

# ENCEFALOPATÍAS ESPONGIFORMES TRANSMISIBLES

*Dra Ana Lía Taratuto*

DEPARTAMENTO DE NEUROLOGÍA, INSTITUTO DE INVESTIGACIONES NEUROLÓGICAS  
"DR. RAÚL CARREA" FLENI. HOSPITAL NACIONAL DE PEDIATRÍA JUAN P. GARRAHAN.

## INTRODUCCIÓN

Las encefalopatías espongiformes, también denominadas amiloidosis transmisibles o enfermedades por priones, afectan a los animales y al hombre e incluyen un grupo de enfermedades esporádicas, familiares o adquiridas (CJD iatrogénico y Kuru).

Las encefalopatías espongiformes que afectan a los animales son:

<i>Enfermedad</i>	<i>Huésped</i>
Scrapie	Ovinos, caprinos
Encefalopatía transmisible del visón (TME)	Visón
Enfermedad devastadora crónica (CWD)	Cervidos
Encefalopatía Espongiforme Bovina (BSE)	Bovinos
Encefalopatía Espongiforme Felina (FSE)	Gatos
Encefalopatía de Ungulados Exóticos (EUE)	Nyala y Gran Kudu.

Se considera que todas ellas son secundarias a la ingestión de suplementos de la dieta con productos ovinos, contaminados con scrapie.

Las formas humanas incluyen:

KURU endémico en algunas tribus de Nueva Guinea entre 1957-1982

### CREUTZFELDT JAKOB (CJ)

-esporádico: 1 caso /1000.000 de población/año

-familiar: mutaciones puntuales del gen (PRNP) que codifica la proteína del prion

(PrP) en el codon 178, 180, 200, 208, 210 y 232 o con inserciones de 2-9 repeticiones adicionales de octapéptidos

-iatrogénico: por inyección de hormona de crecimiento o gonadotrofina de origen humano, implante de duramadre, electrodos estereotácticos, trasplante de córnea.

-variante (vCJD), atribuida (aunque aún no definitivamente demostrado) a ingestión de alimentos contaminados con BSE.

GERSTMANN-STRAUSSLER-SCHEINKER (GSS) herencia autosómica dominante asociado a mutaciones en los codones 102, 105, 117, 198 y 217

ANGIOPATÍA AMILOIDEA CEREBRAL POR PRIONES (PrP, CAA) se asocia con mutaciones en el codon 145 (1).

INSOMNIO FATAL FAMILIAR (IFF) asociado a mutaciones del codon 178, el que también está comprometido en un subtipo de CJ pero en IFF dicha mutación se combina con metionina en el codon 129 (2).

Las formas familiares presentan una incidencia de alrededor de un 15%. Se asocian a mutaciones del gen que codifica la proteína prion, suelen tener un comienzo a edad más precoz y mayor duración de la enfermedad que las formas esporádicas, así como diferente expresión fenotípica para cada mutación aunque existen variaciones incluso entre miembros de la misma familia (3). Los distintos fenotipos de CJD, FFI, GSS y PrP-CAA se asocian con distintas mutaciones de PRNP, pero los polimorfismos en el codon 29 y 219 del gen pueden influenciar la presentación fenotípica (1)

EL kuru, el CJD esporádico y familiar, algunas formas de GSS y el IFF han sido transmitidas experimentalmente.

El sustrato patológico se caracteriza por cambios espongiiformes de la sustancia gris (corteza y/o núcleos grises, excepto el IFF, vacuolización progresiva y muerte neuronal, hiperplasia e hipertrofia de la astrogliia en grado variable sin evidencia de inflamación, y placas de amiloide las que están presentes en un bajo porcentaje de CJD, en el GSS, especialmente en cerebelo y en el Kuru.

En los animales, son raros los depósitos de amiloide en el scrapie natural, en la enfermedad de los cérvidos, del visón, así como en la encefalopatía espongiiforme bovina, mientras que son frecuentes en el scrapie experimental.

A estos criterios diagnósticos neuropatológicos se agregaron en los últimos años las técnicas que permiten la detección del PrP en los tejidos, inmunohistoquímica en parafina, la técnica de histoblot en tejido congelado digerido por proteinasa K, o bien Western Blot en homogenizados de tejido cerebral.

## PRION

El agente etiológico, de acuerdo al conocimiento actual y a diferencia de las bacterias, protozoarios, hongos y virus, carecería de ácido nucleico. Corresponde a la isoforma anormal o infectante de una glicoproteína celular normal o prion PrPc, denominación que implica partícula proteínica infectante (4-5) codificada por el huésped que se acumula en el cerebro afectado hasta ocasionar signos y síntomas.

En el humano la PrPc es codificada por un gen localizado en el brazo corto del cromosoma 20; se dispone esencialmente en la superficie neuronal a través de un anclaje glicolípido, y su función no está aún completamente establecida. Es una proteína muy conservada a través de las especies, y estaría relacionada con la comunicación y las sinapsis.

La forma infectante se denomina PrP CJD o Sc, según de cual se trate y difiere de la proteína normal esencialmente por su insolubilidad y parcial resistencia a las proteasas (ej proteinasa K). PrPc y PrPsc serían químicamente idénticas

y representarían isómeros conformacionales (6).

Se considera que la isoforma infectante deriva de la isoforma celular normal por un mecanismo postraslacional que correspondería a un cambio conformacional, un plegamiento  $\beta$  anormal (7).

Se ha señalado que si el prion es una isoforma conformacional de PrPc, las características fenotípicas serían determinadas por los genes de PrP del huésped de forma tal que cualquier cepa de prion después de varios pasajes experimentales en huésped de la misma especie se transformaría en monomórfica (6).

La transformación espontánea de PrPc a PrPsc o PrP CJD explicaría la aparición de formas esporádicas de esta enfermedad mientras que en las formas adquiridas, una pequeña cantidad de la forma infectante induce o cataliza la conversión de la isoforma normal a infectante. Este modelo de propagación del prion, que involucra una interacción proteína-proteína en forma autocatalítica estaría sustentado por estudios de conversión *in vitro* (8) así como en experiencias en animales transgénicos y estudios de genética molecular. Estudios en cultivo de tejidos indicarían que la conversión de PrP celular a PrP Sc tendría lugar en un compartimento endosomal después de la reinternalización de la proteína desde la membrana plasmática (9).

La estructura molecular idéntica de las proteínas interactuantes (misma especie) haría más propicio este mecanismo autocatalítico (8,10,11). En las formas hereditarias existen como se dijo mutaciones bien identificadas.

La PrPc tiene un peso molecular de 33-35 kDa, y se degrada completamente por efecto de la proteinasa K, mientras que la PrP CJD o Sc de igual peso molecular es resistente a la misma y se degrada sólo parcialmente en una proteína de 27-30 kDa. *In vitro*, el tratamiento de los tejidos infectados con detergentes determina la formación de lo que se ha denominado filamentos asociados a scrapie (12) con características de amiloide.

El descubrimiento de PrP 27-30 en fracciones enriquecidas de infectividad para scrapie fue paralelo a la identificación de partículas que se agregan en estructuras bastonoides de características similares al amiloide. La formación de

estas estructuras bastonoides de priones requiere proteólisis limitada en la presencia de detergente y por lo tanto son artefactos del protocolo de purificación.

Estos hallazgos llevaron a la demostración que las placas de amiloide en las patologías por priones contienen PrP. (5).

Los priones no provocan reacción inmunológica del huésped y son muy resistentes a agentes desinfectantes o esterilizantes, irradiación ultravioleta así como a reactivos que específicamente modifican los ácidos nucleicos.

Los estudios experimentales en ratones han demostrado la existencia de "cepas" del agente que se diferencian por el período de incubación así como por las características neuropatológicas. Es así que se han reconocido distintas cepas en el scrapie natural en las ovejas mientras que la BSE sería causada por una única cepa del agente. Las cepas se pueden identificar por las propiedades fisicoquímicas de la PrP Sc acumulada en el cerebro de los animales infectados y su especificidad sería codificada por diferentes conformeros de la PrP (13,14).

#### CREUTZFELDT JAKOB

La primera descripción de Creutzfeldt (2 casos) data de 1920 y la de Jakob (5 casos) de 1921, y 1923, de los cuales el caso 3 de Jakob fue sujeto a revisión neuropatológica y posterior confirmación.

Fue transmitida experimentalmente por primera vez en 1968, después del Kuru (15). Hasta el momento no hay evidencia de transmisión de la enfermedad en forma horizontal entre seres humanos excepto en la forma iatrogénica. El dato de CJD conyugal afectando a ambos miembros de una pareja (16) fue desestimado recientemente, después de efectuados estudios inmunocitoquímicos (17).

El mayor porcentaje de encefalopatías espongiiformes transmisibles ocurre en forma de CJD esporádico, no presenta mutaciones del PRNP ni antecedentes de exposición iatrogénica. Los datos epidemiológicos no avalan la posibilidad de que estos casos sean secundarios a exposición en el medio ambiente a priones humanos o animales (18).

Se han observado casos de CJ en profesionales de la salud (19) 6 médicos, incluyendo 2 neurocirujanos y 2 patólogos, 3 dentistas, 1 cirujano dental, 9 enfermeras, 3 asistentes de enfermería y 2 técnicos de histología.

#### a) *Creutzfeldt Jakob esporádico*

Suele presentar un período prodrómico de semanas o meses previos al comienzo de los signos y síntomas neurológicos, caracterizado por malestar, alteraciones del sueño, pérdida del peso, ansiedad. Alrededor de un tercio de los pacientes comienzan sus síntomas neurológicos con alteraciones del carácter, pérdida de memoria, confusión, o sea deterioro mental de grado variable; mientras que otro tercio presenta de comienzo compromiso cerebeloso o visual y el resto síntomas físicos y mentales (20). Un grupo reducido de pacientes presenta un comienzo brusco que simula a veces un accidente cerebrovascular.

En el curso de la evolución se incrementa el deterioro de las funciones corticales superiores hasta la demencia, ataxia, temblores, mioclonías y otros movimientos involuntarios. La incidencia es de un caso/1000 000/año y la evolución en general de meses a un año y excepcionalmente mayor de 2 años.

El EEG al comienzo puede ser normal o mostrar sólo desorganización de base o actividad de ondas lentas, para luego caracterizarse por actividad periódica de ondas trifásicas agudas de 1 a 2 ciclos por segundo las que estarían presentes en aproximadamente el 60-70% de los casos (21). Se ha especulado que estas alteraciones del EEG serían consecuencia de la disrupción del rol de la isoforma celular normal de PrP en la función sináptica (22). Las neuroimágenes son importantes para descartar otras patologías. La Tomografía Computada es normal o puede mostrar ligera atrofia cortical. En la Resonancia Magnética además de atrofia puede observarse alteraciones difusas no específicas en corteza y tronco e hiperintensidad en T2 en tálamo y ganglios basales en número variable de casos (79% de casos en algunas series) las que no serían específicas (23,24).

Se han descrito variantes clínicas (terminología actualmente fuera de uso): la de Heidenhain que

presenta compromiso precoz del lóbulo occipital y se caracteriza por ceguera cortical, la de Brownell-Oppenheimer con ataxia precoz y las formas amiotróficas, aunque se ha puesto en duda que estas últimas correspondan a variantes de CJD.

#### *Estudios de laboratorio:*

Harrington y col. (25,26) describieron en electroforesis en gel bi-dimensional (2-DE) la detección de 2 proteínas, p130/131 en el LCR de pacientes afectados de CJD, de peso molecular de 26 y 29 kDa y punto isoeléctrico de 5.2 y 5.1, como marcadores específicos y sensibles. Este test no se consideró apropiado para estudios de rutina en su momento.

Recientemente, se identificó p130/131 como miembros de la familia de proteínas 14-3-3, las que se localizarían en la membrana plasmática y estarían involucradas en la transducción de señales. Esto facilitó el desarrollo de un inmunoensayo para 14-3-3 el que se considera un marcador altamente sensible y específico para CJD (27) e indicaría destrucción rápida de neuronas.

Resultados similares en la identificación de p130/131 en LCR fueron reportados por Zerr y col. (28) en pacientes en etapas avanzadas de enfermedad. Estos resultados fueron comparados con la determinación de enolasa neuronal específica (NSE), concentraciones de NSE mayor de 35ng/ml fueron consideradas indicativas de CJD. Falsos positivos por determinación de NSE pueden observarse en el daño hipóxico cerebral, accidente cerebro-vascular isquémico, hematoma subdural y tumores (26).

Si se compara la sensibilidad/ especificidad de distintos elementos diagnósticos en CJD se considera que el EEG típico : 67%/81%; NSE: 79%/88%; S100: 84%/91%; proteína 130: 81%/100%; 14-3-3 protein: 96%/96% (Dr. T. Weber. Prion Diseases C.A.Meeting report. Vienna 6-7,1996)

#### *Criterios diagnósticos*

Hasta el momento actual se considera que el diagnóstico de certeza de CJ es neuropatológico; el diagnóstico clínico puede ser probable o posible.

#### *1.1 Probable CJ*

Demencia progresiva y EEG típico y por lo menos 2/4 de las siguientes características clínicas

- a) Mioclonias
- b) Disturbios visuales o cerebelosos
- c) Disfunción piramidal/extrapiramidal
- d) Mutismo akinético

#### *1.2 Probable CJ*

Similar a 1.1 pero sin EEG típico o con EEG atípico y duración menor de 2 años.

La verificación neuropatológica (autopsia o biopsia) es fundamental para sostener el diagnóstico y descartar otros diagnósticos diferenciales, esencialmente Alzheimer.

#### *Susceptibilidad genética:*

a) Las formas esporádicas e iatrogénicas de CJD se observan esencialmente en individuos que son susceptibles genéticamente. Los pacientes afectados de CJD esporádico en su mayoría son homocigotas en el codon 129 de la proteína del prion, donde existe un polimorfismo conocido de la PrP humana que sería importante en la susceptibilidad genética a las enfermedades humanas por priones (11, 29). En una serie de CJD esporádicos estudiados (73 casos), 78 % fueron homocigotas para metionina (met/met); 12% heterocigotas (met/val) y 10% homocigotas para valina (val/val), mientras que en la población normal 48% fueron met/met, 42% met/val y 10% val/val. Esto implica que en la población de CJD esporádico existe un alto porcentaje de homocigotas para metionina mientras que el resto son ya sea heterocigotas o bien homocigotas para valina (30).

b) Creutzfeldt Jakob familiar: (5 a 15% de los casos) son de herencia autosómico dominante, edad de comienzo similar en una misma familia y siempre menor que en la forma esporádica mientras que la evolución es más prolongada. Incluso en casos en que no existe historia familiar de CJD se deberían efectuar estudios de genética molecular dada la posibilidad que se trate de formas autosómicas dominantes de penetración incompleta. Por otra parte puede existir gran variación fenotípica, incluso en el seno de una misma familia, por lo que se debe investigar todo antecedente de patología neurológica psiquiátrica en la familia (31).

Durante muchos años se pensó que la alta incidencia de CJD entre judíos israelíes originales de Libia y Túnez se debía al consumo de cerebro y ojos de oveja poco cocidos, pero luego se demostró mutación del codon 200 en familias de ese origen.

Riesgo de transmisión y método de decontaminación

El material quirúrgico debe ser tratado con métodos que lo decontaminen o bien descartado. En ese sentido, dado que los métodos convencionales de esterilización y desinfección no decontaminan el agente infeccioso del CJD existen recomendaciones:

- autoclavado hidrolítico durante 1 hora a 134°-138° C o bien en el material no autoclavable debe efectuarse una decontaminación química con inmersión en hidróxido de sodio 2N (80g/litro) durante 1 hora o 1N durante 2 horas, el que es muy efectivo pero no aconsejable para material de aluminio (32). A pesar de esto el criterio actual es descartar el material quirúrgico (33).

A comienzos de 1995 el USA Food and Drug Administration determinó que todos los productos sanguíneos donados por una persona que desarrolle CJD deben ser retirados del mercado, pero no los productos estables como la albúmina. Recientes investigaciones indicarían que productos estables entre los que estaría la albúmina transmitirían el agente infeccioso de CJD (34).

La biopsia cerebral o autopsia debe ser sometida a autoclavado durante 1 hora a 134°-138° C o bien inmersión en ácido fórmico durante 1 hora seguido por fijación en formaldehído al 4% durante 48 horas para disminuir el riesgo de infección (32).

En todos los casos es conveniente guardar material congelado a -70° C para Western Blot, por si los criterios para el diagnóstico neuropatológico fueran insuficientes o se tratara de una forma atípica.

#### Neuropatología:

Macroscópicamente el cerebro puede mostrar un grado variable de atrofia cortical y dilatación ventricular. Microscópicamente, los cambios espongiiformes, gliosis y depleción neuronal comprometen además del neocórtex especialmente de lóbulos frontal y temporal, capas profundas, los núcleos de la base, tálamo, corteza cerebelosa y núcleo dentado. Estos cambios pueden no ser evidentes en raros casos a nivel de la microscopía óptica (35). En general no se observa componente inflamatorio (no lo hemos observado

en nuestro material) y la presencia de éste se describe como excepcional.

Se ha descrito en aproximadamente 10% de los casos placas de amiloide tipo kuru especialmente en el cerebelo o bien cambios neurofibrilares de tipo Alzheimer.

El estudio inmunohistoquímico con anticuerpo monoclonal para la proteína del prion no es imprescindible en los casos típicos con cambios característicos, pero es particularmente útil para la detección de los casos atípicos. El fragmento proteínico resistente (PrP) de la proteína amiloidogénica puede presentar aspecto en placa (en aprox. 4% de los casos se pueden observar en cerebro y/o cerebelo), sináptico difuso o "patchy"/perivacuolar (36). La acumulación de PrP en CJD no estaría circunscripta a las áreas del cerebro que presentan la patología diagnóstica con técnicas comunes, y no se correlaciona con la severidad de los cambios espongiiformes (37). La proteína precursora o PrPc se puede detectar en el perikaryon en cerebros normales por lo que las secciones necesitan un pretratamiento para permitir evidenciar sólo la patológica. A nivel ultraestructural, se detectan las vacuolas en el interior de procesos y próximo a la terminal sináptica o bien en el perikaryon, rodeadas por membrana conteniendo finos tabiques y material membranoso. Se han identificado también estructuras tubulovesiculares en terminales pre y postsinápticos.

#### Otros tejidos:

- Se ha detectado infectividad en varios tejidos linfoides de pacientes afectados de CJD (38) así como la presencia de PrP Sc en amígdalas de ovejas incluso en etapa preclínica de la enfermedad, lo que ha determinado que se desarrolle un test preclínico en ovejas y se postule lo mismo para el hombre (39).

#### c) Creutzfeldt Jakob iatrogénico

Se ha descrito CJ iatrogénico por inoculación directa intracerebral: trasplante de cornea, injerto de duramadre, implantación de electrodos intracerebrales y más recientemente por vía periférica por tratamiento con hormonas de glándula hipófisis de cadáver. Estas observaciones permitieron deducir que la infección directa por continuidad en el cerebro determina períodos de incubación de varios meses (hasta 120). Las características clínicas son similares al CJD es-

porádico, con una historia clínica corta, rápida demencia, signos EEG característicos y cambios espongiiformes en el cerebro. Los casos de inoculación por vía periférica presentan un período de incubación de años o décadas, como en el Kuru en el que el tiempo de incubación mínimo calculado es de 4 a 5a., una historia clínica prolongada, un síndrome predominantemente cerebeloso similar al Kuru, no alteraciones características en el EEG y demencia solo presente en etapas terminales (40). Las formas esporádicas e iatrogénicas de CJ ocurren especialmente en individuos homocigotas para el polimorfismo en el codón 129 del gen PRNP que en los casos iatrogénicos por vía periférica es de tipo Valina-Valina (VV)

#### *Incidencia en nuestro país.*

No existe, hasta el momento, un registro centralizado de los casos diagnosticados como CJ probables o posibles por parámetros clínicos. En Argentina, a pesar de nuestro borde común con Chile, donde existe alta incidencia de Creutzfeldt Jakob, existen referencias de 9 casos esporádicos publicados y/o comunicados a congresos hasta 1979 (41, 42, 43, 44).

El Dr. C. D. Gajdusek. (Premio Nobel en 1976 por su descubrimiento de nuevos mecanismos de infección y patogénesis en enfermedades humanas, esencialmente por la transmisión experimental del Kuru) visitó nuestro país, en 1983, interesándose en la verificación neuropatológica del CJ esporádico y en conocer la incidencia de éste en nuestro medio. Con ese propósito, y después de visitar los distintos departamentos bajo su dirección en el NIH (National Institute of Health, Bethesda, Maryland) establecimos un centro de referencia para diagnóstico neuropatológico de CJ y patologías relacionadas.

En 1989 publicamos juntamente con los neurólogos que refirieron los pacientes, los primeros 10 casos de biopsia y/o autopsia (45). Dos eran de origen Chileno y otro visitaba Chile con frecuencia (no se conocía enfermedad familiar en esos pacientes).

Hasta Diciembre de 1996 registramos juntamente con el Dr. G. Sevlever 12 nuevos casos neuropatológicamente verificados (no publicados) los que incluídos a los 10 publicados ascienden a 22 casos.

El rango de edad fue de 39 a 74 años y la media de 55, la relación masculino/ femenino 12:10, la duración de 3 a 24 meses, media 7 meses. Los signos y síntomas prodrómicos fueron trastornos de carácter en 12 desde semanas hasta un año de duración y compromiso neurológico de comienzo en el resto.

Los pacientes desarrollaron signos piramidales, extrapiramidales, cerebelosos, y/o visuales. La triada de demencia, mioclonías y EEG periódico estaba presente en el momento de la biopsia y/o autopsia en 15 de los casos.

Dos casos tuvieron un comienzo agudo tipo accidente cerebro vascular. La TC y la RM en los que se efectuó, mostraron grados variables, de leves a moderados, de atrofia cortical en general difusa y excepcionalmente unilateral. En uno de los casos se observó hiperintensidad cortical unilateral parieto-occipital en T2 y en otro hiperintensidad bilateral en ganglios de la base. Se estudiaron 17 biopsias y 6 autopsias demostrándose en todos signos inequívocos de cambios espongiiformes, depleción neuronal y proliferación astrogliosa de la corteza y/o núcleos grises a nivel óptico y ultraestructural, así como ligera sobrecarga de lipofucsina neuronal, con relativa preservación de la sustancia blanca, pero no placas de amiloide (fig.1 a 6). Las características clínicas y neuropatológicas de nuestros casos son similares a las reportadas en la bibliografía como formas clásicas de CJ esporádico.

Tenemos además referencias de por lo menos 12 casos

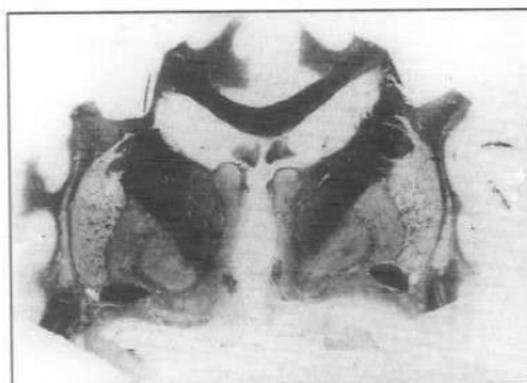


Fig. 1: Dilatación ventricular bilateral y simétrica con preservación de la mielina. Heidenhain Woelke.

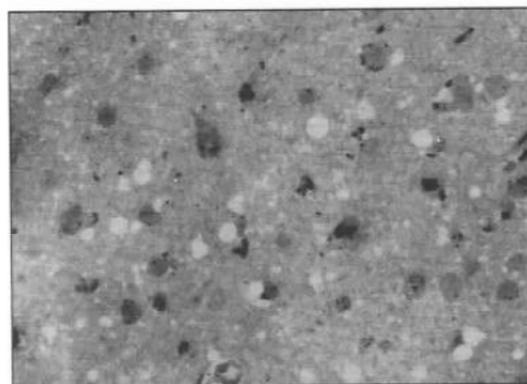


Fig. 2: Vacuolas circulares bien delimitadas de diferente tamaño, algunas confluentes, ligera sobrecarga de lipofucsina en neuronas remanentes. Corteza Frontal-Epon, corte semifino, Azul de Metileno.

verificados neuropatológicamente en otros 4 centros en Argentina durante el mismo período hasta Abril de 1996 (comunicación personal Dres. E. Caputi, 3 casos; M. Jones, 2 casos; H. Molina, 6 casos y R. Theaux 1 caso).

La incidencia de CJ probable o posible (diagnóstico clínico) no está documentada porque hasta el momento no existe control de incidencia de CJ en Argentina.

### NUEVA VARIANTE (vCJD)

La epidemia de encefalopatía espongiforme bovina (BSE) (46) en el reino Unido, ocasionó la muerte desde 1986 de decenas de miles de vacunos, con el consiguiente desastre económico para la industria de la carne, así como la preocupación incluso sobre productos farmacéuticos conteniendo productos de origen vacuno. Planteada la hipotética posibilidad que esto pudiera representar un riesgo para los humanos,

se estableció el National CJD Surveillance Unit en Edimburgo.

Se identificaron 3 casos de CJD esporádicos en granjeros que estuvieron en contacto con ganado afectado por BSE (47,48), pero desde 1990 en que se estableció el National CJD Surveillance Unit hasta

por lo menos Septiembre de 1995 no se identificaron casos de CJD en trabajadores de mataderos, carniceros, o cirujanos veterinarios, los que hipotéticamente tendrían más riesgo en relación a BSE (49).

Los pacientes afectados de CJD que trabajaron en granjas en el momento del diagnóstico fueron 5 en Francia, 2 en Alemania, 3 en Italia y 3 como se dijo en el Reino Unido. En 5 países de la Comunidad Europea (Francia, Alemania Italia, Holanda y Reino Unido) la incidencia de CJD se estimó como similar en 1993 (50). Esta incidencia se mantuvo en 1994 similar a la de 1993. Surge del estudio efectuado por el sistema de vigilancia epidemiológica establecido por la Comunidad Europea, que no hay incremento en el riesgo de adquirir CJD en granjeros en el Reino Unido por ocasional contacto ocupacional con BSE (51).

Se estableció que la ingestión de alimentos contaminados con BSE determina infección en distintas especies tales como la encefalopatía espongiforme felina y de los ungulados exóticos.

Los estudios que se habían efectuado en ratones transgénicos que expresan la PrP humana, parecían indicar que los PrP de origen bovino serían ineficientes para inducir la producción de PrP humano (incluso en estos animales en los que no existiría un problema de barrera de especie) por lo que se desconocía la capacidad patógena de estos priones bovinos para los humanos (52).

En el número del 6 de Abril de 1996, de la revista Lancet (53), los profesionales de la National CJD Surveillance Unit de Edimburgo, comunicaron 10 casos de una nueva variante atípica de

CJ (vCJD) que afectan a gente más joven y de duración promedio mayor que el CJD clásico, de edad al comienzo de los síntomas de 16 a 39a, media al fallecimiento de 29a., tiempo de evolución de 7.5m a 25m.

Los pacientes reportados presentaban alteración del comportamiento y trastornos psiquiátricos de duración prolongada,

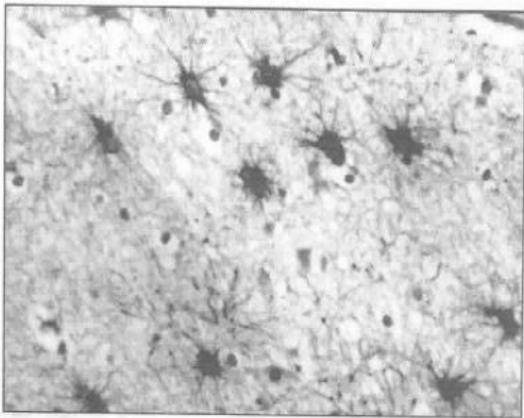


Fig. 3: Hiperplasia de astrocitos, cambios espongiiformes severos y depleción neuronal. Corteza Frontal. Inmunomarcación para GFAP.

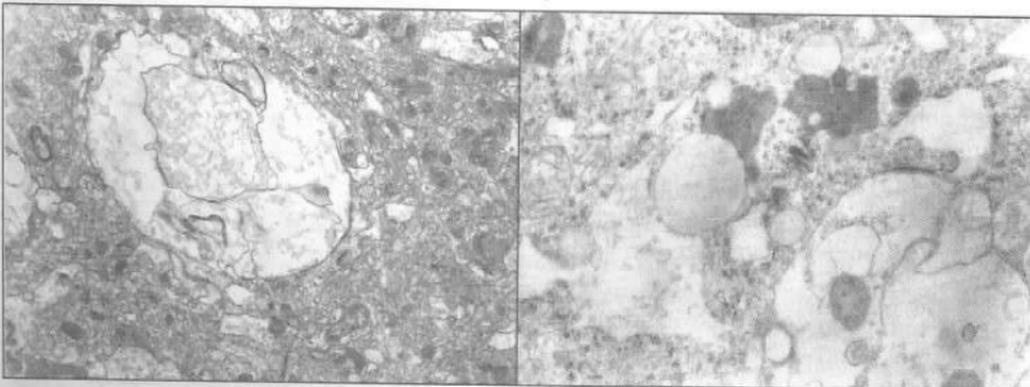


Fig. 4: Proceso distendido, vacuolado, conteniendo material membranoso y granular. Corteza Frontal. Microscopía Electrónica. Fig. 5: (izquierda) Lipofucsina en el citoplasma neuronal y un proceso distendido presináptico conteniendo puentes membranosos y material granular en su interior. Corteza. Microscopía Electrónica.

seguidos por ataxia presentaron mioclonías y coreoatetosis tardíamente en la evolución del proceso, pero no EEG típico. La biopsia o autopsia de cerebro mostró además de los cambios espongiiformes, abundantes placas de amiloide rodeadas por vacuolas, así como extensa marcación con el anticuerpo para la PrP.

Estos datos plantearon la posibilidad de un hipotético nuevo factor de riesgo, que podría estar relacionado con la ingesta de derivados bovinos previo a su exclusión de la dieta en 1989 (54).

Poco después se comunicó un caso similar de Francia en un paciente de 26a. (55). Hasta el momento son 14 los casos de vCJD en el Reino Unido diagnosticados por biopsia o autopsia (2 de los cuales estaban aún con vida en Octubre 1966). No se detectaron mutaciones (53) ni antecedentes de exposición iatrogénica. Todos los casos estudiados (8/10 hasta Mayo 1996) fueron homocigotas para la metionina (MM) en el codon 129 de la PrP.

La Organización Mundial de la Salud convocó a expertos en Ginebra, Mayo 14-16, 1996, para una Consulta sobre las Características Clínicas y Neuropatológicas de la Nueva Variante de CJD y otras TSE s del hombre y de los animales.

Entre las conclusiones debe mencionarse la necesidad de establecer un sistema de vigilancia o control para conocer la distribución geográfica de la nueva variante, así como la verdadera incidencia de CJD, todos los tipos y subtipos. Así mismo se aconsejó implementar el estudio de los posibles factores de riesgo o posible relación con TSE's de los animales. El protocolo sugerido es el de la Comunidad Europea a ese efecto. Se promovió la cooperación internacional, así como la investigación de las TSEs en otras especies, evaluar la investigación en desarrollo así como definir y recomendar algunos aspectos de la misma en ciencia básica, estudios de transmisión, métodos diagnósticos en LCR etc., estudios de bioseguridad, estudios genéticos y posibles tratamientos.

La Comisión de Comunidades Europeas-Bio-med 1-Acción Concertada se reunió en Viena el 31 de mayo y el 5 y 6 de diciembre de 1996. "Las enfermedades humanas por priones: desde la neuropatología a la patobiología y genética molecular". En dicha reunión además de comunicaciones científicas originales sobre transmisión

en animales, natural y experimental y epidemiología de CJD en el Reino Unido, se presentaron breves reportes nacionales sobre variaciones fenotípicas del CJD, no registrándose casos de vCJD fuera del Reino Unido y Francia.

El Centro de Estados Unidos de Norteamérica para Control y Prevención de Enfermedades (CDC) estableció un sistema de vigilancia en lo que respecta a la vCJD, no registrándose hasta el momento casos de vCJD. El sistema de vigilancia se implementó asimismo en Canadá. En nuestro país, en una encuesta que efectuáramos a otros neuropatólogos y a la Presidencia de la Sociedad de Neurología en Abril 1996 por solicitud de la OMS, a propósito de ser convocados para la Consulta del 14-16 de Abril de 1996 en Ginebra, no se habían registrado casos de vCJD. En una encuesta que efectuamos también a neuropatólogos de Chile, Brasil, México, Venezuela y Uruguay para la misma reunión, no se habían registrado casos de vCJD.

En nuestro país así como en el resto de Latinoamérica no se ha implementado aún a partir de los organismos oficiales de Salud Pública, la vigilancia epidemiológica de CJD y patologías asociadas. En lo que respecta a la encefalopatía espongiiforme bovina el Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA) ha efectuado un análisis de factores de riesgo concluyendo que es altamente improbable que exista BSE o Scrapie en nuestro país o bien que ésta se origine por vía alimentaria en el futuro próximo (56).

El Ministerio de Economía a través de la Secretaría de Agricultura, Pesca y Alimentación ha realizado publicaciones informativas sobre BSE y organizado un Seminario Taller Internacional-Encefalopatía Espongiiforme Bovina (BSE) para Mercosur, los días 20 y 21 de Junio de 1996, en el que participamos presentando nuestra experiencia neuropatológica.

Asimismo, la mencionada Secretaría ha creado una Comisión Asesora de Encefalopatías Espongiiformes constituida por expertos del Reino Unido, Estados Unidos de Norteamérica, Suiza y Argentina.

#### *Modelos experimentales e investigaciones recientes*

La transmisión experimental de enfermedades por priones presenta el inconveniente de la "ba-

rera de especies" que sería responsable de los largos períodos de incubación y que estaría en relación con el grado de homología entre el huésped, el inoculo y la cepa del agente.

La posibilidad de transmisión experimental en ratones no transgénicos es en bajo porcentaje de casos y el tiempo de incubación más prolongado que en los transgénicos. Los modelos de animales transgénicos constituyen un modelo útil para investigar la posibilidad que la BSE sea transmisible a humanos. Los ratones transgénicos que expresan el PrP humano, al ser inoculados con CJD producen PrP Sc y priones humanos.

- En primer lugar se estudiaron ratones quimera que expresaban tanto el PrP del ratón como el humano y al ser inoculados con BSE se produjo solo PrPSc de ratón y no se modificó el período de incubación. En una etapa posterior a este estudio se repitió el experimento en ratones transgénicos que expresaban sólo el PrP humano (52). Esos experimentos están en marcha, pero mientras que los mismos ratones inoculados con CJD desarrollan la enfermedad en aproximadamente 200 días, se supone que el tiempo para desarrollar la enfermedad (si lo hicieran) al ser inoculados con BSE sería más prolongado. Lasmézas y colaboradores (57) transmitieron BSE intracerebral a macacos obteniendo un fenotipo clinicopatológico similar a vCJD.

Investigaciones recientes de Collinge y colaboradores (54) demostraron que el CJD esporádico e iatrogénico se asocia con 3 características o tipos distintos de PrP proteasa resistente cuando se los estudia por Western blot. El tipo 1 y 2 se observan en el CJD esporádico como ya se había reconocido (60) y en algunos casos iatrogénicos. El tipo 3 se observa en las formas adquiridas por exposición periférica a priones (ej. inoculación hormonal). La nueva variante, vCJD, se asocia con un pattern muy característico de glicosilación distinto de los anteriores (correspondería a un tipo 4).

La transmisión de BSE a ratones endocriados (wild- FVB y C57BL) produce un pattern de glicosilación semejante a vCJD. Esto es similar a lo que se observa en BSE experimental en macacos (57) y en BSE naturalmente adquirida en gatos domésticos.

Dado que la BSE no ha sido transmitida aún a ratones transgénicos que expresen sólo el PrP

humano (54) los estudios no son extrapolables.

Las observaciones de Collinge y col constituyen elementos a favor que la BSE (que se habría originado por incorporación de proteína animal de oveja con scrapie al alimento comercial del ganado) se hubiera transmitido a seres humanos, pero estas observaciones se verían reforzadas si vCJD y BSE presentasen características similares de su PrP infectante al ser transmitidas a ratones transgénicos que expresen el PrP humano.

Aguzzi y Weissman (6) señalan además de comentar las observaciones de Collinge, que sería de interés la investigación de la forma de proteína infectante (PrP) tipo 4 similar a vCJD y BSE en las encefalopatías de pacientes de edad avanzada, dado que la nueva variante no se ha evidenciado en este grupo etario.

En lo que respecta a los estudios en ratones transgénicos que expresan el PrP humano, la transmisión de los tipos 1, 2, 3 de CJD demuestra persistencia o conversión del tipo de cepa dependiente del genotipo del PRNP codon129, lo que constituye un argumento a favor de la hipótesis de la infectividad de la proteína por sí misma e indicaría que las variaciones de cepa estarían codificadas por una combinación de conformación de PrP y glicosilación.

#### GERSTMANN-STRAUSSLER- SHEINKER

La descripción de esta patología data de 1928/1936. Es autonómico dominante con mutaciones según los distintos pedigree en los codones 102, 105, 117, 198 y 217 del gen que codifica la PrP.

La edad de comienzo es 3ª a 7ª década y la duración media es de 5 años, o sea que tiene una duración más prolongada, en general el doble que el CJ familiar.

La incidencia calculada de 2/100.000.000 probablemente esté subestimada por la existencia de formas atípicas. Las manifestaciones clínicas son de amplio espectro, presenta ataxia, signos extrapiramidales, paraparesia espástica y demencia. Las mioclonías y alteraciones EEG son poco frecuentes. Puede incluso tener un cuadro clínico similar a las atrofas olivopontocerebelosas, degeneración espinocerebelosa o demencia (58, 59)

En el estudio neuropatológico, presenta placas características de amiloide, especialmente prominentes en cerebelo unicéntricas tipo Kuru o multicéntricas reactivas con anticuerpos anti PrP. Los cambios espongiiformes más evidentes en los casos de mutación del codon 102, pueden variar en incidencia dentro de una misma familia; en general son menos evidentes que en el CJ. La hiperplasia e hipertrofia astrogliosa y depleción neuronal son constantes. Además pueden observarse cambios neurofibrilares en casos con mutaciones del codon 145, 198 y 217. Las alteraciones neurofibrilares en neocórtex en los casos de mutación del codon 198 (Indiana kindred) se asocian a las placas de amiloide PrP de forma tal que son similares a las placas de Alzheimer. Las neuritas reaccionan con anticuerpos para tau, ubiquitina y para la proteína  $\beta$  precursora de amiloide (1).

La transmisión experimental de GSS con mutación en el codon 102 se efectuó en 1981 (59).

La composición bioquímica del amiloide PrP fue primero establecida a partir de extracciones de muestras de cerebro de pacientes de la progenie de Indiana de GSS con mutación 198, (60) demostrándose que la proteína amiloide en estos casos estaba constituida por los fragmentos truncados N y C terminal de la PrP efectuándose inmunotinción de los cerebros con anticuerpos contra los diferentes péptidos sintéticos homólogos a determinados residuos de la PrP. Técnicas de Immunogold al microscopio electrónico mostraron que los anticuerpos para la región del medio de PrP marcaba fibrillas del centro de las placas de amiloide, mientras que anticuerpos para los epítipes N y C terminal marcaban sólo la periferia de éstas y además marcación dispersa en el neuropilo, sugiriendo que además de las placas de amiloide existirían acúmulos de PrP sin características de amiloide. Posteriormente fueron caracterizados los amiloides de GSS con otras mutaciones (1).

#### ANGIOPATÍA AMILOIDEA CEREBRAL POR PRIONES (PrP-CAA)

Se describió en un paciente con demencia y está caracterizada por la presencia de cambios neurofibrilares asociados a angiopatía amiloide por priones (61).

#### KURU

La descripción clínica y epidemiológica del Kuru se efectuó en 1957 por Gajdusek y Zigas, y la neuropatológica por Klatzo I, Gajdusek D y Zigas V en 1959.

Klatzo destacó las semejanzas neuropatológicas entre el Kuru y el CJ (considerado hasta entonces una enfermedad degenerativa del Sistema Nervioso Central), mientras que Hadlow W, un neuropatólogo veterinario encontró similitud neuropatológica entre el Scrapie y el Kuru en 1959, facilitando así que se estableciera un nexo entre estas patologías. El Kuru fue la primer encefalopatía espongiiforme humana que se transmitió experimentalmente al chimpancé por vía intracerebral por Gajdusek DC, Gibbs J, Alpers M en 1966 y posteriormente por vía oral. (58)

Restringido a los Papuas de Nueva Guinea, los que practicaban el canibalismo como ritual mortuario y contraían la infección probablemente por lesiones cutáneas o bien por vía oral, prácticamente ha desaparecido con la cesación de dicha práctica. El tiempo de incubación calculado es de hasta 30/35 años.

Se caracteriza esencialmente por temblor, ataxia cerebelosa, alteraciones piramidales y extrapiramidales con movimientos involuntarios de tipo coreo-atetoides, episodios de risa inmotivada y alteraciones mentales.

Presenta en la autopsia además de las alteraciones comunes a las encefalopatías espongiiformes, en aproximadamente 75% de los casos, placas de amiloide en el SNC, esencialmente en corteza cerebelosa, inmunoreactivas para PrP, denominadas "placas Kuru" caracterizadas por presentar un centro rodeado por un halo de fibrillas orientadas radialmente.

#### INSOMNIO FATAL FAMILIAR (IFF)

Descrito en 1986 (62) se caracteriza por presentar una mutación en PRNP que determina sustitución de asparagina por ácido aspártico en el codon 178 de la PrP, asociado a metionina en el codon polimórfico 129 en el alelo mutado mientras que el CJD con igual mutación en el 178 de la PRNP, se asocia a valina en el 129. El curso de ambas enfermedades sería más corto en los homocigotas del codon 129.

La edad de comienzo de los casos descritos es de alrededor de 48 años y la media de duración de aproximadamente 13 meses.

Presenta alteraciones que se evidencian en el estudio polisomnográfico con reducción severa y total del tiempo del sueño. Suele presentar alteraciones del sistema nervioso autónomo caracterizadas por impotencia, hipertermia, sudoración y lagrimeo.

A nivel endocrino se ha detectado elevación de catecolaminas y del nivel plasmático de cortisol, reducción de oscilaciones circadianas de las hormonas acopladas al sueño STH y PRL y de las no acopladas tales como cortisol y ACTH, así como pérdida de las variaciones de luz / oscuridad de la melatonina.

Presenta además disartria, disfagia, signos cerebelosos y mioclonías así como enlentecimiento en el EEG.

Los núcleos anterior ventral y mediodorsal del tálamo presentan depleción neuronal y gliosis y puede haber cambios menores en corteza cerebral, cerebelosa y olivas bulbares. La corteza cerebral puede mostrar cambios espongiiformes leves.

Estudios de distribución regional de PrP proteasa -resistente indicarían que en FFI el fenotipo patológico es el resultado de cierta variabilidad en diferentes regiones del cerebro del tiempo y grado de acumulación y de vulnera-

bilidad a la presencia de PrP proteasa resistente. La presencia de menor concentración de PrP resistente a la proteasa en FFI en relación a CJD esporádico y familiar, especialmente en neocortex de pacientes con duración corta e intermedia de la enfermedad, material que fue supuestamente utilizado para estudios de transmisibilidad, explicaría numerosos intentos infructuosos de transmisión en animales de laboratorio (63), con la excepción de un caso atípico de FFI que fue transmitido en ratones (no transgénicos) (64).

Recientemente Collinge y Colaboradores (65) reportaron transmisión de FFI en ratones transgénicos que expresan la PrP humana.

#### Agradecimientos

Agradezco la referencia de biopsias y/o autopsias (datos no publicados) correspondientes a los casos 11 Dr.C. Macías, 12 Dra. Leonor Gold, Dr. Alfredo Thompson, 13 Dr.N. Campero, 14 Dr. C. Carracedo, 15 Dr. C.Dallia, 16 Dr. E.A. Karol, 17 Dres. A. Piedrabuena, A. Figari, 18 Dres. M.Fernández Pardal, R. Reisin, O. Martínez, 19 H. O. Chade, L. Rando, 20 Dres.I. Guzman, R. Femminini, M. López, 21 Dr. J. Vila y 22 Dr. F. Amante y sus colaboradores de los respectivos servicios de neurología.

En la publicación que incluía los primeros 10 casos referidos (Taratuto y colaboradores, Medicina 49:293-303, 1989), se omitió por error entre los autores al Dr. F. Micheli que refirió el caso 3.

#### BIBLIOGRAFÍA

1. B.Ghetti, P. Piccardo, B. Frangiones, O.Bugiani, G. Giaccone, K.Young, F.Prelli, M.R.Farlow, S.R.Doulouhy, F.Tagliavini. Prion Protein Amyloidosis. *Brain Pathology* 6:127-145-1996.
2. L.Monnari, SG Chen, P Brown. Fatal Familial Insomnia and Familial Creutzfeldt Jakob Disease: different prion proteins determined by DNA polymorfism. *Proc Natl Acad.Sci (USA)* 91: 2839-2942, 1994.
3. P Brown. The Phenotypic Expression of different Mutations. *Rev Neurol Paris* 148: 5; 317-327, 1992.
4. S.B.Prusiner. Novel Proteinaceous Infectious Particles cause Scrapie. *Science* 216:136-144, 1982.
5. S.B.Prusiner. Molecular Biology of Prion Diseases. *Science* 252,1515-1522 1991.
6. A. Aguzzi, Ch. Weissmann. A suspicious signature. *Nature* 383: 666-667, 1996.
7. KM Pan, M Baldwin, J Nguyen, M Gasset, A Serban, D Groth, I Mehlhorm, Z Huang, RJ Fletterick, FE Cohen, SB Prusiner. Conversion of a-helices into b-sheets features in the formation of the scrapie prion proteins. *Proc Natl Acad Sci. USA* 90, 10962-10966, 1993.
8. DA Kociske, JH Corne, SA Priola, B Chesebro, GJ Raymond, PT Lansbury, B Caughey. Cell-free formation of protease resistant prion protein. *Nature* 370: 471-474, 1994.
9. A Taraboulos, AJ Raeber, DR Borchelt, D Serban, SB Prusiner. Synthesis and trafficking of prion proteins in cultured cells. *Mol Biol Cell* 3:851-863, 1992.
10. C Weissmann. The prion's progress. *Nature* 349, 569-571, 1991.

11. MS Palmer, AJ Dryden, JT Hughes, J Collinge. Homozygous prion protein genotype predisposes to sporadic Creutzfeldt-Jakob disease. *Nature* 352: 340-342, 1991.
12. P.A. Merz, RG Rohwer, R Kacsak, HM Wisniewski, RA Somerville, CJ Gibbs, DC Gajdusek. Infection-Specific Particle from the unconventional slow Virus Disease. *Science* 225: 437-440, 1984.
13. RF Marsh, RH Kimberlin. Comparison of Scrapie and Transmissible Mink Encephalopathy in Hatters II Clinical Signs, Pathology and Pathogenesis. *J Infect Dis.* 131:104-110, 1975.
14. RA Bessen, DA Kocisko, GJ Raymond, S Nandan, PT Lansbury, B Caughey. Non-Genetic propagation of strain-specific properties of scrapie prion protein. *Nature* 375: 698-700, 1995.
15. CJ Gibbs Jr, DC Gajdusek, DM Asher, et al. Creutzfeldt Jakob Disease: Transmission to the Chimpanzee. *Science* 161: 388-389, 1968.
16. K Jellinger, F Seitelberger, WD Heiss, W Holczabek. Konjugale Form der subakuten spongiosen Enzephalopathie. *Wien Klin Wochenschr* 84: 245-249, 1972.
17. JA Hainfellner, K Jellinger, H Budka. Testing for prion protein does not confirm previously reported conjugal CJD. *The Lancet* 347: 616-617, 1996.
18. P Brown, F Cathala, RF Raubertas, DC Gajdusek, P Castaigne. The epidemiology of Creutzfeldt-Jakob disease: conclusion of a 15-year investigation in France and review of the world literature. *Neurology* 37:1987
19. JR Berger, J Noble. Creutzfeldt- Jakob disease in a physician: A review of the disorder in health care workers. *Neurology* 43:205-206,1993.
20. P Brown. *Neurodegenerative Diseases*, D B Caine Editor WB Saunders, Philadelphia 1994 pag 839-876.
21. E Bortone, L Bettoni, C Giorgi, MG Terzano, GR Trabattoni, D Mancia Reliability of EEG in the diagnosis of Creutzfeldt- Jakob disease. *Electroenceph Clin. Neurophysiol.* 90:323-330, 1994.
22. J Collinge, MA Whittington, KCL Sidle, CJ Smith, MS Palmer, AR Clarke JGR Jeffrey. Prion protein is necessary for normal synaptic function. *Nature* 370: 295-297, 1994.
23. K Yamamoto, M Morimatsu. Increased signal in basal ganglia and white matter on magnetic resonance imaging in Creutzfeldt-Jakob disease. *Ann Neurol* 32:114, 1992.
24. M Zeidler, RG Will, JW Ironside. Magnetic resonance imaging is not a sensitive test for Creutzfeldt-Jakob disease. *BMJ* 312:844, 1996.
25. MG Harrington, CR Merrill, DM Asher, DC Gajdusek. Abnormal proteins in the cerebrospinal fluid of patients with Creutzfeldt Jakob disease. *N Engl. J. Med* 315:279-83, 1986.
26. KS Blisard, LE Davis, MG Harrington, JK Lovell, M Kornfeld, ML Berger Pre-mortem diagnosis of Creutzfeldt- Jakob disease by detection of abnormal cerebrospinal fluid marker for transmissible spongiform encephalopathies. *N.Engl.J. Med* 335: 924-30, 1996.
27. G Hsich, K Kenny, CJJ Gibbs, KH Lee, MG Harrington. 14-3-3 protein: a cerebrospinal fluid marker for transmissible spongiform encephalopathies *N.Engl J. Med* 335: 924-30, 1996.
28. Y Zerr, M Bodemer, M Otto, S Poser, O Windl, HA Kretschmar, O Gefeller, T Weber. Diagnosis of Creutzfeldt- Jakob disease by two-dimensional gel electrophoresis of cerebrospinal fluid. *Lancet*, 348: 846-849,1996.
29. P Brown, L Cervenáková, LG Goldfarb, WR McCombie, R Rubenstein, RG Will, M Pocchiari, JF Martínez-Lage, C Scalici, C Masullo, G Graupera, J Ligan, DC Gajdusek. Iatrogenic Creutzfeldt-Jakob disease: an example of the interplay between ancient genes and modern medicine. *Neurology* 44: 291-293,1994.
30. M Pocchiari. Prions and related neurological diseases. *Molec Aspects Med* 15:195-291, 1994.
31. J Collinge, J Brown, J Hardy, et al. Inherited prion disease with 144 base pair gene insertion: clinical and pathological features. *Brain* 115: 687-710, 1992.
32. Budka et al. Tissue handling in Suspected Creutzfeldt-Jakob Disease and Other human Spongiform Encephalopathies ( Prion Diseases). Consensus report. *Brain Pathology* 5:319-322, 1995.
33. M Farrington. Use of surgical instruments in Creutzfeldt Jakob disease. *Lancet* 345:194,1995.
34. JY Nau. CJD and albumin? *Lancet* 345: 18: 442, 1995.
35. J Collinge, F Owen, M Poulter y col: Prion dementia without characteristic pathology. *Lancet* 336:7-9, 1990.
36. H Budka, A Aguzzi, P Brown, JM Brucher, O Bugiani, F Gullota, M Haltia, JJ Hauw, JW Ironside, K Jellinger, HA Kretschmar, PL Lantos, C Masullo, W Scholte, J Tateishi, RO Weller RO. Neuropathological Diagnostic Criteria for Creutzfeldt Jakob Disease (CJD) and Other Human Spongiform Encephalopathies. *Brain Pathology* 5:459-466, 1995.
37. JW Ironside. Review: Creutzfeldt- Jakob Disease. *Brain Pathology* 6:379-388,1996.
38. P Brown, CJ Gibbs, P Rodgers-Johnson, D M Asher, MP Sulima, A Bacote, LG Goldfarb, DC Gajdusek. Human Spongiform Encephalopathy: The National Institutes of Health Series of 300 cases of Experimentally Transmitted Disease. *Ann Neurol* 35: 513-519, 1994.

39. B.E.C. Schreuder, L.J.M. van Keulen, M.E.W. Vromans, J.P.M. Langeveld, M.A.Smits. Preclinical test for prion diseases, *Nature* 381:563,1996.
40. P Brown, MA Preece, RG Will. Friendly fire in medicine: hormones, homografts and Creutzfeldt- Jakob disease. *Lancet* 340:24-27, 1992.
41. V Dimitri, J Aranovich. Contribución al conocimiento de la degeneración córticoespinal o "pseudoesclerosis espástica de A. Jakob. *Rev Neurol Arg* 10:225,1945.
42. GRP Abiusi, A Scarlatti, A Salama, JC Ortiz de Zárate. Encefalopatía esponjosa presenil o Enfermedad de Jakob-Creutzfeldt. *Rev Neurol Arg* 4:16,1978.
43. M Sarcuna, E Hiskin. Aporte a trabajos presentados sobre enfermedad de Creutzfeldt Jakob: Nuestra experiencia en dos casos. Formas clínicas. Resúmenes de trabajos. *Actas XVII Congreso Argentino de Neurología*, 1976.
44. G Nogueira, A Sundblad, O Gomez Molina. Letters to the Editor *Archives of Neurology* 36: 181,1979.
45. AL Taratuto, P Piccardo, R Leiguarda, R Granillo, A. Monti, A. Scarlatti, A. Leits, C. Morasso, C. Marquez Vigo, J.Vila, A. Gutierrez. Creutzfeldt Jakob Disease. Report of 10 neuropathologically verified cases in Argentina. *Medicina* 49:293-303, 1989.
46. GAH Wells, JW Wilesmith. The neuropathology and Epidemiology of Bovine Spongiform Encephalopathy. *Brain Pathol.* 5:91-103, 1995.
47. SJ Sawcer, GM Yuill, TFG Esmonde, et al. Creutzfeldt-Jakob disease in an individual occupationally exposed to BSE. *Lancet* 341:642, 1993.
48. PTG Davies, S Jahfar, IT Ferguson, O Windl. Creutzfeldt- Jakob disease in individual occupationally exposed to BSE. *Lancet* 342:680, 1993.
49. PEM Smith, M Zeidler, JW Ironside, P Estibeiro, TH Moss. Creutzfeldt- Jakob disease in a dairy farmer. *Lancet* 346:898, 1995
50. A Alperovitch, P Brown, T Weber, M Pocchiari, A Hofman, RG Will. Incidence of Creutzfeldt- Jakob disease in Europe 1993. *Lancet* 343: 918,
51. N Delasnerie-Laupretre, S Poser, M Pocchiari, WM Wientjens, R Will. Creutzfeldt-Jakob disease in Europe. *Lancet* 346: 898, 1995.
52. J Collinge, MS Palmer, KCL Sidle, AF Hill, I Gorland, J Meads, E Asante, R Bradley, LJ Doey, PL Lantos. Unaltered susceptibility to BSE in transgenic mice expressing human prion protein. *Nature* 378: 779-783, 1995.
53. RG Will, JW Ironside, M Zeidler, S. N. Cousens, K. Estibeiro, A. Alperovitch, S. Poser, M. Pocchiari, A. Hofman, P. G. Smith. A new variant of Creutzfeldt-Jakob disease in the UK. *Lancet* 347: 921-925,1996.
54. J. Collinge, K.C.L. Sidle, J.Meads, J.Ironside, A.F. Hill. Molecular analysis of prion strain variation and the etiology of "new variant" CJD. *Nature* 383: 685-690, 1996.
55. G. Chazot, E.Broussolle, Cl Lapras, T.Blattler, A.A. Guzzi, N. Kopp. New variant in young French man. *Lancet* 347: 1181, 1996.
56. A.A Schudel, BJ Carrillo, EJ Gimeno, E.L Weber, J. Blanco Viera, C. Van Gelderen, E. Ulloa, A.Nader, B.G.Cané. Bovine spongiform encephalopathy surveillance in Argentina. *Rev. sci. tech. Off. Int. Epiz.*13(3): 801-818, 1994.
57. CI Lasmezas, JP Deslys, R Demalmay, K Adjou, F Lamoury, D Dormont, O Robain, J Ironside, JJ Hauw. BSE transmission to macaques. *Nature* 381: 743-744, 1996.
58. DC Gajdusek. (1990) Subacute spongiform encephalopathies: transmissible cerebral amyloidoses caused by unconventional viruses. In *Virology*, Fields BN, Knipe DM (eds), pp 2289-2324, Raven press, Ltd; New York.
59. CL Masters, DC Gajdusek, CJ Gibbs Jr. Creutzfeldt Jakob disease virus isolations from the Gerstmann-Straussler syndrome with an analysis of the various forms of amyloid plaques deposition in the virus induced spongiform encephalopathies. *Brain* 104:559-588, 1981.
60. K Hsiao, SR Dlouhy, MR Farlow, C Cass, M Da Costa, PM Conneally, ME Hodes, B Ghetti, SB Prusiner. Mutant prion proteins in Gerstmann Straussler heimer disease with neurofibrillary tangles. *Nature Genet.* 1:68-71, 1992.
61. B Ghetti, P Piccardo, MG Spillantini, Y Ichimaya, M Porro, F Perini, T Kitamoto, J Tateishi, C Seiler, B Frangione, O Bugiani, G Giaccone, F Prelli, M Goedert, SR Dlouhy, F Tagliavini. Vascular variant of prion protein cerebral amyloidosis with t-positive neurofibrillary tangles: The phenotype of the stop codon 145 mutation in PRNP. *Proc Natl Acad Sci USA* 93:744-748, 1996.
62. E Lugaressi, P Medori, P Montagna, A Baruzzi, P Cortelli, A Lugaressi, P Tumper, M Zucconi, P Gambetti. Fatal Familial insomnia and dysautonomia with selective degeneration of thalamic nuclei. *New Engl J Med* 315:997-1003, 1986.
63. P Parchi, R Castellani, P Cortelli, P Montagna y col. Regional Distribution of Protease-resistant Prion Protein in Fatal Familial Insomnia. *Ann Neurol* 38:21-29, 1995.
64. J. Tateishi, T Kitamoto et al. First experimental familial insomnia. *Nature* 376:434-435, 1995.
65. J Collinge, MS Palmer, KC Sidle, Y Gowland, R Medori, J Ironside, P Lantos. Transmission of fatal familial insomnia to laboratory animals. *Lancet* 346: 569-570,19