بررسی عوامل عفونی پریون و نقش بیماری‌زایی آنها در انسان و دام

دکتر بهروز قابوسی: موسسه تحقیقاتی رازی

چکیده

پریون‌ها عوامل عفونی هستند که از نظر ساختمان و نوع بیماری که ایجاد می‌کنند با عوامل متعارف بیماری‌زای دیگر، مانند باکتری، قارچ انگل، ویروس و ویروئیدها تفاوت زیادی دارند و سبب بروز بیماریهای قابل انتقال و ژنتیکی در انسان و دام می‌شوند. عامل مولد این دسته از بیماریها به طور عمده از یک نوع پروتئین مقاوم به هضم تشکیل شده است، یا به عبارت دیگر حالت تغییر شکل یافته پروتئین داخل سلولهای عصبی میزبان می‌باشند. محل تکثیر پریون‌ها در سیستم عصبی مرکزی (CNS) پستانداران می‌باشد از این جهت سبب اثر دژنرسانس سلولهای عصبی و در نهایت مرگ آنها می‌گردند. بیماریهای مهمی مانند اسکرپی و آنسفالوپاتی اسفنجی شکل گاوان (BSE) در حیوانات و بیماریهای انسانی مانند کروتزفلت جاکوب و GSS در این گروه قرار دارند.

پریون‌ها قابل انتقال به حیوانات آزمایشگاهی بوده و در اثر تزریق آنها از راه داخل مغزی، بیماری شبیه به میزبان اصلی ایجاد می‌کنند.

مقدمه

پس از شیوع بیماری آنسفالوپاتی اسفنجی شکل گاوان در خلال سالهای ۱۹۸۷ الی ۱۹۹۰ در کشور انگلستان و احتمال انتقال بیماری به انسان پس از مصرف گوشت گاوهای آلوده، اهمیت این گروه جدید از بیماریهای عفونی در انسان و دام شدت بیشتری پیدا کرد، به طوری که در حال حاضر افراد بی‌شماری در این کشور و یا در نقاط دیگر جهان سرگرم مطالعه و بررسی ماهیت عامل مولد این دسته از بیماریها می‌باشند.

در کشور ما هنوز مورد تأیید شده‌ای از آنسفالوپاتی‌های اسفنجی شکل در حیوانات گزارش نشده است. ولی اگر در آینده چنین موردی مشاهده گردد، قطعاً به وسیله دامهای وارداتی وارد کشور شده است. در انسان تا کنون مواردی مشابه دام دیده نشده و شاید علت آن تشابه زیاد علائم بالینی آنها با بیماریهای مشابه عصبی و غیرعفونی دیگر می‌باشد.

مقاله ذیل حاصل آخرین تحقیقات و بررسیهایی می‌باشد که بیشتر در مورد عامل مولد این دسته از بیماریها تا پایان سال ۱۹۹۲ در دنیا گزارش گردیده است.

آنسفالوپاتی‌های اسفنجی شکل تحت حاد[1]

یک سری از بیماریهای سیستم اعصاب مرکزی انسان و حیوانات که عفونی می‌باشند به علت دارا بودن خواص غیرعادی و نامتعارف از دیگر بیماریهای عفونی کاملاً متمایز می‌باشند. عامل مولد این دسته از بیماریها باکتری، قارچ، انگل و ویروس نبوده و به دلیل داشتن ساختمان متفاوت و نوع بیماری ایجاد شده، با انواع دیگر عوامل بیماری‌زا کاملاً تفاوت دارند. به طوری که امروزه این دسته از عوامل عفونی را به طور جداگانه و تحت گروه مشخصی تقسیم‌بندی نموده‌اند (۱۸). تا به حال مجموعاً ۸ بیماری در انسان و حیوانات به وسیله عوامل عفونی غیرعادی تشخیص داده شده که همه آنها در حیوانات آزمایشگاهی پس از تزریق بیماری مشابه‌ای را ایجاد می‌نمایند.

تمام بیماریهای ذکر شده در جدول ۱ دارای علائم مشترکی می‌باشند که به ترتیب ذکر می‌گردد.

۱- در این بیماریها تب وجود ندارد.

۲- پاسخ ایمنی بدن میزبان، (ایمنی سلولی[2] و هومورال[3]) منفی است، به عبارت دیگر بعلت فقدان پادتن هیچ نوع روش سرولوژیکی برای تشخیص اینگونه بیماریها وجود ندارد. همچنین سلولهای مختلف بدن انترفرون[4] ترشح نمی‌کنند (۱۵).

۳- ضایعات حاصله از بیماری محدود به سیستم اعصاب مرکزی (CNS) بوده و شامل دژنرسانس و واکوئله شدن سلولهای عصبی و در نهایت مرگ آنها است (۱۸ - ۱۳).

۴- بیماری پیش رونده بوده و خیلی آهسته منجر به مرگ می‌شود لذا بهبودی وجود ندارد (۱۸).

۵- طول دورهٔ کمون بیماری در شرایط طبیعی از چند سال تا ۱۵ سال متغیر می‌باشد (۱۸).

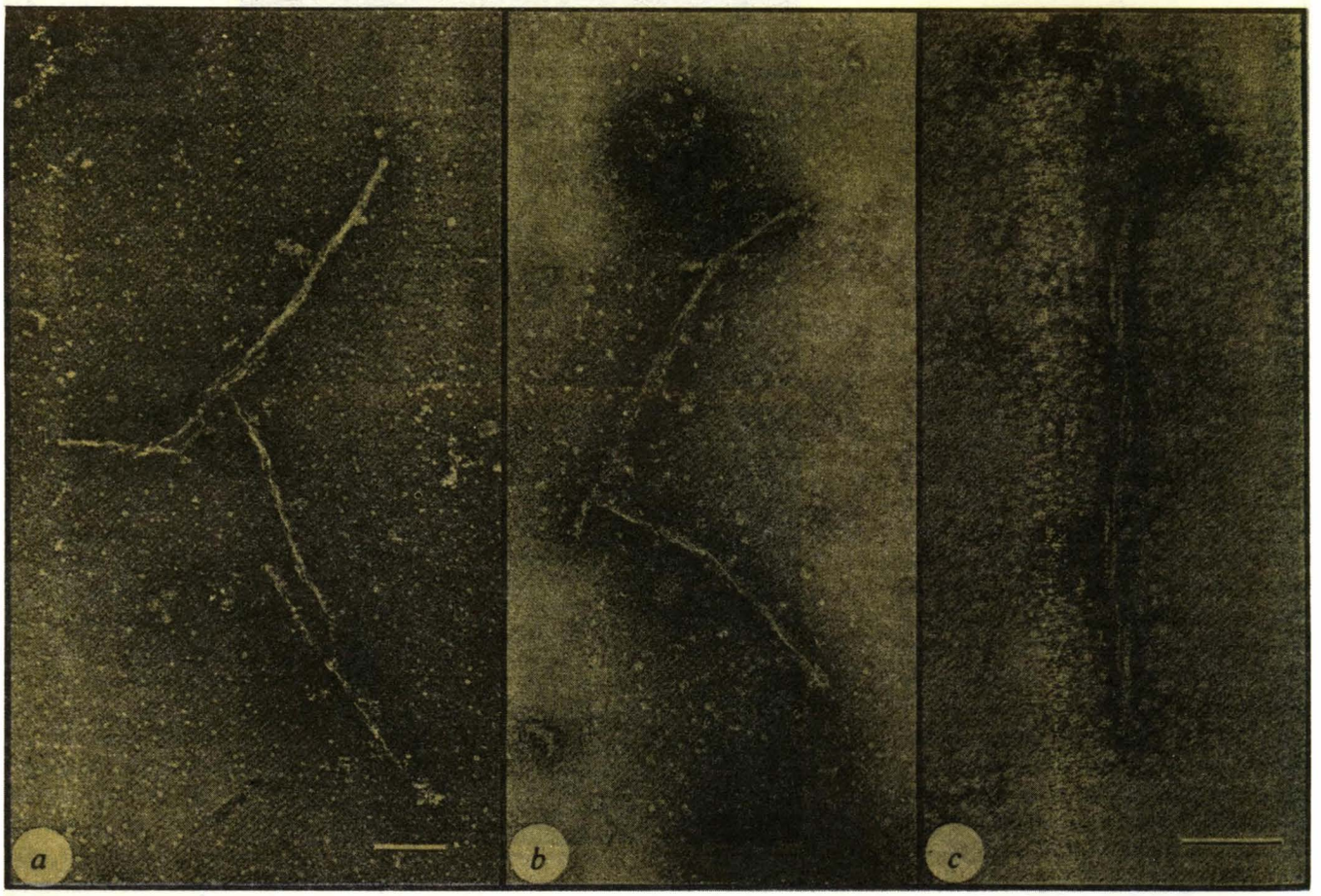
سبب شناسی

عامل مولد این دسته از بیماریها دارای خصوصیات غیرعادی و نامتعارفی است که در مقام مقایسه با سایر عوامل بیماری‌زای شناخته شده در طبیعت تفاوت زیادی نشان می‌دهند که به طور خلاصه ذکر می‌گردد.

- مطالعه با میکروسکوپ الکترونی از مغز حیوانات آلوده به بیماری اسکرپی با غلظت ID/50 ۱۰۸- ۱۰۷ در یک میلی‌لیتر، هیچ نوع ساختمانی شبیه به ویریون را نشان نمی‌دهد. همچنین با روشهای تشخیص دقیق نیز هیچ نوع اسید نوکلئیکی در ساختمان آنها دیده نشده است.
- اتر، کلروفرم و اسید فنیک تا ۱۳ روز در حرارت ۳۷ درجه روی آنها اثری ندارند.
- فرمالین ۲۰ درصد سبب غیرفعال شدن آنها نمی‌گردد.
- یخ‌زدن و آب کردن[5] مکرر روی آنها بی‌اثر است.
- اشعه ماوراء بنفش و سایر اشعه‌های یونزا اثر زیادی روی این عوامل ندارند، بنابراین چنین تصور می‌شود که عوامل فوق فاقد اسید نوکلئیک باشند.
- جوشاندن حدت آنها را کاسته ولی از بین نمی‌برد و حرارت مرطوب ۱۰۰ درجه سانتیگراد را تا ۴۸ ساعت تحمل می‌کند.
- حرارت خشک ۱۶۰ درجه سانتیگراد به مدت ۲۴ ساعت بر روی آنها بی‌اثر است.
- بتاپروپیولاکتون بر خلاف ویروسها موجب غیرفعال شدن آنها نمی‌شود.
- در حرارت ۱۲۶ درجه سانتیگراد و فشار ۲۰ پوند در مدت ۴۵ دقیقه غیرفعال می‌شوند.
- مواد سفید کننده خانگی و درجه‌های قوی مثل سدیم دودسیل سولفات (SDS) و هیپوکلریت سدیم سبب غیرفعال شدن آنها می‌گردد (۳ و ۱۶). مهمترین روش برای از بین بردن این عوامل استفاده از اتوکلاو با حرارت ۱۳۲ درجه سانتیگراد و فشار ۲۷ پوند می‌باشد.

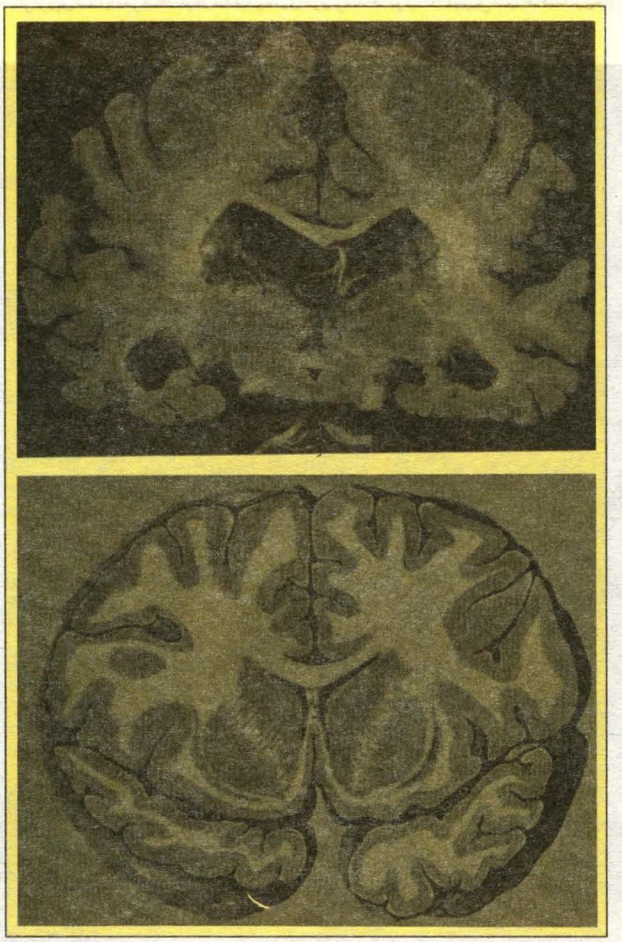
در مورد ماهیت عامل مولد این دسته از بیماریها مطالعات گسترده‌ای انجام گرفته است. تا چند سال قبل اکثر دانشمندان تصور می‌کردند که ویروئیدها سبب بروز آنسفالوپاتی اسفنجی شکل در انسان و دام می‌شوند در صورتی که امروزه ثابت شده که ویروئیدها فقط سبب بیماری در گیاهان شده و در پستانداران بیماری‌زا نیستند. ساختمان ویروئیدها از RNA آزاد تک رشته‌ای به صورت حلقوی تشکیل شده که در مقابل آنزیم RNase مقاوم می‌باشد و وزن ملکولی آن KD ۱۳۰ بوده و شامل ۲۴۰ تا ۳۶۰ نوکلئوتید است (۱۸). پس از رد شدن ویروئیدها به عنوان عامل مولد آنسفالوپاتی اسفنجی شکل در انسان و دام، Stanley B.Prusiner استاد نورولوژی، بیوشیمی و بیوفیزیک دانشگاه کالیفرنیا در سال ۱۹۸۲ کلمه پریون[7] را ابداع کرد که معنی آن ذره عفونی پروتئینی[8] است. ایشان عقیده دارند که عامل مولد این دسته از بیماریها در حقیقت یک پروتئین است که تغییر شکل داده و در برابر آنزیم‌های هضم کننده پروتئینی[9] مقاوم است. وزن

شکل ۱- تصویر میکروسکوپ الکترونی از a- فیبریل‌های مشاهده شده در مغز هامستر تزریق شده با مغز انسان مبتلا شده به بیماری کروتزفلد جاکوب b- فیبریل‌های حاصله از بیماری کروتزفلد جاکوب در مغز انسان c- فیبریل‌های مشاهده شده در مغز گوسفند مبتلا شده به بیماری اسکرپی



ملکولی این پروتئین KD ۳۵-۳۳ می‌باشد که فاقد اسید نوکلئیک است (۱۸ و ۱)، چنانچه گفته فوق صحت داشته باشد باید قبول کرد که این اولین بار است که یک پروتئین بدون داشتن اسید نوکلئیک می‌تواند در پستانداران ایجاد بیماری کند.

روش بررسی برای پی‌بردن به ماهیت عامل مولد این گروه از بیماریها به طور خلاصه به شکل زیر بوده است. از مغز گوسفندهای مبتلا به بیماری اسکرپی برداشت و به یک نوع هامستر [۱۰] از طریق داخل مغزی با رقت 10^{7} ID/50 تزریق گردید. علت انتخاب این نوع هامستر به این خاطر بود که دورهٔ کمون بیماری در این حیوان آزمایشگاهی به ندرت از چند ماه تجاوز می‌کند. پس از ظهور علائم بیماری در هامستر، مغز آنها را بیرون آورده و پس از هموژنیزه کردن، با دور کم سانتریفوژ نموده و رسوب حاصله را با کمک آنزیم‌های مختلف هضم کرده و سپس آنرا روی گرادینت ساکاروز [۱۱] بین رقت‌های ۶۰-۲۵ درصد برده و در اولتراسانتریفوژ با دور ۵۰/۰۰۰ قرار داده و مشخص می‌گردد که بیش از ۵۰ درصد از پروتئین‌های آلوده کننده در نزدیکی انتهای لوله قرار دارند (۱۰، ۷، ۶)، به عبارت دیگر حداکثر در قسمت شماره ۲، در حالی که اکثر پروتئین‌های اضافه شده حاصله از مغز هامستر در قسمت بالای لوله باقی مانده است. آزمایشات تکمیلی با کمک الکتروفورز با پلی‌اکریلامید [۱۲] و ید رادیواکتیو نشان داد که این پروتئین نقش اساسی را در ایجاد بیماری به عهده دارد و وزن ملکولی آن KD ۳۰-۲۷ است. همین عمل با استفاده از مغز هامسترهای سالم و غیربیمار انجام شد و معلوم گردید که در آنها این نوع پروتئین وجود ندارد، بنابراین پروتئین مشتق شده از عامل بیماری و وزن ملکولی آن شناسائی گردید. جالب این است که در صورت تزریق پروتئین به دست آمده از تغلیظ مغز هامستر آلوده به عامل اسکرپی به هامستر سالم عوارض بیماری دوباره ظاهر می‌گردد. ساختمان این پروتئین به شکلی است که به وسیله آنزیم‌های هضم کننده پروتئین قابل هضم نیست از این رو به آن پروتئین مقاوم به پروتئاز [۱۳] یا PRP گفته می‌شود که در ارتباط مستقیم با عامل بیماری است (۱۷،۱۱،۵،۲). از رسوب باقیمانده در ته لوله تغلیظ با ساکاروز امتحان به عمل آمده و پس از رنگ‌آمیزی منفی و مشاهده با میکروسکوپ الکترونی رشته‌های پروتئین به نام فیبریل یا رشته‌های پریونی [۱۴] مشاهده می‌شود که شبیه به فیبریل‌های حاصله از تغلیظ مغز گوسفند مبتلا به اسکرپی است. این رشته‌های پروتئینی به صورت میله‌ای بوده و از دو رشته به صورت مارپیچ به هم بافته تشکیل شده‌اند که قطر هر یک ۶nm-۴ است (۸، ۱۲، ۱۴، ۱۸). طی یک بررسی از ۱۴۴ مغز گاوهای مبتلا به BSE در انگلستان در ۶۶ مورد فیبریل دیده شد و در بقیه مشاهده نگردید بنابراین این رشته‌های پروتئینی در تمام موارد بیماری دیده نمی‌شوند، از این جهت دو نظریه وجود دارد. عده‌ای عقیده دارند که در حقیقت خود این فیبریل‌ها عامل بیماری بوده و عفونت به وسیله آنها انتقال پیدا می‌کند و در اثر تجمع آنها در بیرون سلولهای عصبی پلاک آمیلوئید [۱۵] به وجود می‌آید (۱۲، ۸). بر عکس عده‌ای دیگر معتقدند که در اثر هضم پلاک‌های آمیلوئید ضمن مراحل مختلف تغلیظ عامل بیماری، مقداری پروتئین به صورت رشته درمی‌آید که ربطی به عامل بیماری ندارد و یا به عبارت دیگر این فیبریل‌ها محصول فرعی و یا حاصل دستکاری [۱۶] طی مراحل مختلف تغلیظ عامل بیماری است (۱۸). بنابراین وجود یا



شکل ۲- در قسمت پائین مقطع مغز انسان طبیعی مشاهده می‌شود. در قسمت بالا مقطع مغز انسان فوت شده در اثر بیماری کروتزفلد جاکوب دیده می‌شود. تحلیل وکاهش حجم مغز و باز شدن چین‌خوردگی‌ها در اثر مرگ سلولهای عصبی مشهوداست.

عدم فیبریل دلیل بر بیماری نیست بلکه وجود پروتئین PRP علت اساسی بیماری می‌باشد.

سپس نوع دیگری از پروتئین PRP که حساس به عمل هضم می‌باشد کشف گردید که PRP^c نام نهاده شد، وزن ملکولی پروتئین فوق KD ۳۵-۳۳ بوده و ربطی به بیماری ندارد. این پروتئین به طور طبیعی در سلولهای عصبی ساخته می‌شود ولی نقش آن در متابولیسم سلول روشن نیست. پروتئین PRP 27-30 از پروتئین PRP^{sc} که در ارتباط با عامل بیماری است مشتق شده و یا عصاره پروتئین فوق است. به طور کلی می‌توان گفت که پروتئین PRP^{sc} حالت ایزوفرم[۱۷] و تغییر شکل یافته پروتئین PRP^c است که به طور طبیعی در سلولهای عصبی ساخته شده و از راه واکوئل‌های این سلولها به بیرون دفع می‌شود در حالی که PRP^{sc} پس از ساخته شدن در درون سلول عصبی باقی مانده و همین عمل سبب مرگ آنها می‌شود. بنابراین بیماریهای پریونی در اثر تبدیل PRP^c به PRP^{sc} به طور خود به خود و یا به وسیله عامل عفونی دیگری به وجود می‌آیند (۱۸).

آیا در ساختمان پریون غیراز پروتئین PRP^{sc} چیز دیگری وجود دارد یا نه تا به حال معلوم نشده است. قاعدتاً می‌بایستی اسید نوکلئیک وجود داشته باشد که علی‌رغم تمام کوشش‌های به عمل آمده اسید نوکلئیک به هیچ شکلی یافت نشده است. تنها مقداری اسیدهای چرب و مواد معدنی و یا الیگوسا کاریدها مشاهده شده است.

تقسیم پریون

مکانیسمی که موجب افزایش و تکثیر پریون میزبان می‌شود بدرستی روشن نیست. اگر چنانچه در داخل پریون مقدار کمی پلی‌نوکلئوتید[۱۸] وجود داشته باشد، روش تقسیم آن شبیه به ویروس‌ها خواهد بود ولی اگر وجود نداشته باشد مکانیسم قابل قبول این است که یک ملکول PRP^{sc} وارد شده به بدن یا یک ملکول از prp^c سلول عصبی میزبان ترکیب شده و یک هترودایمر[۱۹] یا ترکیب دو ملکول غیر همگن را به وجود می‌آورد و سپس دو ملکول PRP^{sc} ایجاد می‌گردد و این عمل به صورت مداوم ادامه پیدا می‌کند (۱۸).

انتقال عامل بیماری

طی بررسیهای متعدد روشن شده که در مورد انتقال عامل بیماریهایی آنسفالوپاتی اسفنجی شکل مسئله نژاد و جنسیت همچنین فصل و غیره نقشی ندارد.

انتقال عمودی و افقی مانند بیماریهای حاصله از باکتریها و ویروسها وجود ندارد. در حالت تجربی انتقال از راه دهان و یا تزریق مواد آلوده به مغز موش و هامستر همیشه موفقیت‌آمیز بوده است. در حالت طبیعی انتقال یا از راه دهان و یا از راه ژنتیکی صورت می‌گیرد. در شکل اول که از راه دهان می‌باشد مواد آلوده پس از ورود از طریق دستگاه گوارش به طحال رسیده و بعد از آن در غدد لنفاوی متمرکز شده و سپس وارد سیستم اعصاب خودکار شده و از راه رشته‌های عصبی خودکار که میزان حرکت آن روزانه در حدود یک میلیمتر است وارد سیستم اعصاب مرکزی شده و بیماری ظاهر می‌شود(۴، ۱۹). در شکل دوم که انتقال از راه ژنتیکی بوده و تقریباً ۱۰ درصد از این نوع بیماریها را شامل می‌شود جهش نقطه‌ای[۲۰] در کودون[۲۱] سازنده ملکول PRP^c سلول عصبی میزبان سبب بروز بیماری می‌گردد. طی بررسیهای انجام شده معلوم گردید که جهش در کودون شماره ۱۰۲ سبب پیدایش بیماری GSS می‌شود به طوری که این جهش در فامیل‌های آمریکائی، انگلیسی، آلمانی، فرانسوی، کانادائی و ایتالیائی دیده شده است. در این حالت اگر از مغز چنین افرادی برداشت شده و به موش ترانس‌ژنیک[۲۲] تزریق شود، دژنرسانس سلولهای عصبی در مغز موش شبیه به بیماری اسکرپی گوسفند پدید می‌آید و این نتایج نشان می‌دهد که جهش و موتاسیون ملکول‌های PRP سبب بروز بیماریهای کروتزفلد جاکوب و GSS می‌شود (۲۰). سالیان متمادی تصور اکثر دانشمندان براین بود که علت بروز بیماری کروتزفلد جاکوب در بین یهودیان ساکن فلسطین اشغالی که از کشور لیبی مهاجرت کرده بودند مصرف مغز و چشم گوسفند می‌باشد و به نظر می‌رسید که این غذای مطابق ذوق این افراد به طور کافی پخته نمی‌شود در نتیجه عوامل عفونی در آن از بین نمی‌رود. ولی امروزه ثابت شد به علت جهش ژن ملکول‌های سازنده PRP^c این افراد بیماری فوق ظاهر شده و به علت ازدواج فامیلی به نسل‌های بعد انتقال پیدا می‌کند. بنابراین بیماریهای پریونی فامیلی در حقیقت یک نوع بیماری ارثی اتوزومال غالب مانند بیماری هانینگتون[۲۳] می‌باشد (۱۸). جهش در کودون شماره ۲۰۰ همچنین در اسلوایک‌های مقیم قسمت‌های مرکزی و شمالی چک واسلواکی دیده شده است در حالی که در این کشور متجاوز از صد سال است که بیماری اسکرپی مشاهده نشده است ولی موارد بیماری کروتزفلد جاکوب به صورت نادر مشاهده می‌گردد. جهش در کودون‌های شماره

جدول شماره ۱: آنسفالوپاتی‌های اسفنجی شکل تحت حاد در انسان و دام

میزبان	نام بیماری
گوسفند	Scrapie
گاو	Bovine spongiform encephalopathy
راسو	Transmissible mink encephalopathy
آهو و گوزن	Wasting disease of captive mule deer and elk
انسان	kuru
	Creutzfleldt jakob disease
	Alzhiemer familial disease
	Gerstmann straussler scheinker syndrome(GSS)

۱۹۸،۱۱۸،۱۷۷ هم به نسل‌های بعد انتقال پیدا می‌کند، مثلاً بیماری آلزایمرفامیلی[۲۴] که در بعضی خانواده‌ها دیده می‌شود در حقیقت یک نوع بیماری پریونی است که ارثی می‌باشد (۱۸).

علائم بیماری

در حیوانات در مورد علائم بیماری پریونی‌مطالعه و بررسی کافی در مورد آنها انجام گرفته است به طوری که نشانه‌های اسکرپی در گوسفند با فلج قسمت خلفی بدن و خارش همراه بوده و آنسفالوپاتی اسفنجی شکل گاو هم شبیه به نوعی دیوانگی و رفتار غیرقابل پیش‌بینی می‌باشد. نشانه‌های بیماریهای پریونی در انسان به طور کلی به ۳ مرحله تقسیم می‌شود، در مرحله اول بیماری خیلی آرام بروز کرده و همراه با فراموشی و اشکال در یافتن واژه‌های مناسب در حین صحبت کردن می‌باشد، در این مرحله بیمار در تشخیص روزهای هفته دچار اشکال می‌شود. بعضی اوقات راه منزل را گم می‌کند و یا اینکه برای رفتن به خانه به اتوبوس دیگری سوار می‌شود. در مرحله دوم لکنت زبان افزایش پیدا کرده و حافظه بیمار درست کار نمی‌کند و حتی در موقع غذاخوردن، قاشق غذاخوری را نمی‌تواند در دست بگیرد، دگمه‌های لباسش را نمی‌تواند ببندد و ترس موهومی هر چند یکبار به سراغش می‌آید. ولی هنوز شعورش را از دست نداده است.

در مرحله سوم که تقریباً ۶ سال بعد آغاز می‌شود بیمار خویشاوندان خود را نمی‌شناسد. حافظه‌اش به کلی پاک شده و از دهانش جز الفاظ گنگ و نامفهوم چیزی بیرون نمی‌آید. در این مرحله بیمار کنترل اعضای بدن خود را از دست می‌دهد و به فلج کامل و بی‌اختیاری می‌رسد و سپس فوت می‌کند (۹، ۱۸).

برای تشخیص بیماری به علت غیرقابل رویت بودن عامل مولد و همچنین فقدان روشهای سرولوژیکی به جهت عدم پاسخ ایمنی بدن میزبان هیچ نوع روش آزمایشگاهی وجود ندارد. از نظر اینکه آنسفالوپاتی‌های اسفنجی شکل انسان به صورت دمانس‌وزوال عقل قبل از کهولت[۲۵] بروز می‌کند با دمانس کهولت که به طور طبیعی در افراد مسن دیده می‌شود قابل اشتباه است (۹). تشخیص قطعی بعد از مرگ و بر روی تخت پزشک قانونی انجام می‌گیرد. در افراد متفوی حجم مغز کاهش پیدا کرده. و به یک سوم اندازه طبیعی می‌رسد. همچنین چین خوردگی‌های مغز زیاد شده‌اند. اکثر سلولهای مغزی مرده و پلاک‌های آمیلوئید در بیرون سلولهای مغز تشکیل شده است (۱۸).

پاورقی

1. Subacute spongiform encephalopathy (SASE).
2. Cell mediated immunity
3. Humoral antibody
4. Interferon
5. Freeze thaw
6. Nucleotide
7. Prion
8. Proteinaceous infectious particle
9. Proteolytic
10. Syrian golden hamster
11. Sucrose gradient density centrifugation
12. Polyacrylamide gel electrophoresis (PAGE)
13. Protease resistant protein (PRP)
14. Fibril, prion rod
15. Amyloid plaque
16. Artifact
17. Isoform
18. Polynucleotide
19. Heterodimer
20. Point mutation
21. Codon
22. Transgenic mice
23. Hunington disease
24. Familial Alzhiemer
25. Presenile progressive dementia

منابع مورد استفاده

1. Bellinger- Kawahara C. etal,1987. Purified scrapic prion resist inactivation by procedures that hydrolyze, modify or shear nucleic acids. Virology 160: 271-274.
2. Bolton, D.C. etal, 1982 Identification of a protein that purifies with the scrapie prion. Science, 218: 1309-1311.
3. Carp, R.I. etal. 1985. Nature of the scrapie agent. current status of fact and hypotheses. J. Gen. Virol. 66; 1357-1368.
4. Dawson, M. etal, 1990. Preliminary evidence of the experimental transmissibility of bovine spongiform encephalopathy to cattle. Vet-Rec. 126(5)-112-113.
5. DeArmond, S.J. etal 1987. Changes in the localization of brain prion proteins during scrapie infection neuropathology. 37:1271-1280.
6. Diringer H.etal (1983) Towards purification of the scrapie agent. Eur. J. Biochem 154:555-560.
7. Dringer, H.etal. 1983. Scrapie infectivity, Fibrils and low molecular weight protein nature, 306, 38. 476-478.
8. Hope, J. etal;1988. Fibrils from brains of cows with new cattle disease contain scrapie associated protein. Nature, 336:390-392.
9. Manuelidis, L., etal, 1989, Creutzfeldt jakob disease and dementias. Microb. pathog. 7:157-164.
10. Marsh RF., etal ,1984. Purification of the scrapie agent by density gradient centrifugation. J. Gen. Virol. 65:415-421.
11. Mckinley, M.P. etal,1983. A protease resistant protein is a structural component of the scrapie prion cell., 35:57-62.
12. Patricia A.etal. 1983. Scrapie associated fibrils in creutzfeldt jakob disease. Wature, 306-476.
13. Prusiner SB,1987. Prions causing degenerative neurological diseases. Annu. Rev. Med. 38:381-398.
14. Rubenstein, R.etal,1987. Detection of scrapie associated fibrils(SAF) and SAF proteins from scrapie affected sheep. J. infect. dis. 156(1):36-42.
15. Scott, A.C. etal. 1990; Bovine spongiform encephalopathy=detection and quantitation fibrils, fibril protein(PRP) and vaculation in brain. Veterinary microbiology. 23,295-304.
16. Sklaviadis T;etal, 1989. Physical properties of the creutzfeldt jakob disease agent. J. Virol. 63:1212-1222.
17. Sklaviadis, T. etal.1990, Nuclease treatment results in high specific purification of creatzfeldt jakob infectivity with adensity characteristic of nucleic acid protein complexes. 1990, Arch. Virol. 112,215-229.
18. Stanley B. prusiner, (1991). molecular biology of prion diseases, science, 252,5012,1515-1521.
19. Taylor, D.M.(1989). Bovine spongiform encephalopathy and human health vet. Rec. 125(16)413-414.
20. Westaway, D.etal(1989). Unraveling prion diseases through molecular genetics. TINS. 12:221-227.