³ Institut for Anatomy, School of Medicine, University of Belgrade

⁴ Special hospital for cerebro-vascular diseases "St. Sava", Belgrade

⁵ Institute of Neurology, Clinical Center of Serbia, Belgrade

Key words

Prions
Creutzfeldt-Jakob disease (CJD)
Gerstmann-Straussler-Scheinker (GSS) disease
Fatal familial insomnia (FFI)

Abstract

This review article evaluates a new disease caused by novel pathogens termed prions. Unlike classical infectious agents such as viruses or bacteria, prions lack an independent genome and consist largely if not entirely of an abnormal form of the host-encoded prion protein. Prion diseases are rare progressive neurodegenerative and transmissible diseases affecting humans and mammals.

The human prion diseases are fatal neurodegenerative maladies that may present as sporadic, genetic, or infectious illnesses. The sporadic form is called Creutzfeldt-Jakob disease (CJD) while the inherited disorders are called familial (f) CJD, Gerstmann-Straussler-Scheinker (GSS) disease and fatal familial insomnia (FFI). Prions are transmissible particles that are devoid of nucleic acid and seem to be composed exclusively of a modified protein (PrP^{Sc}). The normal, cellular PrP (PrP^C) is converted into PrP^{Sc} through a posttranslational process during which it acquires a high beta-sheet content. In fCJD, GSS, and FFI, mutations in the PrP gene located on the short arm of chromosome 20 are the cause of disease. Therefore, prion diseases are disorders of protein conformation. Despite decades of research, much intensified in recent years, prion diseases have remained enigmatic in many aspects. Among these, the intricate connection between infectivity and genetics, genotype-phenotype correlation, and pathogenesis of brain damage are major problems in need of clarification.

Literatura

1. Radbauer C, Hainfellner JA, Jellinger K, Pilz P, Maier H, Kleinert R, Budka H. *Epidemiology of transmissible spongiform encephalopathies (prion diseases) in Austria*. Wien Med Wochenschr 1998;148:101-6.
2. Blattler T. *Transmission of prion disease*. APMIS 2002;110:71-78.
3. Poser CM. *Notes on the history of the prion diseases*. Part I. Clin Neurol Neurosurg 2002;104:1-9.
4. Hansen NJ. *Prion diseases (transmissible spongiform encephalopathies): a review*. Endoscopy 1997;29:584-92.
5. Van der Valk P. *Prion diseases: what will be next?* J Clin Pathol 1998;51:265-9.
6. Dalsgaard NJ. *Prion diseases. An overview*. APMIS 2002; 110: 3-13.
7. Pedersen NS, Smith E. *Prion diseases: epidemiology in man*. APMIS 2002;110:14-22.
8. Kondo K. *The prion diseases*. Hokkaido Igaku Zasshi 1997;72:27-36.
9. Raeber AJ, Klein MA, Frigg R, Brandner S, Blättler T, Aguzzi A. *Significance of prion protein in transmission of prions and in pathogenesis of spongiform encephalopathies*. Wien Med Wochenschr 1998;148:74-7.
10. Weber DJ, Rutala WA. *Managing the risk of nosocomial transmission of prion diseases*. Curr Opin Infect Dis 2002;15: 421-5.
11. Benitez Bribiesca L. *Infectious proteins or prions. A new mechanism of disease*. Gac Med Mex 1998;134:107-9.
12. Olson WP. *Prions: a review, theories, and proposals*. PDA J Pharm Sci Technol 1998; 52: 134-146.
13. Prusiner SB. *The prion diseases*. Brain Pathol 1998; 8: 499-513.
14. McLean CA, Ironside JW, Alpers MP, Brown PW, Cervenakova L, Anderson RM, Masters CL. *Comparative neuropathology of Kuru with the new variant of Creutzfeldt-Jakob disease: evidence for strain of agent predominating over genotype of host*. Brain Pathol 1998; 8: 429-37.
15. Olds GR. *Kuru and mad cow disease: understanding the prion theory*. Cleve Clin J Med 1998; 65:291-6.
16. Mehta JS, Franks WA. *The sclera, the prion, and the ophthalmologist*. Br J Ophthalmol 2002; 86: 587-92.
17. Dickmeiss E, Gerstoft J. *Blood infectivity in transmissible spongiform encephalopathies*. APMIS 2002; 110: 99-103.
18. Leiss O, Beilenhoff U, Bader L, Jung M, Exner M. *Reprocessing of flexible endoscopes and endoscopic accessories - an international comparison of guidelines*. Z Gastroenterol 2002; 40: 531-542.
19. Lupi O. *Prions in dermatology*. J Am Acad Dermatol 2002;46:790-3.
20. Fishbein L. *Transmissible spongiform encephalopathies, hypotheses and food safety: an overview*. Sci Total Environ 1998; 217:71-82.
21. Sande R, Tysnes OB. *A new variant of Creutzfeldt-Jakob disease. Do we want development of a new epidemic?* Tidsskr Nor Laegeforen 1997;117:384-8.
22. Dorandeu A, Wingertsman L, Chrétien F, Delisle MB, Vital C, Parchi P, Montagna P, Lugaresi E, Ironside JW, Budka H, Gambetti P, Gray F. *Neuronal apoptosis in fatal familial insomnia*. Brain Pathol 1998;8:531-7.
23. Lugaresi E, Tobler I, Gambetti P, Montagna P. *The pathophysiology of fatal familial insomnia*. Brain Pathol 1998;8:521-26.
24. Parchi P, Petersen RB, Chen SG, Autilio-Gambetti L, Capellari S, Monari L, Cortelli P, Montagna P, Lugaresi E, Gambetti P. *Molecular pathology of fatal familial insomnia*. Brain Pathol 1998;8:539-48.
25. Aguzzi A, Weissmann C. *Spongiform encephalopathies. The prion's perplexing persistence (news; comment)*. Nature 1998;392:763-4.
26. Axelrad J. *An autoimmune response causes transmissible spongiform encephalopathies*. Med Hypotheses 1998;50:259-64.
27. Dodelet VC, Cashman NR. *Prion protein expression in human leukocyte differentiation*. Blood 1998;91:1556-61.
28. Kuznetsov IB, Morozov PS, Matushkin IuG. *Alpha-helix retention in prion proteins*. Genetika 1998;34:183-9.
29. Kretschmar H. *Transmissible spongiform encephalopathies (prion diseases)-molecular principles and in vitro models*. Wien Med Wochenschr 1998;148:67-73.
30. Brown P, Cervenakova L, McShane L, Goldfarb LG, Bishop K, Bastian F, Kirkpatrick J, Piccardo P, Ghetti B, Gajdusek DC. *Creutzfeldt-Jakob disease in a husband and wife*. Neurology 1998;50:684-8.
31. Vereshchagin NV, Zavalishin IA, Roikhel VM, Zhuchenko TD, Shitikova IE. *Prions and neurodegenerative human diseases*. Klin Med (Mosk) 1998;76:4-7.
32. Krakauer DC, Zanotto PM, Pagel M. *Prion's progress: patterns and rates of molecular evolution in relation to spongiform disease*. J Mol Evol 1998;47:133-145.
33. Riek R, Wider G, Billeter M, Hornemann S, Glockshuber R, Wüthrich K. *Prion protein NMR structure and familial human spongiform encephalopathies*. Proc Natl Acad Sci USA 1998;95: 11667-72.