

MeB – Pagine Elettroniche

Volume IV

Giugno 2001

numero 6

IL PUNTO SU

Conseguenze per l'uomo dell'encefalopatia spongiforme bovina

Giorgio Bartolozzi

Già circa due anni fa sulle pagine elettroniche di Medico e Bambino è stato riportato un articolo sulle malattie da prioni (Il punto su..., marzo 1999); da allora le conoscenze su queste malattie sono aumentate di molte volte, soprattutto per quanto riguarda i rapporti fra encefalopatia spongiforme bovina (BSE) e variante della malattia di Creutzfeldt Jakob (vCJD) dell'uomo. Purtroppo una ventina di casi di ESB sono stati riscontrati anche in Italia, mentre per ora non è stato rilevato nessun paziente con la vCJD. Un recentissimo articolo, comparso sul Clinical Infectious Diseases (C. MacKnight, Clinical Implications of Bovine spongiform Encephalopathy, Clin Infect Dis 32, 1726-31, 2001) ci permette di tornare sull'argomento.

L'encefalopatia spongiforme bovina (BSE), conosciuta ormai in tutto il mondo con il nome di malattia della mucca pazza (mad cow disease) fa parte delle encefalopatie spongiformi trasmissibili da prioni.

Dopo il primo riconoscimento della BSE in Inghilterra nel 1987, si è verificata un'epidemia della malattia fra i bovini; la stessa BSE è stata coinvolta in una nuova malattia dell'uomo (la variante della malattia di Creutzfeldt-Jacob (vCJD)) e degli animali (encefalopatia spongiforme dei felini (compreso il gatto), encefalopatia degli ungulati esotici ed encefalopatia dei primati in cattività).

In questa trattazione verrà parlato della natura dei prioni, dei fattori che hanno portato all'epidemia della BSE, dei tentativi di trattamento dei pazienti affetti da CJD e degli sforzi per limitare la diffusione del prione.

LE MALATTIE DA PRIONI

La **scrapie** fu descritta per la prima volta in Europa nel XVIII secolo (Vedi Tabella n.1). La scrapie è una malattia rapidamente progressiva, sempre fatale che si manifesta a carico del sistema nervoso della pecora e della capra, in modo endemico in molte parti del mondo, compresa l'Europa e il Nord America. Fin dall'inizio vennero riconosciute le componenti infettive ed ereditarie, ma le conoscenze sulla diffusione della malattia e sulla sua fisiopatologia vennero riconosciute solo nel 20° secolo.

La scrapie è stata sperimentalmente trasmessa inoculando parti del cervello o del midollo spinale di animali infetti in animali non infetti. Il periodo d'incubazione risultò più lungo per gli animali che erano stati inoculati perifericamente che in animali che avevano ricevuto un'inoculazione intracerebrale.

La malattia è stata inoltre trasmessa alle pecore, alimentandole con tessuti contaminati ed è stato anche notato che greggi non contaminati, che si erano alimentati in aree di pastura che erano state in precedenza usate da greggi ammalati, svilupparono la malattia. Questa osservazione è stata spiegata con la persistenza dell'agente infettivo negli acari del fieno, presenti nella pastura. Non è stata dimostrata la trasmissione dello scrapie in utero. Studi sulle pecore infettate naturalmente hanno dimostrato che l'agente infettivo compare all'inizio sulle tonsille e nel tessuto linfatico dell'intestino quando le pecore sono molto giovani: constatazione che dimostra che l'infezione naturale avviene per via orale.

Specie	Malattie
Animali	Scrapie (circa 1730) Encefalopatie trasmissibile del mink (1965) Malattia wasting cronica dell'elk (1980) Encefalopatia spongiforme bovina (1987) Encefalopatia spongiforme dei felini (1990) Encefalopatia spongiforme dei primati in cattività (1996)
Uomo	Malattia di Creutzfeldt-Jacob (1920) Sindrome di Gerstmann-Sträussler-Scheinker (1928) Kuru (1957) Insonnia familiare fatale (1986) Variante della malattia di Creutzfeldt-Jacob (1996) Insonnia familiare sporadica (1999)

Nel 1955 una nuova malattia, il **kuru**, venne riconosciuta nel popolo Fore della Nuova Guinea (Gadjusek DC, 1977). Il kuru è una malattia neurologica, rapidamente progressiva, caratterizzata dalla compromissione cerebellare e cognitiva che porta a morte i pazienti entro 6 mesi dall'inizio della sintomatologia. Gadjusek legò la malattia al rituale della morte dei Fore, che comprendeva l'esposizione e l'ingestione del tessuto cerebrale dei parenti deceduti. Un veterinario, Hadlow, riconobbe presto la somiglianza fra il kuru e la scrapie. Questo riconoscimento portò alla constatazione che il kuru può essere trasmesso ai primati sia per mezzo della inoculazione che con il consumo di carni contaminate. Per queste scoperte Gadjusek e i suoi colleghi vinsero il Premio Nobel nel 1976.

Ugualmente venne dimostrata una forte somiglianza fra il kuru e la malattia di Creutzfeldt-Jacob (CJD). La CJD venne descritta per la prima volta nel 1920; a questa fece seguito la descrizione della sindrome di Gerstmann-Sträussler-Scheinker (GSS) nel 1928. Tutte e due le malattie sono delle encefalopatie progressive; la CJD è stata dimostrata essere una malattia sporadica, familiare e iatrogena. Sono un centinaio i casi di origine iatrogena, da quelli legati alla somministrazione di ormone della crescita, di origine estrattiva dall'ipofisi di cadavere (oggi l'ormone della crescita è ottenuto con la tecnica DNA ricombinante), a quelli legati al trapianto di cornea, di dura madre, all'uso di strumenti adibiti alle tecniche intracerebrali. La GSS invece è unicamente familiare. Dopo il rico-

noscimento della trasmissibilità del kuru, anche la CJD e la GSS vennero trasmesse ai primati.

E' stato così che la famiglia delle encefalopatie spongiformi trasmissibili ha cominciato a prendere forma.

I PRIONI

Gli studiosi sono rimasti sconcertati da queste scoperte.

Come può una malattia essere insieme una malattia ereditaria e una malattia infettiva?

Oggi sappiamo che la scrapie e la CJD non sono dovute ad un'infezione virale, perché l'agente di queste due malattie è resistente al calore, all'irradiazione, alla formalina e perché esso è privo di acidi nucleici.

Prusiner ha proposto che l'agente responsabile sia una proteina infettiva, che ha indicato con il nome di prione (Prusiner SB, 1998). Questa intuizione ha portato alla scoperta della proteina prione, del suo gene e alla conoscenza della sua fisiopatologia.

I prioni sono normali componenti dei neuroni con una funzione, ancora non ben conosciuta. Forme anormali della proteina del prione (PrP^{Sc}) hanno un'alterata struttura terziaria che rende la proteina resistente all'azione delle proteasi e che conduce alla precipitazione della proteina in aggregati insolubili di amiloide. Ma ciò che rende la proteina simile agli agenti infettivi tradizionali è la capacità di trasmettere l'anomalia. La PrP^{Sc} quando viene a contatto con la proteina normale (PrP^C) produce in questa i caratteristici cambiamenti di configurazione che la rendono a sua volta capace di propagare il sovvertimento strutturale ad altre proteine.

D'altra parte una malattia da prioni può essere di origine genetica, se una mutazione del gene del prione porta alla formazione del PrP^{Sc}; il prione anormale d'altra parte può essere infettivo, perché posto a contatto con il prione PrP^C dell'ospite porta a modificazioni della struttura conformazionale della proteina. I casi sporadici di CJD probabilmente riflettono la rara possibilità (una su un milione) che un PrP^C normale assuma una conformazione anormale. L'assenza di acido nucleico e la stabilità della conformazione anormale spiegano la difficoltà che s'incontra nel disinfettare gli oggetti contaminati. E' per questo che nel Regno Unito viene consigliato agli otorini di usare apparecchiature usa e getta, per praticare la tonsillectomia.

Prusiner ha vinto il premio Nobel nel 1977 per questo lavoro. Tuttavia non tutti gli scienziati sono d'accordo con il suo punto di vista; essi hanno espresso delle ipotesi alternative.

L'ipotesi di Prusiner spiega anche la diffusione dei prioni nell'organismo. L'epitelio dell'intestino esprime sia la proteina dei prioni che gli opportuni recettori. Dopo aver attraversato l'epitelio, l'infezione iniziale e la moltiplicazione avviene a carico delle cellule dendritiche dei follicoli linfatici, dai quali si passa alla neuroinvasione via nervi periferici. Gli studi sul topo, mancante del gene dei prioni, confermano che il prione dell'ospite è necessario per l'infezione.

D'altra parte l'ipotesi di Prusiner spiega anche la presenza di differenti ceppi di prioni. I prioni che sono stati isolati da differenti animali possono avere caratteristiche differenti, principalmente per quanto riguarda il periodo d'incubazione e la neuropatologia. Esiste una barriera di specie: i prioni che infettano una specie non sono in generale patogeni per altre specie. Per esempio se i topi sono suscettibili al prione della scrapie, gli hamster non lo sono; non ci sono prove che la scrapie infetti l'uomo; non tutti i primati possono essere infettati dal prione della CJD.

Differenze nella struttura e nella sequenza dei prioni presumibilmente spiegano la presenza di ceppi e la barriera di specie.

LE CARATTERISTICHE CLINICHE

La CJD è una malattia rara, con un'incidenza di un caso su 1 milione di persone in tutto il mondo. Molti fattori di rischio sono connessi con la CJD sporadica, ma oltre che per la forma iatrogena e la per forma familiare non esiste nessuna prova.

La CJD è una malattia terribile che progredisce rapidamente. La durata media del tempo fra l'inizio e la morte è solo di 4,5 mesi. Una diagnosi definitiva la si fa solo con l'autopsia (Vedi Tabella n.2). L'EEG, l'esame del liquor cerebro-spinale e la risonanza magnetica possono essere talvolta utili. Nonostante l'identificazione della proteina dei prioni in campioni biotici delle tonsille abbia un certo interesse dal punto di vista teorico, la sensibilità e la specificità di questa ricerca in pazienti con varie forme della CJD non sono ancora conosciute.

Non esiste alcun tipo di trattamento per la CJD.

IL CONTROLLO DELL'INFEZIONE

Le superfici che siano state contaminate da prioni, sono notoriamente difficili da disinfettare; ugualmente soggetti che siano stati in contatto con il sistema nervoso centrale di vittime della CJD sono teoricamente a forte rischio. Vi sono ancora alcuni importanti dilemmi:

- l'infettività delle superfici e degli strumenti è aumentata e stabilizzata dall'essiccamento e dalla fissazione, mediante l'esposizione all'alcool, alla formalina e alla glutaraldeide
- il metodo più sicuro per prevenire la malattia è rappresentato dalla distruzione di tutti gli strumenti che siano stati usati nel soggetto affetto da CJD
- se questo è impossibile, gli oggetti debbono essere puliti meccanicamente, immersi in una soluzione 1 M d'idrossido di sodio e messi in autoclave
- le superfici di lavoro debbono essere pulite con una soluzione 2 M d'idrossido di sodio e poi immerse per un'ora
- anche il personale deve prendere speciali precauzioni
- non sono necessarie precauzioni straordinarie per gli infermieri, perché non esiste rischio di trasmissione per un contatto casuale.

Criteri	Sintomi, segni ed esami
Diagnosi di probabile CJD	demenza progressiva almeno due dei seguenti segni: - mioclono - disturbi visivi o cerebellari - alterazioni piramidali o extrapiramidali - mutismo acinetico uno o due dei seguenti esami: - EEG tipico durante una malattia che dura da tempo - risultato positivo degli esami liquorali - durata della malattia inferiore ai 2 anni
Diagnosi di possibile CJD	demenza progressiva almeno due dei seguenti segni: - mioclono - disturbi visivi o cerebellari - alterazioni piramidali e/o extrapiramidali - mutismo acinetico nessun reperto disponibile EEG o risultati atipici durata dei sintomi inferiore ai 2 anni

LA BSE

Nel 1987 è stata identificata nel Regno Unito una nuova, rapidamente progressiva, encefalopatia dei bovini. Entro un anno venne riconosciuta l'origine da prioni. Venne scoperto che la malattia colpiva animali di 3-5 anni, che era più comune fra le mucche da latte che fra le mucche da carne: fu evidente inoltre che la malattia si manifestava in aree separate. Una serie di casi controllo documentò che la malattia si verificava in animali che usavano alimentarsi con supplementi alimentari di carne e di ossa (Wilesmith JW et al., 1991).

Prima del 1970 venivano usati solventi organici per estrarre il grasso, sistemi più recenti lasciano il grasso intatto, ma nel grasso intatto i prioni rimangono vitali. L'ipotesi corrente è che entrarono in questo processo i tessuti di pecora infetti in modo tale che gli animali ammalati vennero riciclati attraverso il sistema. La stessa sostanza è ritenuta responsabile delle nuove malattie nei gatti, negli ungulati e nei primati.

Nel 1988 il Regno Unito bandì i tessuti dei ruminanti dall'alimentazione delle mucche e venne introdotta una politica di macellazione per tutte le mucche ammalate. Le frattaglie di bovino furono bandite dall'alimentazione dell'uomo nel 1989, dall'alimentazione animale nel 1990 e dai fertilizzanti nel 1991.

L'uso di ogni tessuto nervoso originato dai bovini venne bandito nell'alimentazione umana nel 1995. Queste iniziative ebbero successo e rallentarono l'epidemia della malattia, che raggiunse la punta nel 1993, quando si ebbero circa 3.500 nuovi casi per mese. Al 1999 circa 175.000 casi furono riportati nel Regno Unito e circa 1.100 in Europa. Nonostante questo successo nel controllare l'epidemia di BSE, circa 750.000 bovini, infettati con l'agente della BSE, entrarono nella catena alimentare umana del Regno Unito dal 1980 al 1996. Sfortunatamente altri Paesi non furono vigilanti; ancora nel 2001, carne di mucche colpite da BSE entra nella catena alimentare dell'uomo in alcuni Paesi europei.

Le mucche del Nord America è difficile che siano a rischio di acquisire la BSE. Nessun caso è stato identificato nelle mucche che sono nate nei continenti al di fuori dell'Europa. L'intenso lavoro di sorveglianza negli USA non ha impedito un'improvvisa epidemia della malattia fra i visoni, quando carni infette vennero usate per alimentare i visoni, causando l'encefalopatia trasmissibile del visone. Gli Stati Uniti non hanno importato carne di manzo dal Regno Unito dalla metà degli anni 80. Un altro fattore che ha limitato il rischio

negli USA è la scarsa quantità di materiale di origine ovina utilizzata nell'alimentazione dei bovini americani.

LA VARIANTE DELLA MALATTIA DI CREUTZFELDT-JACOB NELL'UOMO

La National CJD Surveillance Unit del Regno Unito, fondata nel 1990, riportò, nella prima parte dell'anno 1994, una nuova forma di CJD, indicata come variante della CJD (vCJD). Questi casi differiscono dai casi di CJD sotto molti importanti aspetti:

- i pazienti colpiti tendono a essere più giovani
- i sintomi psichiatrici e l'atassia sono prevalenti molto presto nel decorso della malattia
- i reperti tipici all'EEG non sono presenti
- le placche di PrP, trovate all'esame neuro-patologico erano diffuse ovunque e circondate da un unico alone di modificazioni spongiformi.

Tutti questi casi avevano un particolare genotipo di PrP; tutti erano omozigoti per la metionina al codone 129 (**Zeidler M et al., 1997**). Il codone 129 è polimorfico; nel Regno Unito il 38% della popolazione è omozigote per la metionina, il 12% è omozigote per la valina e il 50% è eterozigote (valina-metionina). I soggetti che sono omozigoti per la metionina sono più suscettibili alla CJD iatrogena.

I criteri diagnostici per la vCJD sono stati proposti dall'Organizzazione Mondiale della Sanità (Vedi Tabella n.3.).

Le caratteristiche anatomo-patologiche presentano convincenti ragioni per chiedere l'autopsia di pazienti morti per sospetta CJD.

Sebbene non ci siano prove dirette che colleghino la BSE alla vCJD, le prove epidemiologiche sono sufficientemente forti. Inoltre il ceppo di prioni trovato nella BSE, nella vCJD e nei gatti nel Regno Unito, è simile e diverso dal ceppo che è stato trovato nella CJD sporadica o iatrogena.

Al momento una novantina di casi di vCJD sono stati riportati nel Regno Unito, 3 in Francia e 1 in Irlanda. Si può ritenere che se non ci sono nuove infezioni e se il periodo d'incubazione è inferiore a 60 anni, bisogna aspettarsi al 2040 circa 136.000 nuovi casi di vCJD nel Regno Unito (**Ghani AC et al., 2000**).

Requisiti	Dettagli
I pazienti debbono avere 5 dei seguenti sintomi	- sintomi psichiatrici precoci - parestesie/distesie precoci e persistenti - atassia - corea/distonia o mioclono - demenza - mutismo acinetico
I pazienti debbono presentare tutti i seguenti criteri	- durata clinica dei sintomi superiore ai 6 mesi - età d'inizio inferiore ai 50 anni - assenza della mutazione del gene PrP, presente nella CJD - l'EEG non mostra l'aspetto tipico periodico - le ricerche routinarie non mostrano una diagnosi alternativa - la risonanza magnetica mostra alti segnali anormali bilaterali dal pulvinar sull'assiale T2 e/o immagini pesanti di densità dei protoni

RISCHI ULTERIORI

E' difficile sapere quanto sia accurata la predizione di Ghani. Ma molti fattori contribuiscono a gonfiare il numero dei casi. La specie hamster, che si pensava fosse resistente alla scrapie, è colpita dall'infezione senza essere ammalata. Esistono riserve silenti di BSE in altre specie, che sono consumate come supplementi di carne o altre malattie da prioni non ancora conosciute?

Ghani ritiene anche che il 38% della popolazione sia omozigote per la metionina al codone 129 e che quindi sia suscettibile. All'inizio si pensava che venissero colpiti dalla CJD iatrogenica per il consumo di ormone della crescita solo i soggetti omozigoti, ma un'ulteriore esperienza ha mostrato che anche gli eterozigoti sviluppano la malattia, anche se mostrano un periodo d'incubazione più lungo.

La trasmissione madre/feto può prolungare l'epidemia di BSE. Sebbene l'infezione verticale non sia stata definitivamente provata per altre malattie da prioni, bassi livelli di trasmissioni di prioni sono stati trovati nelle mucche con BSE. Nell'estate del 2000 un rapporto sul BMJ suggerisce che il figlio di una donna morta per vCJD aveva la malattia. Infine la persistenza dell'agente della BSE nell'ambiente, come avviene per la scrapie, può prolungare l'epidemia.

Bibliografia

- Gadjusek DC - Unconventional viruses and the origin and disappearance of kuru - Science 197, 943-60, 1977
- Ganhi AC, Ferguson NM, Donnelly CA, Anderson RM - Predicted vCJD mortality in Great Britain - Nature 406, 583-4, 2000
- MacKnight C - Clinical implications of Bovine spongiform encephalopathy, Clin Infect Dis 32, 1726-31, 2001
- Prusiner SB - Prions - Proc. Natl Acad Sci USA 95, 133.363-83, 1998
- Wilesmith JW, Ryan JB, Atkinson MJ - Bovine spongiform encephalopathy (BSE): epidemiological studies on origin - Vet Rec 128, 199-203, 1991
- Zeidler M, Steward GE, Barraclough CR et al - New variant Creutzfeldt-Jacob disease: neurological features and diagnostic tests - Lancet 350, 903-7, 1997