

## DOENÇA PRIÔNICA HUMANA: CORRELAÇÃO ENTRE ACHADOS CLÍNICOS E ANATOMOPATOLÓGICOS DE NECROPSIAS.

Luiza Fadul Gallas,<sup>1</sup> Diogo Lago Morbeck,<sup>2</sup> Aristides Cheto de Queiroz<sup>3</sup>

### RESUMO

**Objetivo:** A doença priônica humana é uma encefalite espongiiforme, cuja condição ainda é pouco explorada dada sua raridade. A forma esporádica (Doença de Creutzfeldt-Jakob) é a mais comum, com suspeita clínica baseada em uma demência rapidamente progressiva, associada a sinais e sintomas neuromusculares. O presente trabalho tem por objetivo comparar os achados macro e microscópicos dos pacientes submetidos a necropsia com os dados clínicos e exames complementares, verificando a frequência e a intensidade desses achados na literatura em relação aos pacientes examinados. **Metodologia:** Foram incluídos no estudo 6 casos necropsiados da doença priônica humana na forma esporádica provenientes do estado da Bahia, com ênfase na avaliação neuropatológica do encéfalo. Os encéfalos foram examinados no serviço de anatomia patológica do Hospital Universitário Professor Edgard Santos (HUPES), com confirmação diagnóstica pela demonstração da proteína PrPsc nos tecidos por estudo imunoistoquímico. **Resultados:** Os resultados exibem idade ao óbito de 38-83 anos, tempo de sobrevivência variando entre 3 e 18 meses, exames de imagem normais em metade dos casos e pesquisa da proteína 14.3.3 no líquido céfaloorraquidiano (LCR) positiva em dois casos. A avaliação macroscópica do encéfalo mostrou graus variáveis de alargamento dos sulcos, com dilatação do sistema ventricular e atrofia cortical com friabilidade tecidual ao lado de atrofia do núcleo caudado. **Conclusão:** A baixa frequência de autópsias de casos de doença priônica em nosso país exalta a extrema importância do presente estudo, o qual procura caracterizar os diversos aspectos clínico-patológicos e correlacioná-los.

**Palavras-chave:** Doença priônica; Doença de Creutzfeldt-Jakob; Proteína PrPsc.

### ABSTRACT

**Objective:** Prion disease is a human spongiform encephalitis still little studied, given its rarity. The sporadic form (Creutzfeldt-Jakob Disease) is the most common, with clinical suspicion based on progressive dementia, and neuromuscular signs and symptoms. The present work aims to compare macroscopic and microscopic findings from necropsy patients with clinical findings and complementary tests, verifying the intensity and frequency of these findings in literature, in relation to the examined patients. **Methods:** Six necropsy cases of human prion disease in sporadic form from the state of Bahia were included in the study, with emphasis on neuropathological evaluation of the brain. Brains were examined at the Pathology Department of the University Hospital Professor Edgard Santos (HUPES) with diagnostic confirmation demonstrated by PrPsc protein immunohistochemical study. **Results:** The results show the age of death between 38-83 years survival rate ranging between 3 and 18 months, normal radiology exams in half of the cases, and the presence of protein 14.3.3 in cerebrospinal fluid in two cases. The gross evaluation of the brain showed variable degrees of enlargement of the grooves, with dilation of the ventricular system and cortical atrophy with tissue friability, along with atrophy of the caudate nucleus. **Conclusion:** The low frequency of prion disease autopsy cases in our country enhances the extreme importance of the present study, which intends to characterize clinical and pathological aspects and correlate them.

**Keywords:** Prion disease; Creutzfeldt-Jakob disease; PrPsc protein.

### INTRODUÇÃO

A doença priônica representa um grupo de condições nosológicas cuja característica comum é a deposição da proteína PrPsc nos tecidos. Esta proteína resulta da mutação da proteína priônica PrPc, a qual normalmente desempenha um papel importante no metabolismo

---

**Autor para correspondência:** Luiza Fadul Gallas - luafadul@hotmail.com

<sup>1</sup> Médica patologista, mestranda em Patologia Humana – Centro de Pesquisas Gonçalo Muniz, FIOCRUZ-BA.

<sup>2</sup> Médico Patologista – Hospital Português da Bahia.

<sup>3</sup> Médico Patologista – Imagepat.

Revista Brasileira de Neurologia e Psiquiatria. 2016 Jan./Abr.;20(1):73-82

<http://www.revneuropsiq.com.br>

do neurônio. Nesta condição o acúmulo da proteína anormal PrPsc é responsável pela disfunção neuronal com perda de sinapses e morte celular cuja tradução histopatológica é a alteração espongiiforme do tecido cerebral, na ausência de qualquer resposta tecidual inflamatória.<sup>(1-3)</sup> Esta alteração compõe uma classe de doenças previamente conhecidas como “encefalite espongiiforme” não relacionadas a infecções virais ou a demências transmissíveis. Estas formas humanas durante algum tempo foram relacionadas a infecção por vírus lentos.<sup>(4-7)</sup>

As formas humanas desta doença são raras, destacando-se: Doença de Creutzfeldt-Jakob(CJD) e suas variantes (vCJD); Doença de Gestmann-Sträussler-Scheiker (GSS); Isomnia Familiar Fatal (FFI) e Kuru. Todas estas entidades possuem em comum o acúmulo de formas anormais de proteínas celulares (proteína priônica), morte neuronal, perda de sinapses, microvacuolação do neurópilo (alteração espongiiforme) e transmissibilidade entre humanos e outros mamíferos.<sup>(9-11)</sup>

O fenótipo mais comum de doença priônica (cerca de 85% dos casos) é forma esporádica ou CJD. Os pacientes apresentam-se com sinais motores súbitos, como ataxia cerebelar severa associados a demência que progride em menos de um ano. Raramente (<5% dos casos) a doença priônica é transmitida de forma adquirida - iatrogênica (CJD iatrogênico) ou canibalismo (Kuru). Aproximadamente 10 a 15% dos casos de DCJ são herdados, estes casos familiares mostram uma mutação no gene que codifica a produção da proteína príon.<sup>(9,12-14)</sup>

A Organização Mundial de Saúde, no documento ‘WHO recommended standards and strategies for surveillance, prevention and control of communicable diseases’ estabeleceu os critérios de diagnóstico neuropatológico das quatro variantes da Doença de Creutzfeldt-Jakob. O diagnóstico definitivo de CJD apenas pode ser estabelecido mediante exame histológico de tecido cerebral obtido por biópsia ou autópsia.<sup>(15)</sup>

## **OBJETIVO**

O presente trabalho tem por objetivo comparar os achados macro e microscópicos dos pacientes submetidos a necrópsia com os dados clínicos e exames complementares, verificando a frequência e a intensidade desses achados na literatura em relação aos pacientes examinados.

## **MATERIAL E MÉTODO**

Foram incluídos no estudo 6 casos da doença priônica humana na forma esporádica com ênfase na avaliação neuropatológica do encéfalo. Todos os casos apresentavam os critérios diagnósticos estabelecidos pela OMS (WHO recommended standards and strategies for surveillance, prevention and control of communicable diseases).

Todos os casos tiveram a demonstração positiva da presença da PrPsc no tecido cerebral em estudo de imunoistoquímica realizado pelo laboratório do Instituto Nacional do Câncer (INCA) como cortesia da Professora Leila Chimelli.

Os encéfalos foram examinados após pelo menos 15 dias de fixação em formol a 10%, sendo submetidos ao exame macroscópico convencional com inspeção das meninges, vasos e córtex superficialmente e em cortes coronais sequenciais com aproximadamente 1cm de espessura, nos quais foram examinadas as substâncias branca, cinzenta e os ventrículos. Os cortes histológicos foram representativos do córtex cerebral, cerebelar com substância branca subjacente, núcleos cinzentos da base do cérebro, tálamo e cerebelo. Em seguida foram processados pela técnica habitual da inclusão em parafina e, após os cortes, corados com hematoxilina e eosina.

Trata-se de um estudo descritivo de uma série de casos, com a correlação entre os dados clínicos, exames complementares, achados do exame da necrópsia e histopatológico.

**Critérios de inclusão:** Pacientes com diagnóstico de doença priônica pelos exames histopatológicos e de imunoistoquímica para comprovação da proteína PrPsc.

**Critérios de exclusão:** Pacientes que não atenderam aos critérios de inclusão.

## **RESULTADOS**

### **SINAIS E SINTOMAS CLÍNICOS**

O estudo envolveu 6 casos necropsiados, de pacientes procedentes do estado da Bahia, cujos encéfalos foram examinados no serviço de Anatomia Patológica do HUPES e confirmados pela demonstração da PrPsc nos tecidos. A análise dos resultados mostrou idade ao óbito variando entre 38 e 83 anos (média = 64 anos) e predomínio no sexo masculino em 5 dos 6 casos. O tempo entre o início dos sintomas e o óbito variou entre 4 e 18 meses (Tabelas 3 e 5).

Todos os pacientes apresentaram quadro de demência rapidamente progressiva (< 1 ano) e disfunção piramidal e/ou extrapiramidal. Mioclonus e/ou coréia estiveram presentes em 4 casos. A ataxia cerebelar foi relatada em 5 casos, e alterações atípicas como alterações neuropsiquiátricas e distúrbio visual em dois casos. Em nenhum dos seis casos houve relato de sintomas sensoriais dolorosos persistentes (Tabela 1).

Tabela 1- sinais e sintomas clínicos

	<b>Demência (tempo em meses)</b>	<b>Alteração neuropsiquiátrica (tempo em meses)</b>	<b>Ataxia</b>	<b>Mioclonus ou coréia</b>	<b>Distúrbio visual</b>	<b>Disfunção piramidal e/ou extrapiramidal</b>
<b>Caso 1</b>	Sim (2)	Não	Sim	***	Não	Sim
<b>Caso 2</b>	Sim (1)	Não	Sim	Sim	Não	Sim
<b>Caso 3</b>	Sim (5)	Não	Não	Sim	Não	Sim
<b>Caso 4</b>	Sim (2)	Sim (2)	Sim	Sim	Sim	Sim
<b>Caso 5</b>	Sim (2)	Não	Sim	Sim	Não	Sim
<b>Caso 6</b>	Sim (8)	Sim (6)	Sim	Não	Sim	Sim

\*\*\*: Sem acesso à informação

## EXAMES COMPLEMENTARES

A sorologia para pesquisa da proteína 14.3.3 no LCR foi realizada em três dos pacientes estudados, sendo positiva em dois casos. O sequenciamento do gene PRPN foi realizado em dois casos que apresentaram sintomas atípicos, sendo ambos negativos. Nenhum dos seis pacientes foi submetido à biópsia em vida. O EEG foi realizado em 3 casos e exibiu padrão sugestivo de CJD em dois deles. Todos os seis casos foram submetidos a exame radiológico de imagem (TC e/ou RNM), sendo que quatro dos seis casos não apresentaram alterações (Tabela 2).

Tabela 2 - Exames complementares

	Exame de imagem	EEG (padrão)	Sorologia para proteína 14.3.3 no LCR	Biópsia (local)	Sequenciamento do gene PRPN
<b>Caso 1</b>	Sem alterações (TC e RNM)	Não realizado	Não realizada	Não realizada	Não realizado
<b>Caso 2</b>	Sem alterações (TC e RNM)	Sim (padrão sugestivo)	Não realizada	Não realizada	Não realizado
<b>Caso 3</b>	Atrofia cerebral difusa, com imagens focais de alto sinal no FLAIR	Sim (padrão sugestivo)	Não realizada	Não realizada	Não realizado
<b>Caso 4</b>	Restrição de perfusão em manto cortical parieto-occipital e tálamo.	Não realizado	Negativa	Não realizada	Negativo
<b>Caso 5</b>	Sem alterações (RNM)	Não realizado	Positiva	Não realizada	Não realizado
<b>Caso 6</b>	Sem alterações (TC)	Sim (sem alterações)	Positiva	Não realizada	Negativo

#### EXAME ENCEFÁLICO PÓS-MORTE

No exame encefálico pós-morte, o padrão macroscópico foi bastante heterogêneo, variando desde encéfalo normal até atrofia cerebral e cerebelar. Os pesos dos encéfalos variaram entre 850 e 1350 gramas. Alterações como alargamento dos sulcos e atrofia dos giros ocorreram em 5 casos. A dilatação do sistema ventricular esteve presente em três casos, sendo que em dois deles havia associação com atrofia do núcleo caudado. O córtex apresentou-se friável em 4 casos (Figura 1). Em um dos casos observou-se adelgaçamento do córtex, sem amolecimento e fragmentação tecidual. Alterações dos vasos da base e/ou meninges ocorreram em dois casos. Um deles exibiu hemorragias subaracnoides em lobos temporal direito, occipital bilateral e parietal bilateral devido a quadro de meningite durante longa estadia em unidade de terapia intensiva; e, o outro, duas pequenas placas de atheroma nos vasos da base (Tabela 3).

Tabela 3 - Exame macroscópico do encéfalo

	Idade	Sexo	Peso (gramas)	Alteração de sulcos e giros	Apresentação do córtex	Ventrículos	Meninges e vasos
<b>Caso 1</b>	71	M	1300	Atrofia severa	Ausente	Dilatação moderada	Sem alterações
<b>Caso 2</b>	38	M	1115	Atrofia severa	Fragmentação severa	Dilatação + atrofia do núcleo caudado	Hemorragias subaracnoides
<b>Caso 3</b>	67	F	850	Atrofia severa	Fragmentação severa	Sem alterações	Sem alterações
<b>Caso 4</b>	68	M	1350	Ausente	Ausente	Sem alterações	Sem alterações
<b>Caso 5</b>	83	M	950	Atrofia moderada	Fragmentação severa	Dilatado à custa de atrofia do núcleo caudado	Sem alterações
<b>Caso 6</b>	59	M	900	Atrofia discreta	Fragmentação moderada	Sem alterações	Placas de ateroma

Na análise microscópica, pesquisou-se a presença das três lesões que caracterizam a entidade: espongirose, perda neuronal e gliose. Os seis casos exibiram pelo menos duas das três alterações em algum grau. No entanto, houve variação na intensidade das lesões entre os casos. As alterações espongiiformes e a perda neuronal estiveram presentes em todos os casos; porém, em dois destes, houve divergência entre a intensidades dos dois achados, com uma intensa perda neuronal e uma discreta alteração espongiiforme em um; e com uma discreta perda neuronal e uma intensa alteração espongiiforme em outro. A gliose variou de intensa a ausente. A ausência de reação inflamatória foi confirmada em todos os casos (Tabela 4).

Tabela 4 - Exame microscópico do encéfalo

	Alterações espongiiformes	Perda neuronal	Gliose astrocitária	Inflamação linfocitária
Caso 1	Intensa	Intensa	Intensa	Ausente
Caso 2	Intensa	Intensa	Intensa	Ausente
Caso 3	Discreta	Intensa	Intensa	Ausente
Caso 4	Intensa	Discreta	Ausente	Ausente
Caso 5	Moderada	Moderada	Moderada	Ausente
Caso 6	Moderada	Moderada	Intensa	Ausente

## DISCUSSÃO

A doença priônica é uma condição que conduz inevitavelmente à morte, com taxa de mortalidade de 100% em todas as variantes. Do início dos sintomas à morte o tempo médio de sobrevivência é de apenas 8 meses, em média. No presente trabalho, esse tempo variou de 4 a 18 meses (Tabela 5).

Esta série de casos exibiu quadros clínicos sugestivos de demência rapidamente progressiva em todos os seis casos estudados, sendo eles a rápida evolução do quadro de apatia, lentificação dos movimentos, dificuldades mnésicas, comprometimento da linguagem e da marcha. Em nenhum dos pacientes houve relato de sinais como febre, cefaleia ou fotofobia no início do quadro. Os resultados são consistentes com os achados clínicos descritos na literatura, e corroboram para o alerta da sua suspeita clínica quando presentes (Tabela 1). As mioclonias fazem parte dos sintomas cardinais para provável diagnóstico de CJD, no entanto ela está presente geralmente nos estágios mais avançados da doença e é rara à apresentação clínica inicial. Este achado foi relatado em quatro dos casos estudados, sendo que em um dos casos o exame macroscópico do cérebro não apresentou alterações (Tabelas 1 e 3). Dois casos exibiram ao exame macroscópico atrofia do núcleo caudado, visualizada também nos exames de imagem, alteração que levantou a suspeita clínica de Coreia de Huntington atípica durante a investigação clínica destes pacientes. A presença destes achados indica que, a despeito de uma boa correlação dos achados clínicos com as lesões encontradas no estudo anatomopatológico, estes sinais não são muito sensíveis para seu diagnóstico. Muitos deles não são expressos em todos os casos, pois o padrão da localização das lesões é bastante heterogêneo, e na maior parte das vezes só são observados no estágio final da doença.

Alguns autores relatam algumas técnicas complementares que são capazes de prever um diagnóstico *in vivo* provável. São elas o eletroencefalograma, ressonância nuclear magnética, biomarcadores do líquido céfalo-raquidiano e sequenciamento do gene PRPN. No geral, a sensibilidade e especificidade destes métodos nas diferentes variantes da patologia são elevadas, de tal modo que eles figuram nos critérios de diagnóstico de CJD estabelecidos pela OMS, associados às manifestações clínicas típicas referidas. Todos os casos estudados foram submetidos posteriormente a alguns destes testes complementares. Em qualquer caso, a tríade de demência, mioclonias e EEG típico deve sugerir ao médico a suspeita de CJD, porém estes achados em conjunto não são comuns, sendo encontrado apenas em metade dos casos estudados (Tabelas 1 e 2). Outra maneira de presumir o diagnóstico de CJD é a positividade

da proteína 14.3.3 no LCR associada à história de demência rapidamente progressiva, e pelo menos dois dos outros achados clínicos pesquisados na Tabela 1. Esta associação foi identificada em dois dos casos estudados. Em caso de negatividade da pesquisa de proteína 14.3.3 no líquido, a literatura relata que é possível detectá-la em outros tecidos e fluidos biológicos, como os tecidos linforreticulares, o sangue e a urina. Desse modo, novas técnicas emergiram como possível meio de rastreio e/ou diagnóstico da doença, como a técnica PMCA (Protein Misfolding Cyclic Amplification) em amostras de sangue e urina, ou a pesquisa de PrPsc em amostras de biópsia amigdalina. São necessários estudos adicionais que permitam aferir com maior precisão a sensibilidade e especificidade da pesquisa de PrPsc no sangue e urina por PMCA, porém, no que diz respeito à biópsia amigdalina, está provada a sua elevada sensibilidade e especificidade no diagnóstico de GSS, não sendo, no entanto, válida para o diagnóstico das outras variantes.

O diagnóstico definitivo da patologia apenas é possível pela observação das alterações espongiiformes e agregados de PrPsc em amostras de tecido cerebral. No presente estudo as amostras foram obtidas no exame de autópsia, sendo positivas nos seis casos. A grande variabilidade da apresentação clínica de CJD e a sua baixa incidência contribuem para que seja uma patologia subdiagnosticada na atualidade. Os erros de diagnóstico podem ser frequentes, pois muitas doenças podem mimetizar CJD. É o caso das demências rapidamente progressivas e da depressão. Estas apresentações atípicas com quadros mais indolentes estão relacionadas à mutação do códon PRNP. Nestes casos, os testes genéticos podem ser realizados com o objetivo de identificar pacientes com risco genético aumentado de desenvolver a doença, e capacitá-los à compreensão do impacto que esse padrão genético pode ter ao longo de suas vidas. Este exame foi solicitado em dois dos pacientes que exibiram apresentação atípica, porém o resultado foi negativo.

Ao comparar os achados anatomopatológicos à sobrevida dos pacientes, observou-se que os casos com alterações espongiiformes severas exibiram uma sobrevida menor que seis meses. Os pacientes com apresentação atípica tiveram em comum uma atrofia cortical discreta ou ausente, associada a uma perda neuronal mais branda. Apenas um destes casos exibiu uma progressão mais lenta de 18 meses, e ambos tiveram predomínio de sintomas psiquiátricos em detrimento à demência e alterações motoras no início do quadro. Os achados macroscópicos não apresentaram uma boa correlação com as lesões microscópicas, sendo que alguns cérebros com fragmentação severa exibiram discreta alteração espongiiforme, e cérebros com alterações espongiiformes severas não apresentaram fragmentação nem alterações de sulcos e

giros. Este dado é um bom indicador para que os médicos patologista que venham a examinar os cérebros com esta suspeita nunca deixem de fazer as representações histológicas de rotina em detrimento dos achados macroscópicos (Tabela 5).

Tabela 5 - Sobrevida e principais achados clínicos-patológicos

	Sobrevida	Lesões macroscópicas*	Lesões microscópicas**	Tipo de apresentação
Caso 1	4	AS/FA	ES/NS/GS	Típica
Caso 2	5	AS/FS	ES/NS/GS	Típica
Caso 3	9	AS/FS	ED/NS/GS	Típica
Caso 4	6	AA/FA	ES/ND/GA	Atípica
Caso 5	7	AM/FS	EM/NM/GM	Típica
Caso 6	18	AD/FM	EM/NM/GM	Atípica

\*Alterações de sulcos e giros ausente (AA); Alterações de sulcos e giros discretas (AD); Alterações de sulcos e giros moderada (AM); Alterações de sulcos e giros severa (AS)/ Fragmentação ausente (FA); Fragmentação discretas (FD); Fragmentação moderada (FM); Fragmentação severa (FS).

\*\* Alterações espongiiformes ausente (EA); Alterações espongiiformes discretas (ED); Alterações espongiiformes moderada (EM); Alterações espongiiformes severa (ES)/ Perda de neurônios ausente (NA); Perda de neurônios discretas (ND); Perda de neurônios moderada (NM); Perda de neurônios severa (NS)/ Gliose astrocitária ausente (GA); Gliose astrocitária discretas (GD); Gliose astrocitária moderada (GM); Gliose astrocitária severa (GS).

## CONCLUSÃO

A baixa frequência de autópsias de casos de doença priônica em nosso país exalta a extrema importância do presente estudo para melhor caracterização da doença em nosso meio. Este trabalho visa a documentar características clínicas, de diagnóstico por imagem, de macroscopia e de microscopia da doença, comparando-os na tentativa de descrever os principais achados que possam deixar os médicos em alerta para possibilidade desta doença auxiliar numa melhor acurácia no diagnóstico. Os achados do estudo demonstram que os padrões macro e microscópicos característicos da doença apresentam variações da intensidade de caso para caso, além de uma heterogeneidade da correlação macro/microscópica e tempo de doença, indicando que o diagnóstico definitivo realmente só é possível com exame histológico e comprovação imunoistoquímica da PrPsc nos tecidos.

## REFERÊNCIAS

1. Ng SBL, Doig AJ. Molecular and chemical basis of prion-related diseases. Chemical Society Reviews. 1997.
2. Wechselberger C, Wurm S, Pfarr W, Hoglinger O. The Physiological Functions of Prion Protein. Experimental Cell Research. 2002.

3. Ma J, Lindquist S. Conversion of PrP to a self-perpetuating PrP<sup>Sc</sup>-like conformation in the cytosol. *Science*. 2002 Novembro: p. 1785-1788.
4. Brown P, Gibbs CJ, Rodgers-Johnson P, Asher DM, Sulima MP, Bacote A, et al. Human spongiform encephalopathy: the National Institutes of Health series of 300 cases of experimentally transmitted disease. *Annals of Neurology*. 1994.
5. Brown P, Brandel JP, Sato T, Nakamura Y, MacKenzie J, Will RG, et al. Iatrogenic Creutzfeldt-Jakob Disease, Final Assessment. *Emerging Infectious Diseases*. 2012.
6. Hill A, Zeidler M, Ironside J, Collinge J. Diagnosis of New Variant of Creutzfeldt-Jakob disease by tonsil biopsy. *The Lancet*. 1997 Janeiro.
7. Poser CM. Notes on the history of the prion diseases. Part II. *Clinical Neurology and Neurosurgery*. 2002.
8. Collinge J. Prion diseases of humans and animals: their causes and molecular basis. *Annual Review of Neuroscience*. 2001.
9. Center, National Prion Disease Pathology Surveillance. Web site da CJD Surveillance National Prion Disease Pathology Surveillance Center. [Online]. [cited 2013 Novembro].
10. White AR, Enever P, Tayebi M, Mushens R, Linehan J, Brandner S, et al. Monoclonal antibodies inhibit prion replication and delay the development of prion disease. *Nature*. 2003 Março; 80-83.
11. Hill AF, Butterworth RJ, Joiner S, Jackson G, Rossor MN, Thomas DJ, et al. Investigation of variant Creutzfeldt-Jakob disease and other human prion diseases with tonsil biopsy samples. *The Lancet*. 1999.
12. Dormont D. Prion diseases: pathogenesis and public health concerns. *Federation of European Biochemical Societies Letters*. 2002.
13. Caramelli M, Ru G, Acutis P, Forloni G. Prion Diseases Current Understanding of Epidemiology and Pathogenesis, and Therapeutic Advances. *CNS Drug* 2006. 2006; 20.
14. Glatzel M, Ott PM, Linder T, Gebbers JO, Gmür A, Wüst W, et al. Human Prion Disease: epidemiology and integrated risk assessment. *The Lancet*. 2003 Dezembro; 2.
15. World Health Organization. World Health Organization. [Online]; 2014 [cited 2014 Janeiro 15]. Available from: <http://www.who.int/zoonoses/diseases/variantcjd/en/index.html>.