

ACTUALIZACIÓN EN ENCEFALOPATÍAS ESPONGIFORMES TRANSMISIBLES

Los últimos fallecimientos ocurridos en España debidos a la variante de la enfermedad de Creutzfeldt-Jakob (vECJ), asociada a la Encefalopatía Espongiforme Bovina (EEB), han vuelto a traer al primer plano de la actualidad a esta enfermedad. En el mes de Abril se hizo pública la existencia de dos casos en León de personas cuyas muertes tuvieron lugar en Diciembre de 2007 y Febrero de 2008 respectivamente, y que hacían subir a tres el número de casos de este tipo en nuestro país tras la primera persona que desarrolló la enfermedad y que falleció en julio de 2005 en Madrid.

PROF. DR. VÍCTOR BRIONES DIESTE

Centro de Vigilancia Sanitaria

Facultad de Veterinaria

Universidad Complutense de Madrid

Según el Registro Nacional de Encefalopatías Espongiformes Transmisibles Humanas del Instituto Carlos III, en su informe de situación de 25 de septiembre de 2008, "el sistema de vigilancia identificó entre 2005 y 2008 cuatro casos confirmados de 26, 41, 50 y 64 años, ciudadanos españoles, residentes en las comunidades de Madrid y Castilla y León. En general, las encuestas epidemiológicas no revelaron antecedentes de estancia en el Reino Unido ni recepción de sangre o derivados sanguíneos. Los tres últimos casos eran residentes en la provincia de León, dos de ellos madre e hijo (ambos PrP 2B) que compartían hábitos dietéticos con consumo de cerebro de vacuno".

Siguiendo a la misma fuente, hasta el momento se han detectado en total algo más de 200 casos de la enfermedad. El mayor número corresponde a Reino Unido, con 163 casos primarios (y 3 secundarios), seguido de Francia, con 23; Irlanda (4), Estados Unidos (3), Holanda (2), Portugal (2), Italia (1), Canadá (1), Arabia Saudí (1). Y los citados en España.

Por su parte, la EEB afecta al ganado vacuno y fue reconocida como enfermedad específica del ganado

en 1985 en el Reino Unido, donde se han sacrificado más de 200.000 animales en la lucha y prevención de la enfermedad en las vacas. La EEB ha aparecido en otros países, incluido España, como resultado de la importación de animales infectados o de suplementos cárnicos para el ganado. Desde el 1 de enero de 2001, se realizan obligatoriamente en todos los países de la Unión Europea las pruebas rápidas post-mortem específicas para EEB (Western Blot en muestras de tronco cerebral).

En la mayor parte de los países excepto Japón y algunos de la Europa del Este la epizootia está en abierta remisión. España es el cuarto país cuya ganadería se ha visto más afectada. Desde 2000 se han registrado 736 animales enfermos, lo que ha obligado a sacrificar a miles más. Es posible que en el futuro aparezcan más casos, si bien la tendencia evidente es de disminución. Los dos últimos tuvieron lugar en Agosto y correspondieron a animales nacidos antes del año

2000. De los 16 casos descritos hasta hoy en España durante el año 2008, sólo 6 correspondían a animales nacidos tras esa fecha y ninguno es posterior a 2002.

Pretendemos aquí llevar a cabo una breve actualización comparativa de los nuevos conocimientos que sobre las EETs están ahora al alcance de las profesiones sanitarias.

EETs, orígenes y condicionantes similares, pero no iguales

Es evidente la existencia de una relación de la variante de ECJ con la

"El mayor número de casos corresponde a Reino Unido, con 163 casos primarios [y 3 secundarios], seguido de Francia, con 23; Irlanda y España con 4 casos"

Encefalopatía Espongiforme Bovina. La prueba más importante es la demostración de la similitud molecular de los priones causantes de la vECJ y de la EEB, es decir, que ambas están causadas por la misma cepa de prión, que a su vez es diferente de las cepas que producen la forma clásica de la enfermedad y de otros priones causantes de EETs. Además, la demostración experimental en animales de laboratorio de los mecanismos de transmisión han mostrado un comportamiento similar de los agentes de la EEB y la vECJ y su diferenciación neta respecto a los que son propios de otras encefalopatías espongiformes (Scrapie, ECJ, y otros).

Otro elemento que relaciona ambas enfermedades es la asociación temporal de una y otra, de suerte que la primera se reconoció como entidad patológica nueva en 1985, mientras que los primeros casos descritos de la vECJ como nueva variante son de 1996, asumiéndose en términos generales una incubación de entre 5 y 10 años.

Sin embargo, la vía y factores que condicionan la adquisición y eventual desarrollo de la vECJ a partir de la EEB parecen más evidentes de lo que la demostración experimental ha logrado probar realmente. Así, si bien la fuente de contaminación parece estar relacionada con el consumo de animales bovinos y sus derivados, no se ha podido demostrar en ninguna de las formas de EETs que el agente infeccioso esté presente en cantidades importantes en tejido muscular. Bajo esta premisa, **se asume que la transmisión está asociada a la contaminación de la carne de ternera con tejido nervioso o al consumo de productos cárnicos que incluyan este tejido. Esta combinación tiene como origen más probable la existencia de restos de tejido nervioso (médula espinal y ganglios nerviosos paraespinales) en lo que se conoce como "carne obtenida mecánicamente" (un producto obtenido mediante chorros de agua a presión o rascadores mecánicos a partir de piezas óseas no completamente desprovistas de tejidos blandos que se recuperan de esta forma).** Este producto se podía incorporar antaño a los

"El diagnóstico de las EET humanas se basa en primer término en las manifestaciones clínicas, pero el diagnóstico definitivo se realiza post mortem mediante el estudio anatomopatológico del tejido nervioso"

productos de carne preparada, tales como pasteles de carne, salchichas y hamburguesas de baja calidad. Desde muy temprano en la aparición de la EEB, e inicialmente en Gran Bretaña, se implantaron medidas para eliminar estas fuentes de potencial contaminación que posteriormente fueron asimismo adoptados en el resto de países afectados incluida España.

En cuanto a vías alternativas de adquisición de la infección, se han descrito en Gran Bretaña, posibles casos secundarios, es decir, originados a partir de los denominados primarios (que son los adquiridos por transmisión alimentaria). Desde 2004 se han referido 3 casos de este tipo, todos ellos asociados a receptores de sangre o hemoderivados procedentes de donantes que posteriormente a la donación desarrollaron vECJ. Las implicaciones de este hecho en relación con la Salud Pública son de gran importancia, particularmente en el Reino Unido debido al número de expuestos y enfermos en relación a otros países, en los que la casuística es infinitamente inferior.

Como condicionantes esenciales en cuanto a la adquisición se sitúan, de una parte la dosis infectiva, es decir cuánto producto y cuánto de infectado debía estar este en relación con la aparición o no de la enfermedad en el hombre. Extremo no bien determinado pero sobre el que se han llevado a cabo numerosas investigaciones. Así, se estima que durante el año 2001, la población del Reino Unido (casi 59 millones de habitantes) pudo estar expuesta en su conjunto al equivalente a 2.5 veces la ID₅₀ por vía oral para un bovino (ID₅₀ es la dosis necesaria para infectar al 50% de los individuos expuestos), es decir, poco más de lo preciso para infectar a una vaca. Sin embargo, durante 1993, cuando más casos de EEB se produjeron, con aproximadamente 35000, la cantidad de material infectivo que pudo alcanzar la cadena alimentaria humana británica habría sido de aproximadamente 11 millones de ID₅₀.

Hay además un componente genético de suma relevancia en algunas EETs y probablemente en otras para las que este aun no ha sido caracterizado. En la especie humana el polimorfismo en el codón 129 del gen que codifica la PrP tiene aparentemente un papel fundamental en la susceptibilidad a la infección. Todos los individuos diagnosticados de vECJ hasta el momento son homocigotos para metionina en este codón, como lo es en torno a un 40% de la población general. No obstante, aunque esto no excluye la posibilidad de que en algún momento puedan aparecer casos de enfermedad en otros genotipos portadores de valina en el codón 129 (M/V o V/V), este hecho puede indicar, aunque no fuera de toda duda, que estas combinaciones son más resistentes a la enfermedad o, tal vez, la desarrollarían después de periodos de incuba-



ción más largos. Por ahora, esta valoración sigue siendo meramente especulativa pero se asemeja en mucho al caso del Scrapie en ovejas.

En ovejas, es sabida la distinta susceptibilidad a la “Tembladera” o Scrapie, en función de la variabilidad genética que presenta el gen que codifica la proteína priónica (PrP). Los polimorfismos en los codones situados en las posiciones 136, 154 y 171 de dicho gen determinan, dependiendo de los alelos resultantes, la resistencia o susceptibilidad a la enfermedad. El haplotipo más frecuente en ovejas es ARQ y VRQ (es decir, en el orden en que se mencionan los codones, que estos codifiquen los aminoácidos Alanina (A) o Valina (V), Arginina (R) y Glutamina (Q) en la PrP) y estos son especialmente numerosos en los rebaños que presentan Scrapie. Por el contrario, el haplotipo que se asocia a una mayor resistencia es el ARR, bien en homocigosis, bien en heterocigosis con ARQ. **En todo caso la resistencia es aparentemente relativa, y en ocasiones conduce sólo a casos en animales de más edad o a la necesidad de una mayor dosis infectiva, pero no a la exclusión total de la infección.**

Vía de entrada, diseminación intraorgánica y algunas características clínicas

Se ha publicado recientemente un interesante estudio por van Keulen y colaboradores que evidencia las rutas seguidas por los agentes de EEB y Scrapie en su entrada y diseminación en el hospedador, que eventualmente deberían asemejar a las seguidas en la especie humana. **La vía de entrada epidemiológicamente relevante es la oral, con anécdotas implicando otras posibilidades. Los agentes de las EET citadas atraviesan el epitelio intestinal por medio de las células M u otro mecanismo asociado a ferritina o a células dendríticas. A ello sigue una replicación en los tejidos linfoides asociados a intestino (GALT), teniendo lugar en los folículos linfoides y en células anejas (dendríticas, macrófagos). En el Scrapie, parece haber tanto diseminación linfohematógena como replicación y depósito de PrP^{Sc} en otras estructuras linfoides, algo que no ocurre aparentemente en EEB ni en ovejas de tipo VRQ/ARR, resistentes al Scrapie.**

La fase siguiente en ambos casos es la diseminación al Sistema Neuroentérico (SNE) intestinal. Este, integrado en la submucosa por dos plexos principales (Meissner y Auerbach) y algunos otros menores, es colonizado tanto en sentido craneal como caudal y así en casos de Scrapie como de EEB. **La progresión subsiguiente se lleva a cabo por las fibras eferentes de neuronas post-ganglionares de los sistemas parasim-**

La vECJ se caracteriza por presentar síntomas iniciales psiquiátricos [depresión, alucinaciones] y/o sensitivos [disestesias, hiperestesia y parestesias] y posterior aparición, de un cuadro neurológico [ataxia, mioclonias], con alteraciones cognitivas y demencia.

pático y simpático, que los transportan a las neuronas pre-ganglionares de la médula oblonga cerebral y a los segmentos torácicos de la médula espinal. Otras vías, como la linfohematógena, no son tan evidentes respecto a la colonización del SNC pero tienen trascendencia a efectos de transmisión a otros individuos.

En este sentido, la EEB tiene en la vaca una especie de fondo de saco desde el punto de vista epidemiológico ya que sigue sin haber evidencia de transmisión horizontal por vía de excreciones o secreciones, ni vertical por vía materno-fetal. Sólo la intervención humana parece ser responsable de la extensión de la enfermedad, y por tanto, las medidas correctoras han sido extremadamente efectivas. El Scrapie, por el contrario cuenta con una larga historia natural, debido a que su ciclo epidemiológico incluye transmisión horizontal y vertical (con la placenta como vehículo principal) y más de 250 años desde las primeras descripciones específicas.

En cuanto a la histopatología de la vECJ y otras EETs, la primera responde a la característica formación

de depósitos de proteína priónica en tejido cerebral rodeados de vacuolas (denominadas placas floridas) que da nombre al grupo de enfermedades. Por el contrario, y a diferencia de la forma esporádica de ECJ y la EEB, en la vECJ y Scrapie se han encontrado también depósitos en órganos linfoides y nerviosos periféricos (tonsila, plexos nerviosos periféricos, sistema neuroentérico, etc.) cuya presencia precede a la aparición de síntomas clínicos neurológicos. **Las alteraciones neuropatológicas de la vECJ incluyen gran número de placas floridas (formadas por un núcleo denso y rodeadas por un halo claro – “aspecto esponjiforme”), ampliamente distribuidas por el córtex (más en lóbulo occipital y cerebelo), así como un pronunciado aspecto esponjiforme en los ganglios basales y el tálamo (que también presenta una intensa astrocitosis). EEB y Scrapie presentan aspectos parecidos, con implicación mayoritaria de estructuras similares si no idénticas (Núcleo Motor Dorsal del Vago, etc).**

La vECJ se caracteriza por presentar síntomas iniciales psiquiátricos (depresión, alucinaciones) y/o sensitivos (disestesias, hiperestesia y paraestesias) y posterior aparición, aproximadamente a los 6 meses, de un cuadro neurológico (ataxia, mioclonias), con alteraciones cognitivas y demencia. El curso clínico no es tan rápido como en la forma esporádica, y suele durar más de un año.

El tramo de edades preferente en cuanto a su presentación es asimismo distinto: así, la forma esporádica aparece generalmente en edades en torno a los 70 años, mientras la vECJ ocurre en personas con una

media de edad de alrededor de 28 años, si bien existe una dispersión que alcanza hasta tramos que coinciden con lo anterior, dificultando en ocasiones la adscripción.

Varias de estas manifestaciones son netamente diferenciales respecto a otras formas de ECJ. No obstante, téngase presente que algunas otras encefalopatías de carácter reversible, pueden ofrecer aspectos muy similares y cumplir criterios diagnósticos de posible vECJ. Sin embargo, establecido el diagnóstico definitivo, no serían notificadas como "confirmado" a la red europea ni incluidas en las estadísticas de vECJ.

En los animales, los cuadros neurológicos similares a los descritos, con hiperestesia, tics, mioclonias, etc, son los más evidenciables, así como trastornos de comportamiento (excitabilidad) como único reflejo psíquico.

Diagnóstico de las EET

El diagnóstico de las EET humanas se basa en primer término en las manifestaciones clínicas, pero el diagnóstico definitivo se realiza *post mortem* mediante el estudio anatomopatológico del tejido nervioso.

La identificación de la proteína priónica en tejido cerebral es actualmente el diagnóstico más fiable; esta proteína puede ser detectada mediante técnicas de Western blot, pero tienen el inconveniente de que precisan el manejo de tejido cerebral fresco lo cual exige una elevada bioseguridad en las manipulaciones debido a la capacidad infectiva de la proteína priónica en estos tejidos. Como alternativa se usa la detección mediante técnicas de inmunohistoquímica realizadas con tejidos tratados con ácido fórmico que inactiva al agente. En este caso pueden valorarse tanto las lesiones antedichas como la presencia correlativa de antígeno priónico.

En cuanto al diagnóstico *in vivo* de las EET huma-

nas, los complejos periódicos en el electroencefalograma (EEG) típicos de la ECJ y que son de gran valor predictivo, no suelen aparecer en los casos de vECJ excepto en fases muy avanzadas, lo que puede inducir a confusión. Otra herramienta diagnóstica de probada eficacia en la ECJ esporádica, la prueba de la proteína 14-3-3 (proteína normal del neuropilo que actúa como marcador de daño neuronal, y que disminuye su concentración en cerebro y aumenta en LCR en la ECJ), no es tampoco suficientemente fiable en la vECJ, ofreciendo valores predictivos muy bajos en contraste con la forma esporádica. Por último, la biopsia de tonsila o por vía de apendicectomía podrían ser pruebas útiles para el diagnóstico de vECJ, ya que permiten detectar la proteína priónica infectiva mediante técnicas de Western blot y de inmunohistoquímica en tejido linfóide asociado a estas estructuras.

En cuanto al diagnóstico en el ganado, este viene estrictamente regulado, y en términos generales incluye vigilancia activa, lo que supone que todos los bovinos mayores de 24 meses sean destinados a consumo o hayan muerto en granja o durante el transporte deben ser sometidos a análisis, así como vigilancia pasiva, que exige la investigación de cualquiera que presente signos compatibles con EET independientemente de la edad o si pertenecen a cohortes o descendencia de un caso confirmado.

Pauta similar se sigue con ovinos y caprinos de más de 18 meses o con dos incisivos definitivos ya presentes. Los casos positivos de Scrapie, sufren sistemáticamente una prueba de discriminación de EEB/Scrapie. Además, para todos los casos positivos de Scrapie en la especie ovina, se determina el genotipo del gen PrP.

Las pruebas rápidas de diagnóstico *post-mortem*, así como las de confirmación son similares a las empleadas en medicina humana. **Se realizan simultáneamente 3 pruebas de confirmación: histopatología, inmunohistoquímica e inmunotransferencia (Western blot OIE).**

Epidemiología de la vECJ

Las predicciones iniciales, que se servían de modelos matemáticos en los que se asumían periodos de incubación largos (décadas), basados, entre otros en la EET denominada *kuru*, de la que se tenía un estudio histórico más amplio, estimaban un amplio rango de probabilidades en cuanto al número posible de afectados por la vEJC. En relación a Gran Bretaña, el país con mayor número de casos tanto en EEB como en vEJC, las previsiones abarcaban intervalos de casos que iban desde poco más de un centenar de personas hasta decenas de miles. **La realidad parece ajustarse a los márgenes más bajos de aquellas estimacio-**



nes, tanto en Gran Bretaña como en Francia, y, cabe suponerlo, en el resto de países. La situación actual se corresponde por tanto a un periodo medio de incubación de entre 5 y 10 años, habiendo tenido lugar las primeras y más numerosas infecciones en humanos entre mediados y finales de los 80, cuando la exposición a la EEB fue máxima, ya que a partir de 1989, se introdujeron en Gran Bretaña medidas que impedirían la entrada en cadena alimentaria de productos procedentes de animales sospechosos o sacrificados a título preventivo.

Por tanto, si se confirman las expectativas menos malas en cuanto a que el período de incubación parece no ser tan prolongado como se podría temer, la vECJ estaría ya en declive: resulta evidente el marcado descenso de casos nuevos en Gran Bretaña desde 1999 y de defunciones desde el 2000. No obstante, la evolución de esta enfermedad en humanos puede aún sufrir modificaciones, por lo que no puede considerarse un hecho incontestable, si bien las evidencias señalan firmemente en este sentido.

Como incertidumbre preocupante pero limitada a Gran Bretaña, debido a la exposición relativa de la población, debe tenerse presente el riesgo de transmisión de la vECJ entre personas, los casos secundarios. Todas las personas que estuvieran en el periodo de incubación de la enfermedad, aparentemente sanas y no identificables en su condición de portadores, podrían haber sido sometidas a las mismas intervenciones médicas y quirúrgicas que la población general, así como prestándose a la donación de sangre y tejidos. Esto podría suponer un riesgo que, de hecho, ya se contempla por las autoridades sanitarias británicas.

En España, la vigilancia de casos de EET humanas se lleva a cabo de forma institucional desde 1995, cuando se creó el Registro Nacional con sede en el Centro Nacional de Epidemiología (Instituto de Salud Carlos III - Ministerio de Sanidad y Consumo), vigilancia que en 2001 pasó a integrarse en Red Nacional de Vigilancia Epidemiológica, siendo desde entonces las EET de declaración obligatoria.

El primer caso español de la vECJ se trataba de una joven nacida en 1978, residente en Madrid, que falleció en julio de 2005 tras un cuadro clínico e imagen en resonancia magnética atípicos. El estudio neuropatológico e histoquímico confirmó el diagnóstico de vECJ en Agosto de 2005. El siguiente caso se dio en una mujer nacida en 1957, residente en la Comunidad de Castilla y León. Comenzó con síntomas en



“Por tanto, si se confirman las expectativas menos malas en cuanto a que el período de incubación parece no ser tan prolongado como se podría temer, la vECJ estaría ya en declive”

febrero de 2006 y falleció el 28 de diciembre de 2007. La prueba de proteína 14-3-3 en líquido cefalorraquídeo fue negativa, confirmándose el caso en estudio *post mortem*. El último caso confirmado hasta la fecha es el de un varón nacido en 1967, residente en la Comunidad de Castilla y León, que comenzó con síntomas en mayo de 2007, falleciendo en febrero de 2008, confirmándose así mismo la enfermedad en el estudio *post mortem*. Los tres casos fueron homocigotos Metionina/Metionina en el codón 129 del gen de la PrP.

El Registro Nacional de EET humanas ha establecido predicciones propias en relación a la vECJ en España. Según sus datos, las estimaciones se encuentran en el intervalo

entre 2 y 70 casos (“Las encefalopatías espongiformes transmisibles humanas. Una visión desde la salud pública” Versión Abril 2008. www.isciii.es). Las bases para este cálculo se establecen en función del desarrollo de la epidemia en Reino Unido y Francia, referentes necesarios en función del número de casos tanto de EEB como de vECJ. Así, se estima en este informe que el nivel de exposición acumulada a tejido de vacuno afectado por la EEB en España sería aproximadamente entre unas 60 y unas 5 veces inferior al experimentado por la población británica y francesa respectivamente. Teniendo en cuenta las incertidumbres existentes, y salvo cambios inesperados en la incidencia de vECJ en esos países, el número de casos de vECJ esperados en España en esta y la siguiente década no debería superar la decena.

Con toda la reserva que exige el todavía limitado conocimiento de la enfermedad en algunos aspectos, los nuevos casos aparecidos (y por aparecer, en la medida indicada) de la variante de la enfermedad de Creutzfeldt-Jakob no deberían alimentar la especulación o el alarmismo. No estamos ante la perspectiva de sucesivas reediciones de la crisis de las vacas locas, sino ante sus efectos diferidos en el tiempo que tarda en desarrollarse la enfermedad.