

# LA MALATTIA DI CREUTZFELDT-JAKOB

*Anna Ladogana e Maurizio Pocchiari*

## SOMMARIO

Introduzione. -Epidemiologia e fattori di rischio. -Variabilità fenotipica e fattori predittivi di sopravvivenza. -Diagnosi e terapia.

### **Introduzione**

La malattia di Creutzfeldt-Jakob [M.C.J.] è una rara forma morbosa neurologica, ad esito fatale, che si colloca tra le encefalopatie spongiformi trasmissibili dell'uomo insieme con la sindrome di Gerstmann-Sträussler-Scheinker (GSS) e l'insonnia fatale familiare (FFI). Esistono quattro diverse forme di M.C.J.: la M.C.J. sporadica, presente in tutto il mondo e della quale non si conoscono né le cause né gli eventuali fattori di rischio; la M.C.J. iatrogena, causata dalla trasmissione dell'agente infettivo attraverso procedure medico-chirurgiche; la M.C.J. genetica, legata a mutazioni del gene della proteina prionica (PRNP) e la variante M.C.J. causata dall'agente dell'encefalopatia spongiforme bovina (BSE). Nonostante la rarità delle diverse forme di M.C.J., gli eventi degli ultimi anni, quali l'epidemia di variante M.C.J. nel Regno Unito (UK), la comparsa di casi di variante M.C.J. in altri Paesi europei e l'estensione dell'epidemia di BSE in Europa, Giappone e Nord America hanno contribuito a mantenere attivo l'impegno delle organizzazioni sanitarie internazionali (OMS, OIE) e ad alimentare l'interesse della scienza per combattere queste patologie e comprenderne i meccanismi patogenetici al fine di trovare strategie di prevenzione e terapia. Notevoli progressi sono stati ottenuti in ambito clinico-epidemiologico e diagnostico anche se ancora mancano esami pre-clinici per individuare i soggetti infetti e terapie efficaci.

### **Epidemiologia e fattori di rischio**

Il progetto di collaborazione sulla sorveglianza epidemiologica della M.C.J., iniziato da Francia, Germania, Italia, Olanda, Slovacchia e UK nel 1993 ed esteso in seguito ad Australia, Austria, Canada, Spagna e Svizzera, ha raccolto dati clinico-epidemiologici su oltre 4400 casi di M.C.J.. I risultati di questa collaborazione, il più vasto studio di sorveglianza prospettica mai condotto su queste malattie, hanno confermato che la forma più frequente di M.C.J. è quella sporadica (84% dei casi) con una mortalità annuale, relativamente uniforme nei diversi Paesi europei, pari a 1,39 casi per milione di abitanti. Questo studio ha inoltre evidenziato un aumento della mortalità per M.C.J. sporadica negli ultimi anni nelle classi di età oltre i 60 anni dovuto probabilmente ad un miglioramento della sorveglianza nell'accertamento dei casi (ad es., una maggiore attenzione nella diagnostica differenziale della demenza in età avanzata) piuttosto che alla conseguenza dell'esposizione a nuove fonti d'infezione ambientali. Nelle classi di età più giovani, tra le quali è più probabile si sviluppi la variante M.C.J., non sono stati invece rilevati aumenti nei tassi di mortalità, suggerendo che è improbabile che negli anni passati si siano persi casi di variante M.C.J. In Italia, la M.C.J. sporadica è distribuita in maniera omogenea su tutto il territorio nazionale con un tasso medio di mortalità pari a 1,42 casi per milione di abitanti per anno. Anche in Italia è stato osservato un aumento di mortalità per M.C.J. sporadica nelle classi di età oltre i 60 anni ma non per i casi al di sotto dei 50 anni. Da un confronto tra i dati di mortalità ISTAT e i dati del

registro nazionale della M.C.J. e` stato calcolato che la sottotifica dei casi di M.C.J. al registro si e` ridotta nel tempo a meno del 5%.

La M.C.J. genetica insieme con la GSS e l'FFI costituisce circa il 10% dei casi, ma queste forme, al contrario della sporadica, sono distribuite in maniera molto disomogenea nei diversi Paesi europei: in Slovacchia ed in Italia il tasso di mortalita` per M.C.J. genetica e` rispettivamente di quasi 7 e 2 volte piu` alto della media europea. Anche in Italia le forme genetiche sono distribuite in maniera disomogenea con una maggior prevalenza di casi in Calabria (per la presenza di un cluster legato alla mutazione E200K del gene PRNP nella provincia di Reggio Calabria) e in Campania (soprattutto dovuta a casi legati alla mutazione V210I nelle province di Napoli e Avellino).

La M.C.J. iatrogena si riscontra essenzialmente in UK e Francia soprattutto in pazienti che hanno ricevuto ormone della crescita ipofisario di tipo estrattivo. In Italia, dal 1993 al 2004, si sono registrati solo 3 casi di M.C.J. iatrogena dovuta ad impianto di dura madre umana durante interventi neurochirurgici.

Il maggiore numero di casi di variante M.C.J. rimane in UK con 158 casi alla fine del 2005. Casi di variante M.C.J. sono stati identificati anche in Francia (15 casi), in Irlanda (3 casi), in Italia, Olanda, Portogallo, Spagna, Giappone, Arabia Saudita, Stati Uniti e Canada (1 caso ciascuno). I casi nord-americani e 1 dei 3 casi irlandesi hanno a lungo soggiornato in UK durante il periodo considerato maggiormente a rischio d'infezione da BSE, mentre gli altri casi si sono infettati nel proprio Paese d'origine. Il paziente giapponese ha trascorso solo 1 mese in UK e pertanto e` difficile stabilire se si sia infettato in UK o nel suo Paese. Questo dato e` importante per una corretta valutazione del rischio BSE nei diversi Paesi europei e indica, sebbene in modo approssimativo, che il livello d'infettivita` circolante in Italia negli anni '90, prima cioe` dell'introduzione di provvedimenti di sanita` pubblica mirati ad eliminare tessuti bovini ad alto rischio per il consumo umano, sia stato circa 100 volte inferiore che in UK e 10 volte inferiore che in Francia. Il numero di casi di variante M.C.J. in UK ha avuto un picco nel 2000 e da allora e` in diminuzione (fig. 3). Questo dato epidemiologico e` pero` in contrasto con un primo studio di prevalenza in UK basato sull'analisi retrospettiva di circa 13.000 campioni di appendici e tonsille. Questo studio ha individuato 3 appendici positive per la proteina prionica patologica (PrPTSE) fornendo una stima di prevalenza di 237 persone infette per milione di abitanti o, considerando che l'83% dei campioni testati era nella fascia di eta` dai 10 ai 30 anni, di 3808 persone che, in questa fascia di eta`, potrebbero incubare la variante M.C.J. Non e` ancora chiaro come interpretare questa discordanza di dati: e` possibile ipotizzare che in alcuni soggetti l'infettivita` rimanga localizzata al di fuori del sistema nervoso centrale senza pertanto causare alcun segno clinico o, in alternativa, che questi soggetti stiano incubando la malattia e che in un prossimo futuro ci sara` un nuovo incremento di variante M.C.J. L'aver trovato l'appendice positiva alla PrPTSE in 2 pazienti con variante

M.C.J. nei quali era stata eseguita appendicectomia 8 e 24 mesi prima dell'esordio clinico di malattia avvalorano quest'ultima ipotesi. In entrambe le ipotesi, questi soggetti potrebbero trasmettere la variante M.C.J. attraverso il sangue o prodotti farmaceutici derivati dal plasma, quali ad es. il fattore VIII, immunoglobuline o altro. Nel 2002 un paziente di 62 anni ha sviluppato la variante M.C.J. 6 anni e mezzo dopo aver ricevuto una trasfusione di globuli rossi provenienti da un donatore che ha sviluppato segni clinici di malattia 3 anni e mezzo dopo la donazione. Nel 2004 un altro paziente, morto per cause non neurologiche, e` risultato positivo alla PrPTSE nella milza: 5 anni prima era stato trasfuso con globuli rossi donati da un soggetto che ha sviluppato la variante M.C.J. 18 mesi dopo la donazione. Al contrario di tutti i pazienti con variante M.C.J. che sono omozigoti per metionina nell'aminoacido 129 della proteina prionica, questo paziente era eterozigote, facendo

ipotizzare che la presenza di omozigosi per metionina non è indispensabile per essere suscettibili all'infezione. Da questi ultimi dati è pertanto ragionevole ipotizzare che il sangue di pazienti con variante M.C.J. sia infetto diversi anni prima dell'esordio clinico di malattia. Tenendo conto che in UK circa il 10% di pazienti con variante M.C.J. ha donato sangue prima di sviluppare segni clinici di malattia e che in Francia 3 pazienti su 15 erano donatori di sangue, è possibile che la trasmissione interumana della variante M.C.J. attraverso il sangue influenzi in un prossimo futuro l'entità dell'epidemia in UK ed in altri Paesi europei.

### **Variabilità fenotipica e fattori predittivi di sopravvivenza**

Fin dagli anni '50 si è osservato che la M.C.J. non si presenta con caratteristiche cliniche e neuropatologiche costanti; sono state descritte forme con esordio caratterizzato da disturbi o allucinazioni visivi ad evoluzione molto rapida (sindrome di Heidenhaim), forme miocloniche, atassiche (sindrome di Oppenheimer), o corticali con esordio puramente cognitivo. Negli anni '70, in seguito all'evidenza che tutte queste diverse forme si trasmettevano indistintamente ai primati, è parso superfluo continuare a classificare la M.C.J. in varie categorie. Tuttavia, con la comparsa della variante

M.C.J. nel 1996 si è rinnovato l'interesse a comprendere le basi molecolari della variabilità fenotipica della M.C.J. con lo scopo di migliorarne gli aspetti diagnostici e poter così distinguere, con la maggior accuratezza possibile, la variante

M.C.J. dalle altre forme non legate alla BSE. Oggi si distinguono diversi sottotipi clinico-patologici della M.C.J. sporadica basandosi principalmente su due criteri: il polimorfismo in posizione 129 della PrP e il pattern elettroforetico della PrPTSE che si deposita nel cervello. Nell'uomo il gene della PrP (PRNP) ha diversi siti polimorfici ma quello al codone 129 (codificante metionina o valina) è l'unico che abbia una chiara influenza sull'età d'insorgenza della malattia e sulla sopravvivenza. Anche la struttura tridimensionale che assume la PrPTSE in corso di malattia influisce sulle caratteristiche cliniche della M.C.J. L'evento patogenetico principale della M.C.J. e di tutte le altre encefalopatie spongiformi trasmissibili è il cambiamento strutturale della proteina prionica cellulare (PrPc) che, per motivi ancora non completamente chiariti, viene a modificare la maggior parte della sua struttura alfa-elica in struttura a foglietti beta. In seguito a questo cambiamento strutturale, la proteina tende ad aggregarsi formando fibrille amiloidee che sono parzialmente resistenti al trattamento con alcuni enzimi proteolitici. Nell'uomo la PrPTSE può assumere almeno due diverse conformazioni: tipo 1 e tipo 2. Nel tipo 1 la parte N-terminale della proteina è meno esposta che nel tipo 2 e quindi meno sensibile al trattamento proteolitico. Questa differenza è facilmente osservabile all'esame elettroforetico della proteina. In elettroforesi la PrPTSE, come d'altronde il suo precursore fisiologico, migra in tre bande distinte che corrispondono alla forma non glicosilata e a quelle mono- e di-glicosilata. Nel tipo 1 la banda non glicosilata (che è quella dove si notano meglio piccole differenze di migrazione) è leggermente più grande (21 kDa) di quella del tipo 2 (19 kDa) che migra più velocemente. La PrPTSE tipo 2 è ulteriormente divisa in due isoforme in base al grado di glicosilazione della proteina: nel tipo 2A la banda più intensa è quella mono-glicosilata mentre nel tipo 2B è quella diglicosilata. La PrPTSE tipo 2B si trova solo nella variante M.C.J. e nella FFI.

I pazienti con M.C.J. sporadica sopravvivono mediamente circa 5 mesi dall'esordio della malattia, ma ci sono pazienti che presentano una rapidissima evoluzione (meno di 1 mese) ed altri che sopravvivono oltre 2 anni. I fattori che influenzano la sopravvivenza sono il sesso, l'età all'esordio della malattia, il genotipo del paziente al codone 129 del gene PRNP, e il tipo di PrPTSE. La

sopravvivenza è inferiore nei maschi, nei soggetti di età più avanzata, nei portatori di omozigosi per metionina al codone 129, e nei pazienti con il tipo 1 di PrPTSE. La durata della malattia nei pazienti con M.C.J. genetica è generalmente più breve (la mediana è 4 mesi) che nei pazienti con M.C.J. sporadica e il sesso e l'età d'insorgenza della malattia ne influenzano la sopravvivenza in maniera simile alla M.C.J. sporadica, eccetto che per i soggetti con M.C.J. genetica associata alla mutazione V210I dove gli omozigoti per metionina hanno una sopravvivenza media di circa 2 mesi superiore agli eterozigoti. Pazienti con FFI e con variante M.C.J. hanno una sopravvivenza media di circa 1 anno mentre i pazienti con GSS di oltre 3 anni.

Identificare le variabili che influenzano la sopravvivenza nelle diverse forme di M.C.J. e sindromi correlate costituisce la base per una strategia di valutazione dell'effetto di potenziali regimi terapeutici nei soggetti trattati rispetto alla storia naturale di queste malattie.

### **Diagnosi e terapia**

La diagnosi in vita della M.C.J. è attualmente basata su criteri clinici e su alcuni esami strumentali, quali l'EEG, l'esame della proteina 14-3-3 nel liquido cefalorachidiano e la RMN. Le anomalie EEG caratteristiche della M.C.J. sono i complessi periodici trifasici punta-onda (1-2 cicli/sec) sincroni e bilaterali, che però non sono costanti durante l'intera fase clinica. Questo tipo di tracciato EEG non è stato comunemente osservato nei pazienti affetti da variante M.C.J. L'identificazione mediante Western Blot della proteina 14-3-3 è di grande aiuto per confermare il sospetto clinico di M.C.J. sporadica e di M.C.J. genetica ed ha lo stesso valore diagnostico dell'EEG. La specificità di questo esame in pazienti affetti da disturbi cognitivi è del 93%. Questo esame può essere eseguito facilmente a partire da volumi ridotti di liquido cefalorachidiano, ottenibili mediante puntura lombare, ma la qualità del prelievo deve essere ottimale (assenza di contaminazione ematica) per evitare falsi positivi. La proteina 14-3-3 è invece spesso negativa nei pazienti affetti da variante M.C.J. per i quali invece si sono rivelate molto utili la RMN e la biopsia tonsillare. La RMN del cranio mostra infatti nelle immagini T2 pesate e in densità protonica una iperintensità bilaterale del segnale a livello del pulvinar; la biopsia tonsillare per la PrPTSE si è dimostrata sempre positiva nei casi di variante M.C.J. e attualmente costituisce uno degli esami diagnostici più utili per differenziare la variante da altre forme di M.C.J. Un importante obiettivo della ricerca diagnostica è quello di aumentare la sensibilità delle tecniche di identificazione della PrPTSE nei tessuti periferici. Recentemente la proteina PrPTSE è stata identificata nell'epitelio olfattorio che è facilmente ottenibile mediante la semplice esecuzione in vita della biopsia della mucosa olfattoria.

Non vi sono al momento terapie efficaci per questa malattia nell'uomo. A fronte di numerosi studi sperimentali in vitro e in modelli animali con sostanze che inibiscono l'accumulo della PrPTSE o che agiscono sulla PrPc sequestrando quindi il substrato per la conversione in PrP patologica, i dati sulla terapia umana sono molto limitati.

Sono attualmente in corso due trial clinici, uno negli Stati Uniti e uno in UK, con la chinacrina. La chinacrina, un farmaco noto da tempo come antimalarico, è in grado di inibire la formazione di PrPTSE in coltura cellulare di neuro-blastoma infetto con scrapie. Gli studi sperimentali in modelli animali non hanno però confermato l'efficacia del farmaco e, sebbene non siano ancora disponibili i dati conclusivi di questi trial clinici, i risultati del trattamento su singoli pazienti non sono incoraggianti. Recentemente in UK è stata provata in alcuni pazienti la somministrazione intraventricolare di pentosan polisolfato, un farmaco che in modelli sperimentali animali ha dato risultati promettenti, che sembrerebbe aver stabilizzato il decorso clinico in un paziente affetto da variante M.C.J.

Le difficoltà della terapia sono legate in primo luogo alle lacune nella conoscenza dell'etiopatogenesi di questa patologia e alla mancanza di un test che permetta la diagnosi preclinica, cioè di un test in grado di rilevare l'infezione nella sua fase asintomatica. Questo tipo di test permetterebbe sia il controllo del rischio della trasmissione interumana sia di intervenire tempestivamente con la terapia.

### ***Bibliografia***

- Hilton D.A. et al., J. Pathol., 2004, 203, 733.  
Ironsides J.W., Head M.W., Bell J.E. et al., Histopathology, 2000, 37,1.  
Ladogana A. et al., Neurology, 2005a, 64, 1586.  
Ladogana A. et al., Neurology, 2005b, 64, 1592.  
Llewelyn C.A. et al., Lancet, 2004, 363, 417.  
Parchi P. et al., Ann. Neurol., 1999, 46, 224.  
Pocchiari M. et al., Brain., 2004, 127, 2348.  
Weissmann C., Aguzzi A., Ann. Rev. Med., 2005, 56, 321.  
Zanusso G. et al., N. Engl. J. Med., 2003, 348, 711.