Encefalopatie spugniformi trasmissibili e prioni

di Lamberto Malatesta

Nella rubrica "Dalle riviste" di questo giornale si è più volte parlato del morbo della mucca pazza e di proteine prioniche. Mi è parso interessante fornire ora al lettore un quadro generale dell'argomento, riassumendo per esteso la review di J. Stephenson apparsa in Chemistry ACS, Spring-Summer 2002, 17.

Da oltre un secolo si consideravano contagiose le malattie provocate da microorganismi o da virus. Il contagio avviene in quanto questi ultimi possono passare da un individuo malato ad uno sano ed ivi riprodursi. Tuttavia, nel 1982, il biochimico e neurologo S.B. Prusiner, dell'Università di California, studiando la malattia epidemica degli ovini detta *scrapie* (grattarola) per indagarne la causa, scoperse una nuova possibilità.
Lo scrapie è estremamente contagioso, tanto che, al suo primo apparire in un gregge, questo deve essere totalmente sacrificato. Oltre alle pecore, lo scrapie contagia altri animali, tra cui i cervi, i visoni, i bisonti, i gatti selvatici e domestici, ma non si sapeva, sino ad allora, che potesse colpire anche i bovini, né era nota la causa della malattia. Prusiner riuscì ad isolare, dal cervello degli animali infetti, una proteina, che indicò come "proteinaceous infectious agent" o "prion", qui tradotto con prione, che considerò causa della malattia e per questa sua scoperta, nel 1997, gli fu attribuito il premio Nobel.

I prioni

La particolarietà dei prioni è di essere infettivi pur in assenza di Dna e Rna, cioè degli agenti per mezzo dei quali i microorganismi si replicano. I prioni infettivi sono anche interessanti in quanto essi sono chimicamente identici, cioè costituiti dalla stessa serie di amminoacidi, a prioni non infettivi, presenti negli animali sani. La differenza tra prioni infettivi, PrP^{sc}, da quelli non infettivi, PrP^{c}, è dovuta alla diversa conformazione delle due proteine, cioè dalla loro struttura tridimensionale. La trasformazione di PrP^{c} in PrP^{sc} avviene in quanto una parte delle regioni ad α-elica di PrP^{c} si trasforma in regioni a strati β nel PrP^{sc}. Il cambiamento di conformazione provoca profonde variazioni di proprietà: PrP^{c} è solubile in acqua e viene rapidamente attaccato dalle proteasi, a differenza di PrP^{sc}. È stato ipotizzato che PrP^{sc} sia, dal punto di vista termodinamico, la forma stabile. L'infettività di PrP^{sc}, cioè la capacità di trasmettere la malattia quando esso venga inoculato o ingerito, viene attribuita alla sua capacità di favorire la trasformazione di PrP^{c} in PrP^{sc}.
Lo scrapie provoca, nell'animale, tremori, incapacità a reggersi, irritabilità e infine morte. Il cervello delle vittime risulta anatomicamente alterato e ha un aspetto spugnoso.

Le cause del contagio

Sulla possibilità che PrP^{sc} sia l'agente infettivo non manca qualche scettico che, pur ammettendo che la trasformazione $PrP^{c} \rightarrow PrP^{sc}$ sia la causa della malattia, ipotizza che essa sia da attribuirsi alla presenza di una non ancora identificata famiglia di virus. Questi dovrebbero però essere insolitamente stabili e resistere alle radiazioni, al calore e agli agenti chimici, che normalmente distruggono i virus e gli acidi nucleici. Per escludere in modo assoluto che il contagio avvenga per effetto di Dna o Rna, si tenta ora di provocare la malattia con prioni PrP^{sc}, preparati in laboratorio.
Lo scrapie è noto da almeno due secoli e, nell'ultimo cinquantennio, sono state riconosciute, anche nell'uomo, malattie analoghe, indicate come "Encefalopatie spugniformi trasmissibili" (Transmissable Spongiform Encephalopathies, Tse), che, come lo scrapie, colpiscono prevalentemente il cervello, provocando demenza e morte.
Una di queste malattie, detta kuru, studiata circa cinquant'anni fa, aveva colpito nell'isola di Papua (Nuova Guinea) la tribù Fore e provocava numerose vittime, per lo più donne e bambini, con sintomi molto simili a quelli che si manifestavano nello scrapie. Si poté dimostrare che il kuru poteva essere trasmesso agli scimpanzee iniettando in essi tessuti del cervello delle vittime della malattia. L'infezione si manifestava però solo molti anni dopo l'inoculazione, tanto che si ipotizzò allora la presenza di un virus lento.
Nel caso del kuru, la trasmissione avveniva in quanto la tribù Fore non aveva ancora abbandonata la pratica rituale di onorare i defunti, da parte delle mogli e dei figli, mangiandone la carne. Ora i Fore non sono più cannibali ed il kuru è del tutto scomparso.
Un'epidemia particolarmente grave di Tse si è manifestata in Gran Bretagna, nel 1986, nei bovini. Questa malattia, più nota come "morbo della mucca pazza", a causa dei suoi sintomi, si manifesta nell'animale con dimagrimento, incapacità a reggersi, nervosismo e aggressività, seguiti da morte entro pochi mesi. Gli animali colpiti furono circa 200 mila e, per sradicare la malattia, dopo il primo sentore della sua possibile trasmissibilità all'uomo, si dovettero sacrificare

4 milioni e mezzo di animali, in gran parte asintomatici.
L'origine di questa epidemia va attribuita alle farine proteiche, in parte ottenute dalle carcasse di pecore malate di scrapie, fornite ai bovini come supplemento nutrizionale. Si considerava allora sia che lo scrapie non fosse trasmissibile ai bovini, sia che il modo con cui venivano trattate queste farine dovesse distruggere tutti i microorganismi ed i virus in esse presenti.
La diffusione del morbo della mucca pazza nel resto dell'Europa, in parte dovuto all'uso delle stesse farine proteiche, in parte all'importazione di animali infetti dalla Gran Bretagna, è stata limitata ed è ora completamente sotto controllo, mentre non se ne è avuto alcun caso negli Usa.

Tse umane

Le forme di Tse che colpiscono l'uomo, tutte intrattabili e fatali, sono di origine genetica, ad eccezione di vCjd, di cui si dirà in seguito. Due di esse sono assai rare: l'insonnia familiare fatale, Ffi, e la sindrome di Geistermann-Stäussler-Scheinken, Gss. La Ffi provoca insonnia implacabile, seguita da coma, mentre la Gss si manifesta con tremori, perdita di coordinazione e demenza.
La Tse più comune nell'uomo è il morbo di Creutzfeld-Jacob, Cjd, che colpisce annualmente una persona per milione, provocando deterioramento mentale, movimenti muscolari incontrollati, seguiti da perdita della parola e della memoria. Essa viene ora considerata dovuta ad una mutazione spontanea del gene relativo al prione. Quando, come avviene nel 10-15% dei casi, in una stessa famiglia vengono colpite più persone, il Cjd va considerato di origine genetica. In rare circostanze il Cjd è risultato trasmissibile, in seguito a trapianti chirurgici, da persone che, successivamente, risultarono malate.
Nel 1996 si è però manifestata una nuova forma di Cjd, indicata come variante, vCjd, la quale, diversamente dal Cjd, che appare nella senilità, ha colpito persone tra i 10 e i 30 anni. I sintomi della variante sono alquanto diversi: depressione, paranoia, visioni, mentre la demenza, uno dei primi sintomi del Cjd, compare per ultima. Anche l'aspetto del cervello dei malati di vCjd è caratteristicamente differente da quello dei malati di Cjd. Tuttavia, poiché tutte le vittime di questa nuova malattia sono state osservate nelle aree dove era presente il morbo della mucca pazza, si considera che essa sia da attribuirsi all'alimentazione con carni e soprattutto con cervello di bovini infetti. Si è anche dimostrato che scimmie, inoculate con tessuto cerebrale di bovini affetti dal morbo, sviluppano sintomi molto simili a quelli provocati dal vCjd nell'uomo.
Le persone colpite da vCjd sono state finora un centinaio. Considerata l'incertezza circa il numero di quelle esposte e, soprattutto, circa il periodo di incubazione della malattia, è possibile che, nei prossimi anni i casi si possano manifestare a migliaia.
La suscettibilità nell'uomo alle malattie dovute a prioni è legata, almeno in parte, alla presenza di un particolare amminoacido codificato su un sito specifico del gene del prione, il codone 129. Le persone che presentano la metionina codificata in questo sito, nelle due copie del gene del prione - circa il 40% della popolazione - sono le più esposte al contagio e sinora tutti coloro che hanno contratto il vCjd avevano questa variante genetica. Ciò non significa che quelli che non presentano questo profilo genetico siano necessariamente immuni, in quanto in essi il progresso della malattia potrebbe essere più lento. Ciò infatti avviene con il kuru, che, nei soggetti senza le due metionine sul sito 129, è apparso dopo un'incubazione di 20 e più anni.

La diagnosi e le cure
Lo sviluppo di un *test* diagnostico, per il vCjd, sarebbe di primaria importanza. Sinora il riconoscimento della malattia può avvenire solo sul tessuto cerebrale, mentre una diagnosi precoce potrebbe permettere di effettuare cure, prima che il cervello venga severamente danneggiato.
Un promettente approccio in questo senso è avvenuto da parte di C. Solo della Serono di Ginevra. Si tratta di incubare il campione contenente anche una piccolissima quantità di PrP^{sc}, ben mescolato con un tessuto normale, contenente PrP^{c}. Si sottopone poi il tutto agli ultrasuoni, per spezzare gli aggregati di proteine, si torna a incubare, poi di nuovo ultrasuoni e così via. Per ogni ciclo aumenta la quantità di PrP^{sc}, sino a raggiungere concentrazioni alle quali esso è facilmente riconoscibile. Prima di applicare il metodo si dovrà però accertare che il PrP^{sc} ottenuto sia quello infettivo.
Non esistono per ora cure per le malattie Tse; la ricerca in questo senso è però molto attiva.
Così è stato provato che frammenti di anticorpi, capaci di legare i prioni, sono in grado di eliminare PrP^{sc} da colture di cellule infette, ma la difficoltà di fare arrivare questi anticorpi al cervello non è stata superata.
Un'altra strategia è quella di utilizzare peptidi capaci di impedire che le proteine assumano la configurazione a strati β. Uno di questi, indicato come iPrP13, che riconverte in parte PrP^{sc} nella forma PrP^{c} ad α-elica, ritarda il progredire della malattia in colture di cellule di topo infettate con lo scrapie, ma anch'esso non è capace di raggiungere il cervello.
Una scoperta importante, fatta dallo stesso S.B. Prusiner nel 2001, è che l'antimalarico quinacrina e la cloropromazina, usata nel trattamento di malattie mentali, inibiscono la conversione di PrP^{c} in PrP^{sc} nelle colture di cellule celebrali di topo, infette da scrapie e che addirittura eliminano il PrP^{sc}.
Poiché questi due farmaci sono in grado di superare la barriera cerebrale del sangue, sono già iniziate le prove cliniche con essi.

Conclusioni

Lo studio delle malattie provocate dai prioni è in sé molto interessante e tanto più in quanto potrebbe portare alla comprensione delle cause di altre malattie affini alle Tse, ma estremamente più diffuse, come il morbo di Alzheimer e quello di Parkinson.