

LE MALATTIE DA PRIONI

Sabato, 23 novembre 2019

INCONTRO CON GLI ESPERTI

rivolto ai familiari delle persone colpite dalle
MALATTIE DA PRIONI

Meccanismi patologici e di propagazione, tecniche
diagnostiche e prospettive terapeutiche

SOMMARIO

1. I PRIONI
2. CLASSIFICAZIONE DELLE MALATTIE DA PRIONI
3. CARATTERISTICHE NEUROPATOLOGICHE DELLE MALATTIE DA PRIONI
4. TRASMISSIBILITA'
5. AGGIORNAMENTI SULLA RICERCA SCIENTIFICA

SOMMARIO

1. I PRIONI

2. CLASSIFICAZIONE DELLE MALATTIE DA PRIONI

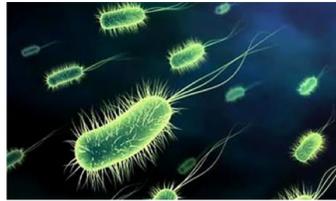
3. CARATTERISTICHE NEUROPATHOLOGICHE DELLE MALATTIE DA PRIONI

4. TRASMISSIBILITA'

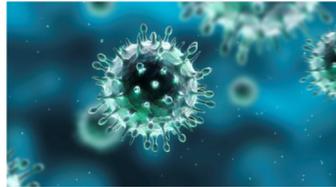
5. AGGIORNAMENTI SULLA RICERCA SCIENTIFICA

I PRIONI

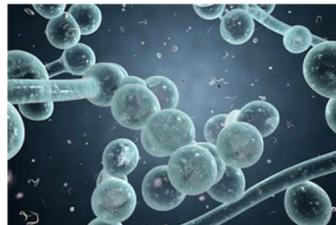
Batteri



Virus



Funghi



Altro.....

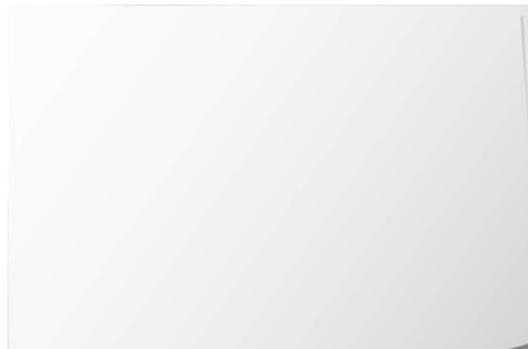
Cosa sono i prioni?



I prioni sono **agenti patogeni non convenzionali**

Non sono microrganismi ma **proteine che acquisiscono una conformazione ANOMALA**

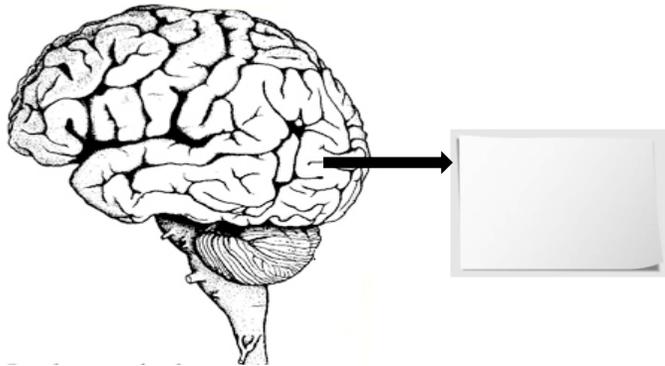
Derivano da un cambiamento conformazionale di una proteina normalmente presente nel nostro organismo che si chiama **PROTEINA PRIONICA**.



PROTEINA PRIONICA



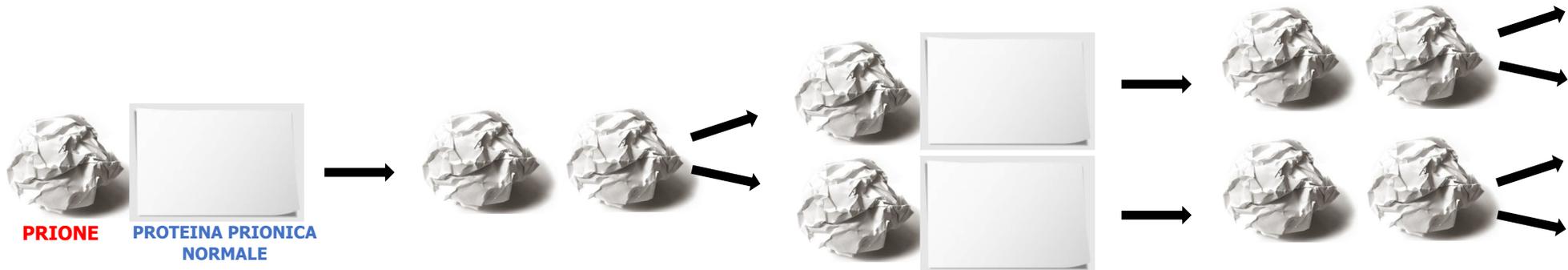
PRIONE



La **PROTEINA PRIONICA** è presente ad alte concentrazioni nel sistema nervoso centrale ed ha molteplici funzioni fisiologiche.

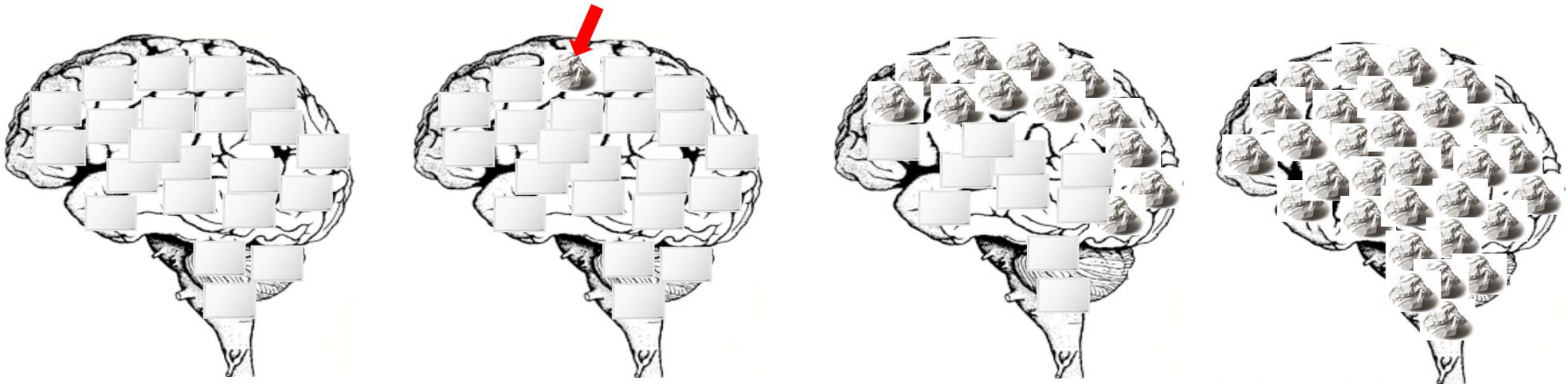
In alcuni casi la proteina prionica può andare incontro spontaneamente ad un cambiamento conformazionale che la tramuta in prione.

ATTENZIONE: il prione neoformato è capace di far cambiare la conformazione di altre proteine prioniche normali innescando un meccanismo di conversione patologica a cascata



Quando il **PRIONE** entra in contatto con la **PROTEINA PRIONICA** la
fa convertire in nuovo **PRIONE**

In tal modo le proteine prioniche presenti nel sistema nervoso centrale vengono, ad una
ad una, convertite in prione.



Esempio di propagazione del prione nel sistema nervoso centrale

Questo determina comparsa di neurodegenerazione con le tipiche **alterazioni spongiformi**.

Questo tipo di malattia colpisce sia uomini che animali

Malattie prioniche negli animali

Encefalopatia spongiforme bovina (BSE)



Scrapie



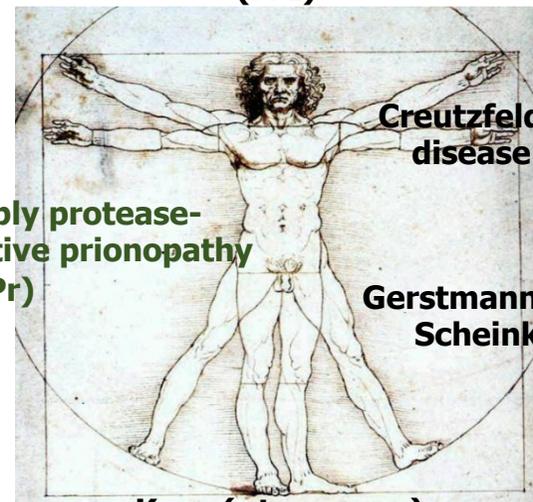
Encefalopatia trasmissibile del visone (TME)



Deperimento cronico del cervo (CWD)

Malattie prioniche nell'uomo

Fatal Familial Insomnia (FFI)



Creutzfeldt-Jakob disease (CJD)

Variably protease-sensitive prionopathy (VPSPr)

Gerstmann-Sträussler-Scheinker (GSS)

Kuru («tremore»)

1700

Descritti i primi casi di Scrapie
Primo caso di FFI in un uomo a Venezia

1920

Descritti i primi casi di GSS
Descritti i primi casi di CJD

1950

Scoperta della Kuru (tribù indigene)

1980

Epidemia di BSE
Scoperta la proteina responsabile delle malattie da prioni

1990

Epidemia di vCJD (morbo della mucca pazza)

2010

Descritti i primi casi di malattia da prioni chiamate VPSPr (Variably protease-sensitive prionopathy)

**UNA STORIA
LUNGA PIU' DI
300 ANNI...**

Per riassumere...

COSA SONO I PRIONI?

PROTEINE che..

- Si accumulano ad elevati livelli nel sistema nervoso centrale
- Hanno una conformazione anomala/patologica;
- Sono in grado di trasmettere la conformazione anomala alle proteine prioniche normali;
- Questa conformazione anomala è causa della patologia e della neurodegenerazione

SOMMARIO

1. I PRIONI

2. CLASSIFICAZIONE DELLE MALATTIE DA PRIONI

3. CARATTERISTICHE NEUROPATHOLOGICHE DELLE MALATTIE DA PRIONI

4. TRASMISSIBILITA'

5. AGGIORNAMENTI SULLA RICERCA SCIENTIFICA

FORME SPORADICHE

I casi sporadici NON sono legati ad evidenti fattori di rischio e comprendono circa l'80% di tutti i casi di malattie da prioni.

La forma più comune è la malattia di Creutzfeldt-Jakob (CJD)

Le CJD sporadiche si classificano in ulteriori **6 sottogruppi** caratterizzati da decorso clinico e patologico diverso

**UN'UNICA PROTEINA
 ANOMALA E 6 MALATTIE
 DIVERSE??**



La **PROTEINA PRIONICA** quando diventa **PRIONE** può assumere conformazioni patologiche che possono essere leggermente diverse tra loro



Prione



Conformazione 1

Prione



Conformazione 2

Prione



Conformazione 3

Prione



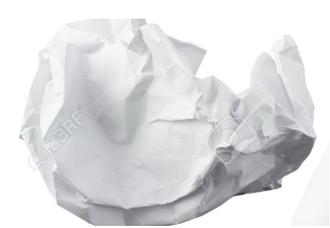
Conformazione 4

Prione



Conformazione 5

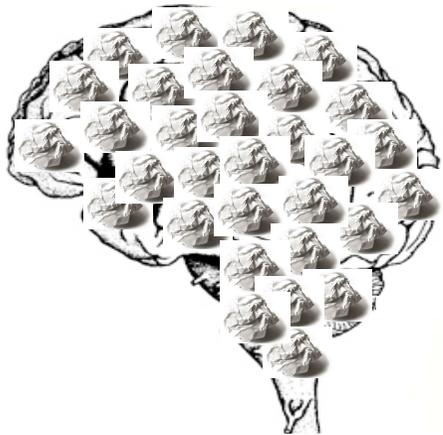
Prione



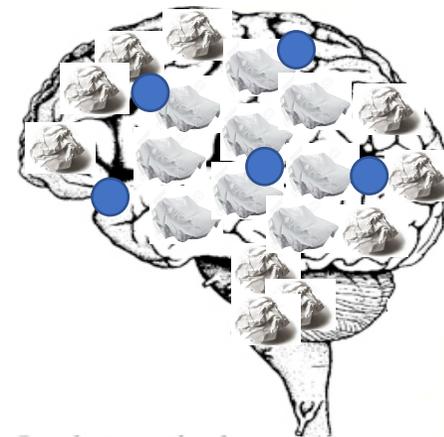
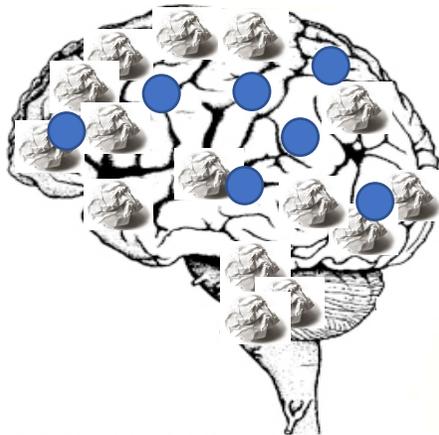
Conformazione 6

Questo spiega perché è difficile attualmente trovare una **terapia UNICA** per curare queste patologie. Gli aspetti si complicano ulteriormente perché recenti scoperte hanno dimostrato che in presenza di farmaci i prioni sono capaci di alterare la loro conformazione ed assumere quelle «resistenti» al farmaco.

● Farmaco anti-prione



Ceppo prionico 1
(farmaco sensibile)



Ceppo prionico 2
(farmaco resistente?)

FORME IATROGENE

I casi iatrogeni compaiono in seguito ad infezione accidentale dovuta a procedure mediche con materiale biologico contaminato o ferri chirurgici non correttamente decontaminati.

Negli anni '70 sono state individuate diverse cause, fra cui

- Trapianto di cornea;
- Uso di strumenti neurochirurgici non ben decontaminati (la normale decontaminazione tramite autoclave a 120°C non basta ad eliminare i prioni);
- Utilizzo di elettrodi cerebrali profondi;
- Assunzione di ormone della crescita estratto da cadavere;

In Italia, la maggior parte dei casi si è verificata in seguito ad interventi neurochirurgici, in particolare per impianto di dura mater, la membrana che avvolge l'encefalo.

FORME GENETICHE

Dovute a **MUTAZIONI** nel gene che codifica la **PROTEINA PRIONICA**

È come se nel nostro foglio di carta ci fossero già presenti delle pieghe che «predispongono» il foglio ad accartocciarsi



Esistono tre forme di malattia da prioni di origine genetica:

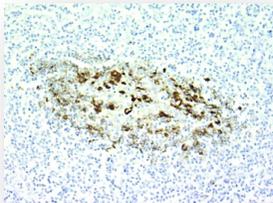
1. **CJD genetica**, con caratteristiche cliniche e strumentali simili alla CJD sporadica;
2. **Sindrome di Gerstmann-Sträussler-Scheinker (GSS)**, caratterizzata da atassia progressiva e da demenza che di solito compare tardivamente. La durata clinica della GSS è superiore a quella della CJD (tra i 2 ed i 10 anni);
3. **Insonnia Fatale Familiare (FFI)**, caratterizzata da insonnia, disturbi del sistema nervoso autonomo, disturbi motori e cognitivi.

FORMA VARIANTE

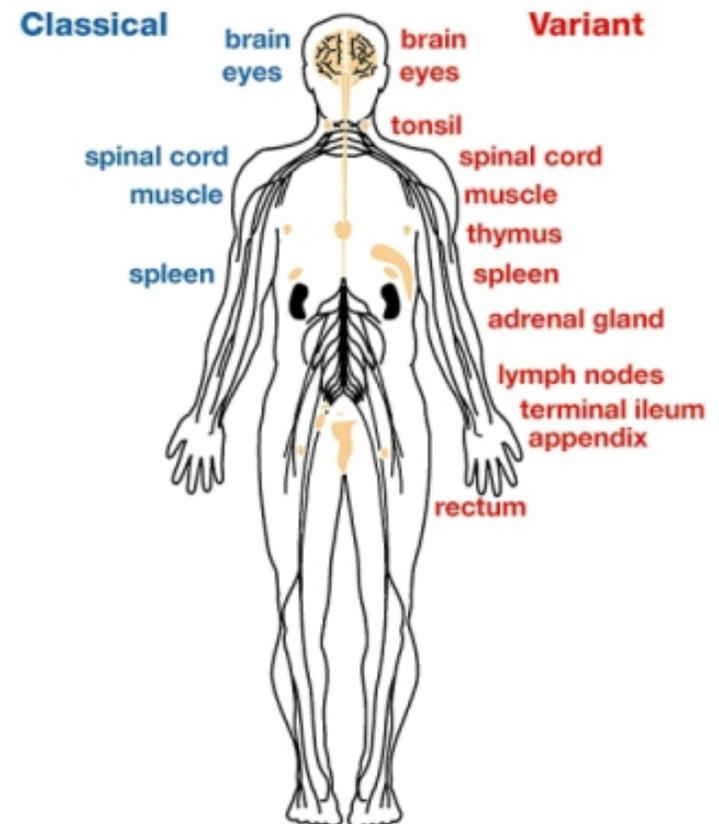
Compare nell'uomo in seguito al consumo di carne di bovini affetti da BSE.

Questa patologia si trasmette quindi da bovino a uomo, con bassa efficienza, causando un fenotipo patologico caratteristico e facilmente distinguibile da tutti gli altri.

In questo caso, il prione diffonde anche in tessuti periferici. Questo è di estrema importanza nei casi vCJD perché la sua identificazione (a livello delle tonsille) permette di fare una diagnosi quando il paziente è ancora in vita.



Centro germinativo con presenza di prione in una tonsilla di paziente con vCJD



Per riassumere...

Le malattie da prioni possono essere di origine:

- **Sporadica**: la **proteina prionica** cambia conformazione e si trasforma in **prione**, improvvisamente, per cause ancora sconosciute;
- **Genetica**: mutazioni nella proteina prionica ne facilitano ed inducono il cambiamento conformazionale;
- **Iatrogenica**: Il prione rimasto attaccato a strumenti chirurgici non ben decontaminati o presente in tessuti utilizzati per trapianto (cornea, meningi) viene trasmesso accidentalmente a soggetti sani;
- **Variante**: questa forma (vCJD) insorge in seguito a consumo di carni di bovini affetti dalla encefalopatia spongiforme(BSE).

SOMMARIO

1. I PRIONI
2. CLASSIFICAZIONE DELLE MALATTIE DA PRIONI
- 3. CARATTERISTICHE NEUROPATHOLOGICHE DELLE MALATTIE DA PRIONI**
4. TRASMISSIBILITA'
5. AGGIORNAMENTI SULLA RICERCA SCIENTIFICA

Alterazioni neuropatologiche comuni delle malattie da prioni

Da un punto di vista neuropatologico le encefalopatie **spongiformi** sono caratterizzate dalla presenza di lesioni degenerative, che conferiscono al tessuto nervoso un aspetto spongioso (spongiforme: comparsa di vacuoli a livello dei dendriti neuronali e dei neuroni).

In particolare sono caratterizzate da:

- Sintomatologia di tipo neurologico
- Decorso clinico progressivo e costantemente fatale
- Lesioni di tipo degenerativo al SNC
- No lesioni di tipo infiammatorio o risposte immunitarie
- Costante presenza di **prione** responsabile delle lesioni degenerative

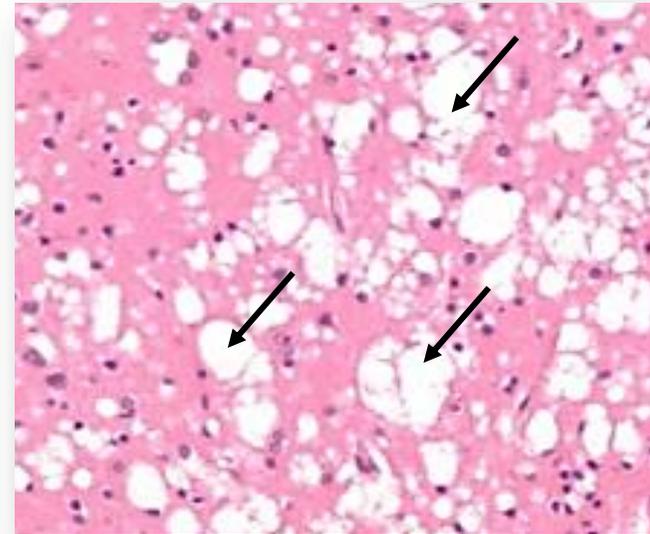
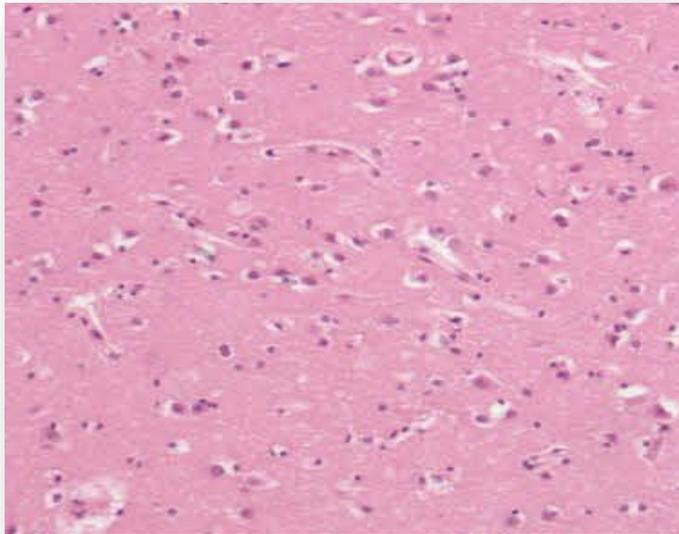


Tessuto nervoso con aspetto spongioso



Tessuto cerebrale controllo

Tessuto cerebrale con malattia da prioni

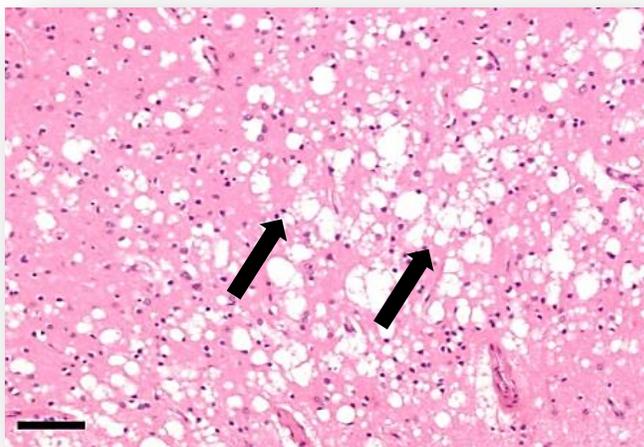




Tre alterazioni neuropatologiche comuni alle malattie da prioni

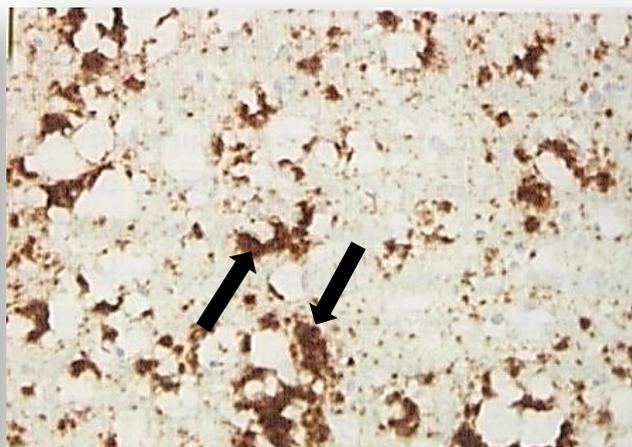
Tessuto cerebrale con malattia da prioni

Spongiosi (buchi bianchi)



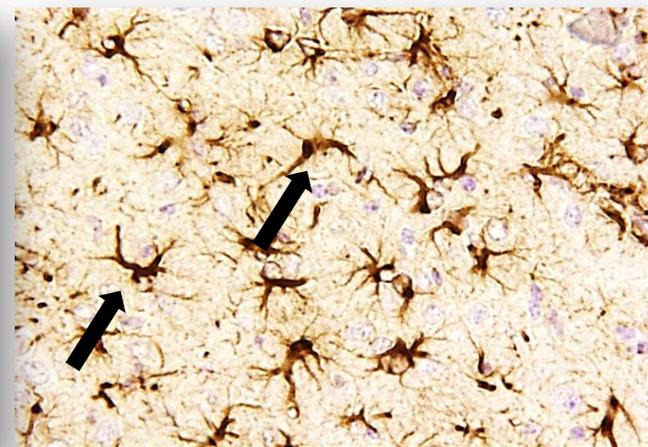
1

Prione (in marrone)



2

Attivazione astrogliale



3



Come si rileva il **prione** nel cervello?

Con due tecniche:

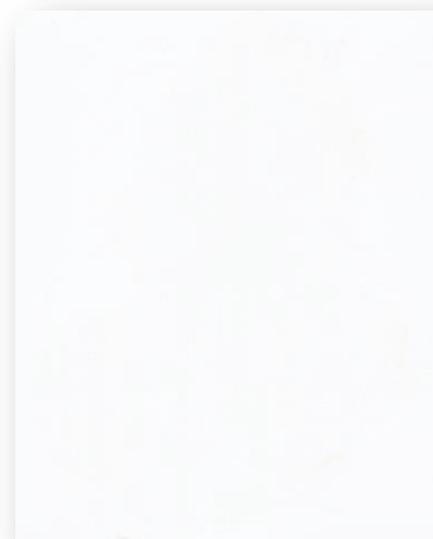
1. IMMUNOISTOCHEMICA: il cervello viene fissato, tagliato in sezioni sottili ed analizzato. Il prione, se c'è, si colora di marrone

Dopo trattamento con proteinasi tutta la **proteina fisiologica** viene digerita mentre è possibile vedere colorato in marrone solo la **proteina patologica** (Prione).

Tessuto cerebrale di paziente con malattia da prioni



Tessuto cerebrale di paziente controllo





Come si rileva il **prione** nel cervello?

Con due tecniche:

2. BIOCHIMICA: un pezzettino di cervello viene «omogenato».

L'omogenato viene sottoposto ad analisi per ricerca di prione che, se c'è, è rappresentato da tre bande nere.

Tessuto cerebrale di paziente con malattia da prioni

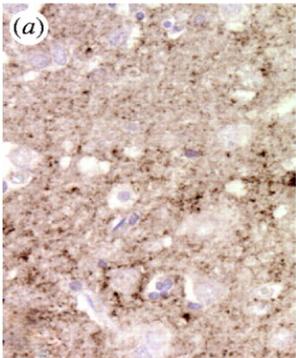
Tessuto cerebrale di paziente controllo



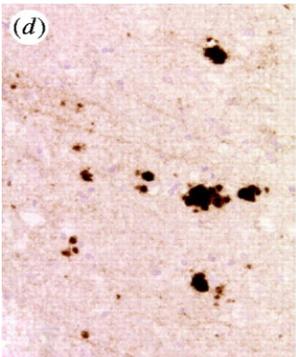
Tramite analisi immunocitochimiche e biochimiche è possibile identificare i diversi fenotipi patologici che le diverse conformazioni prioniche inducono nei pazienti.

ANALISI IMMUNOCITOCHEMICHE

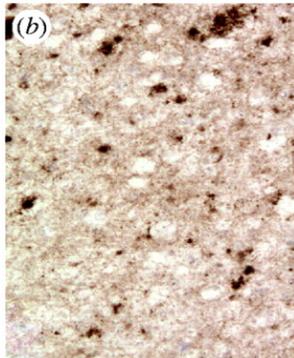
synaptic pattern,
no plaques



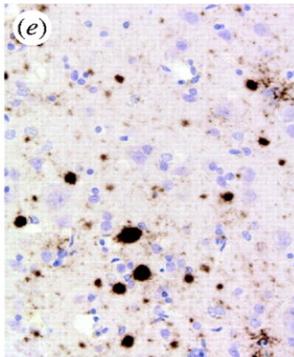
synaptic pattern and
small plaques



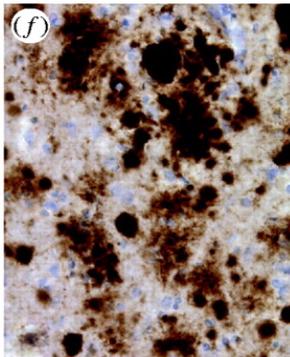
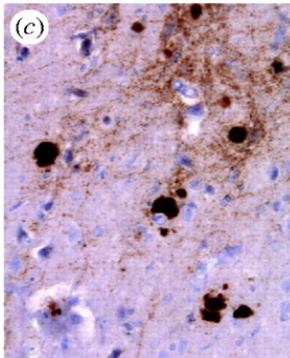
synaptic pattern
and small plaques



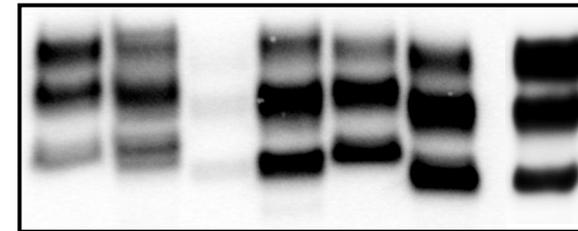
synaptic pattern, dense plaques of variable size
and diffuse plaques



frequent plaques,
perineuronal PrP,
little synaptic PrP



ANALISI BIOCHIMICHE



**Entrambe le analisi
servono per formulare
una diagnosi di certezza
su tessuto cerebrale
post-mortem**

SOMMARIO

1. I PRIONI
2. CLASSIFICAZIONE DELLE MALATTIE DA PRIONI
3. CARATTERISTICHE NEUROPATOLOGICHE DELLE MALATTIE DA PRIONI
- 4. TRASMISSIBILITA'**
5. AGGIORNAMENTI SULLA RICERCA SCIENTIFICA

FORME SPORADICHE

Non esistono casi documentati di trasmissione naturale uomo-uomo

FORME IATROGENE

I casi iatrogeni compaiono in seguito ad infezione accidentale dovuta a procedure mediche con materiale biologico contaminato o ferri chirurgici non correttamente decontaminati. In Italia, la maggior parte dei casi è dovuta ad impianto di dura mater in corso di interventi neurochirurgici

FORME GENETICHE

Non esistono casi di trasmissione naturale uomo-uomo

FORMA VARIANTE

Si trasmette (con bassa efficienza)
 da bovino (affetto da Encefalopatia Spongiforme Bovina) a uomo (causando la vCJD)

Fino ad ora documentati 4 casi di trasmissione vCJD uomo-uomo in seguito a trasfusione di sangue

SOMMARIO

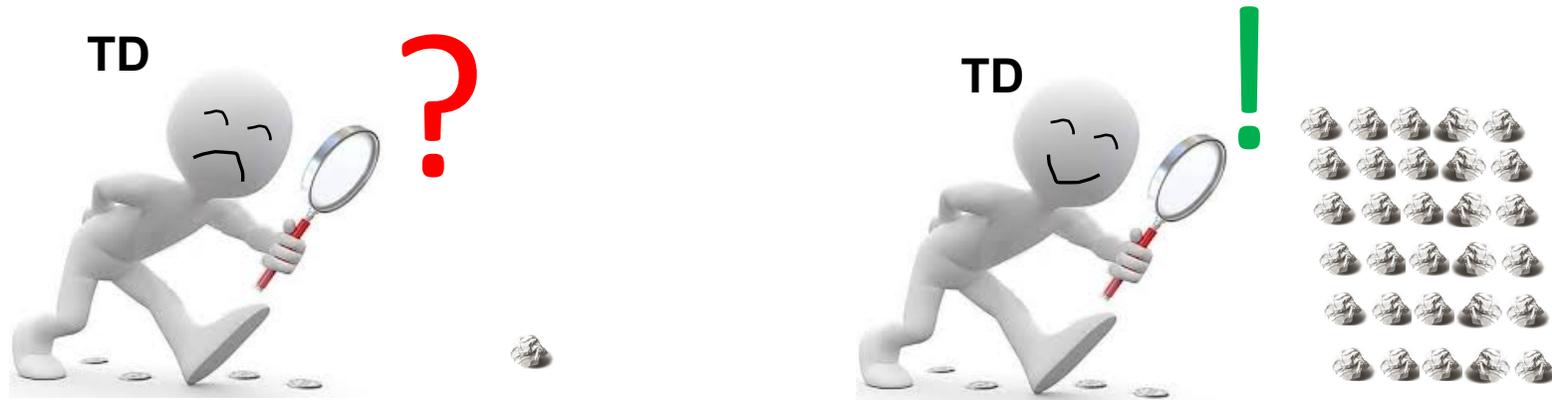
1. I PRIONI
2. CLASSIFICAZIONE DELLE MALATTIE DA PRIONI
3. CARATTERISTICHE NEUROPATOLOGICHE DELLE MALATTIE DA PRIONI
4. TRASMISSIBILITA'
- 5. AGGIORNAMENTI SULLA RICERCA SCIENTIFICA**

LA RICERCA SCIENTIFICA SUL FRONTE DELLA DIAGNOSTICA

DOMANDA: Il prione può essere rilevato in tessuti periferici oltre che nel sistema nervoso centrale?

- Urine
- Sangue
- Liquido cefalorachidiano

RISPOSTA: problema che risiede nella sensibilità delle **attuali tecniche diagnostiche** (TD) che non riescono ad individuare la presenza di piccole quantità di prione eventualmente presente nei tessuti periferici.



Con tecniche altamente innovative è stato possibile invece rilevare tracce di **prione** circolanti in diversi fluidi biologici (urine, sangue, liquido cefalorachidiano), dimostrando quindi che la proteina patologica non rimane confinata solo ed esclusivamente nel sistema nervoso centrale ma può essere ritrovata in tracce anche in tessuti facilmente collezionabili.

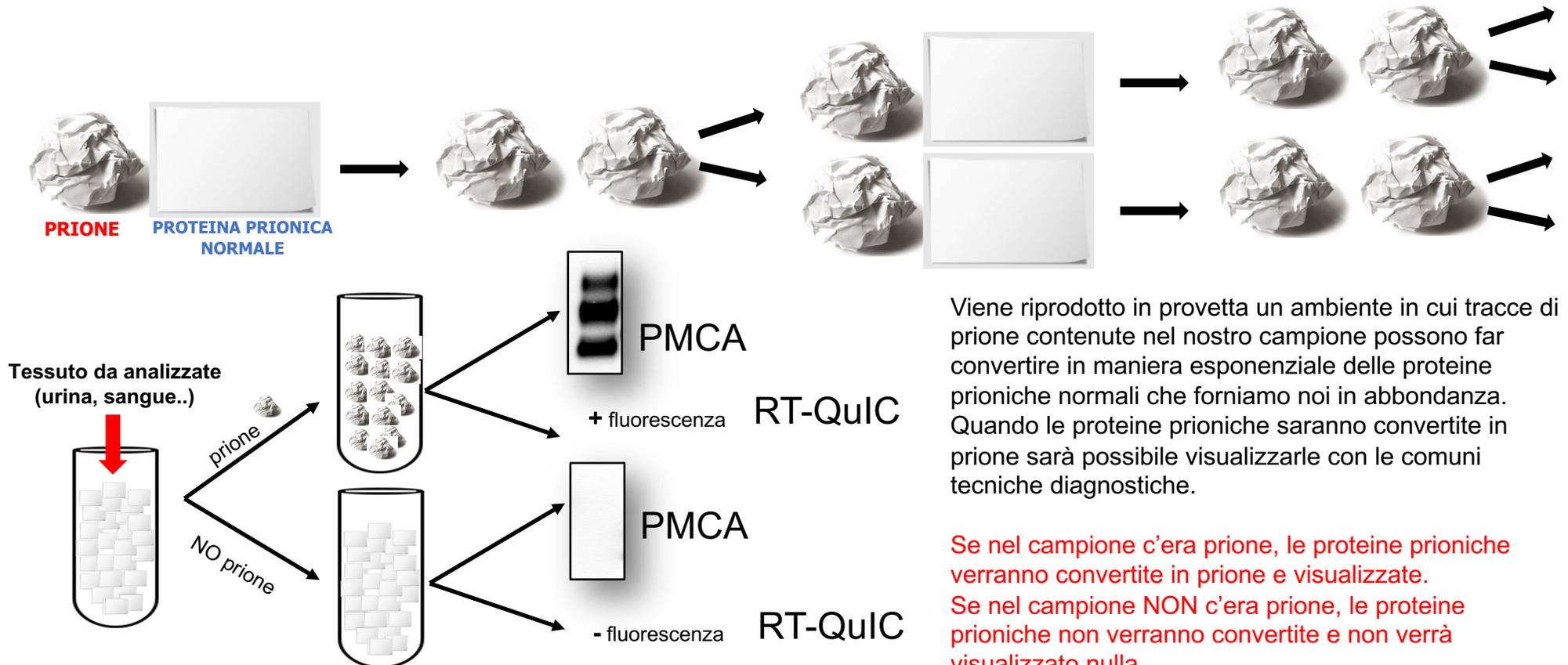
QUALI SONO LE TECNICHE CHE RILEVANO TRACCE DI PRIONE NEI TESSUTI PERIFERICI?

1. Protein Misfolding Cyclic Amplification (PMCA)
2. Real-Time Quaking-Induced Conversion (RT-QuIC)

**ENTRAMBE LE TECNICHE SONO IN GRADO DI INDIVIDUARE
ED AMPLIFICARE «TRACCE» DI PRIONE FINO A LIVELLI CHE
POSSONO ESSERE RILEVATI CON LE COMUNI TECNICHE
DIAGNOSTICHE**

COME FANNO QUESTE TECNICHE AD AMPLIFICARE IL PRIONE?

Sfruttando la capacità del prione di far convertire la proteina prionica in una reazione a cascata.



Viene riprodotto in provetta un ambiente in cui tracce di prione contenute nel nostro campione possono far convertire in maniera esponenziale delle proteine prioniche normali che forniamo noi in abbondanza. Quando le proteine prioniche saranno convertite in prione sarà possibile visualizzarle con le comuni tecniche diagnostiche.

Se nel campione c'era prione, le proteine prioniche verranno convertite in prione e visualizzate.
Se nel campione NON c'era prione, le proteine prioniche non verranno convertite e non verrà visualizzato nulla.

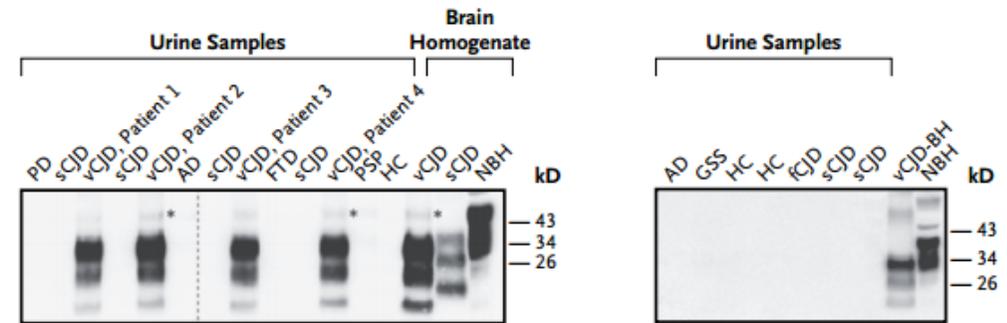
APPLICAZIONI PMCA IN CAMPO DIAGNOSTICO - vCJD

The NEW ENGLAND JOURNAL of MEDICINE

ORIGINAL ARTICLE

Prions in the Urine of Patients with Variant Creutzfeldt–Jakob Disease

Fabio Moda, Ph.D., Pierluigi Gambetti, M.D., Silvio Notari, Ph.D.,
Luis Concha-Marambio, B.Sc., Marcella Catania, Ph.D., Kyung-Won Park, Ph.D.,
Emanuela Maderna, B.Sc., Silvia Suardi, B.Sc., Stéphane Haïk, M.D., Ph.D.,
Jean-Philippe Brandel, M.D., James Ironside, M.D., Richard Knight, M.D.,
Fabrizio Tagliavini, M.D., and Claudio Soto, Ph.D.



Il test ha permesso di rilevare il prione con una sensibilità del 93% ed una specificità del 100%

The views expressed in this article are those of the authors and not necessarily those of the U.K. Department of Health.

Supported by grants from the National Institutes of Health (P01AI077774, R42NS079060, R01NS049173, and R01NS078745, to Dr. Soto), PrionNet Canada and Merck Serono (to Dr. Soto), the Italian Ministry of Health, Associazione Italiana Encefalopatie da Prioni, and Ministero dell'Università e della Ricerca (RBAP11FRE9, to Dr. Tagliavini), the Charles S. Britton Fund

APPLICAZIONI PMCA IN CAMPO DIAGNOSTICO - vCJD

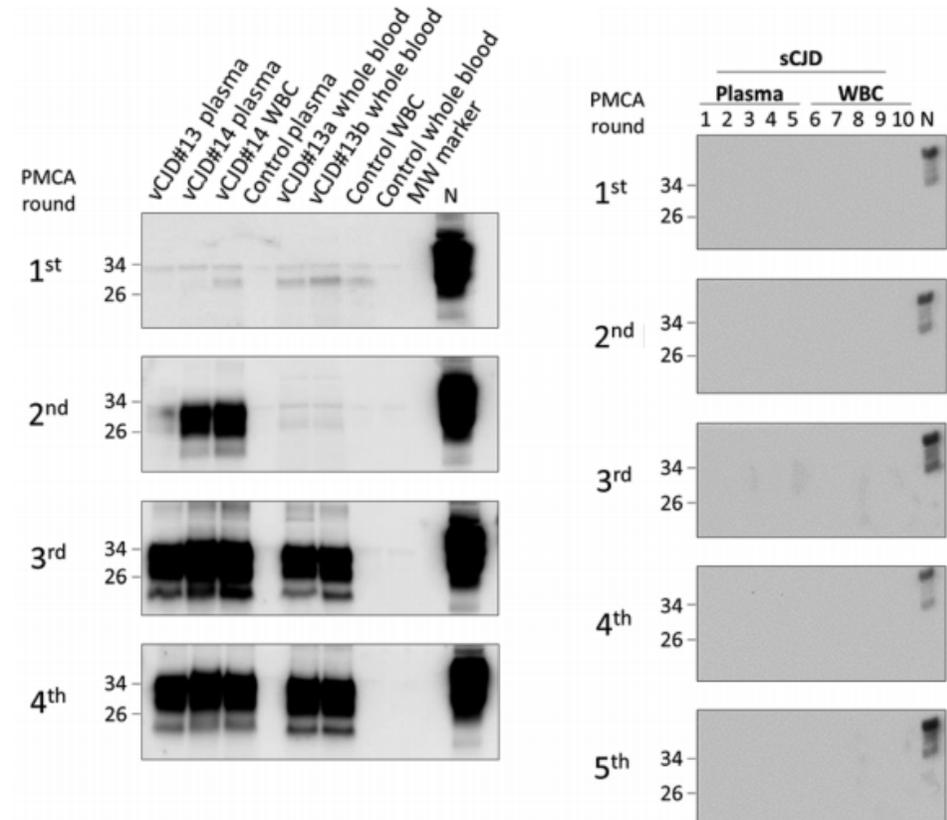
SCIENCE TRANSLATIONAL MEDICINE | RESEARCH ARTICLE

PRION DISEASES

Detection of prions in blood from patients with variant Creutzfeldt-Jakob disease

Luis Concha-Marambio,^{1,2} Sandra Pritzkow,¹ Fabio Moda,^{1,3} Fabrizio Tagliavini,³
James W. Ironside,⁴ Paul E. Schulz,¹ Claudio Soto^{1,2*}

Il test ha permesso di rilevare il prione con una sensibilità ed una specificità del 100%



Acknowledgments: We thank E. Bistaffa (Istituto Neurologico Carlo Besta) for technical help and R. Will (University of Edinburgh) for providing many of the blood samples used in this study. We are also grateful to G. Telling (Colorado State University) for providing a colony of transgenic mice expressing human PrP. **Funding:** This study was supported in part by grants from the NIH (P01AI106705, R01NS049173, and R42NS079060) to C.S., the Italian Ministry of Health and [Associazione Italiana Encefalopatie da Prioni \(AIEnP\)](#) to F.T., and La Fondation pour la Recherche Médicale (FABS201402) to F.M. The U.K. National CJD Research and Surveillance Unit is funded by the Department of Health and the Scottish Government. The funders had no role in the study design, the data collection and analysis, or the preparation of the manuscript.

APPLICAZIONI PMCA IN CAMPO DIAGNOSTICO - vCJD

SCIENCE TRANSLATIONAL MEDICINE | RESEARCH ARTICLE

PRION DISEASES

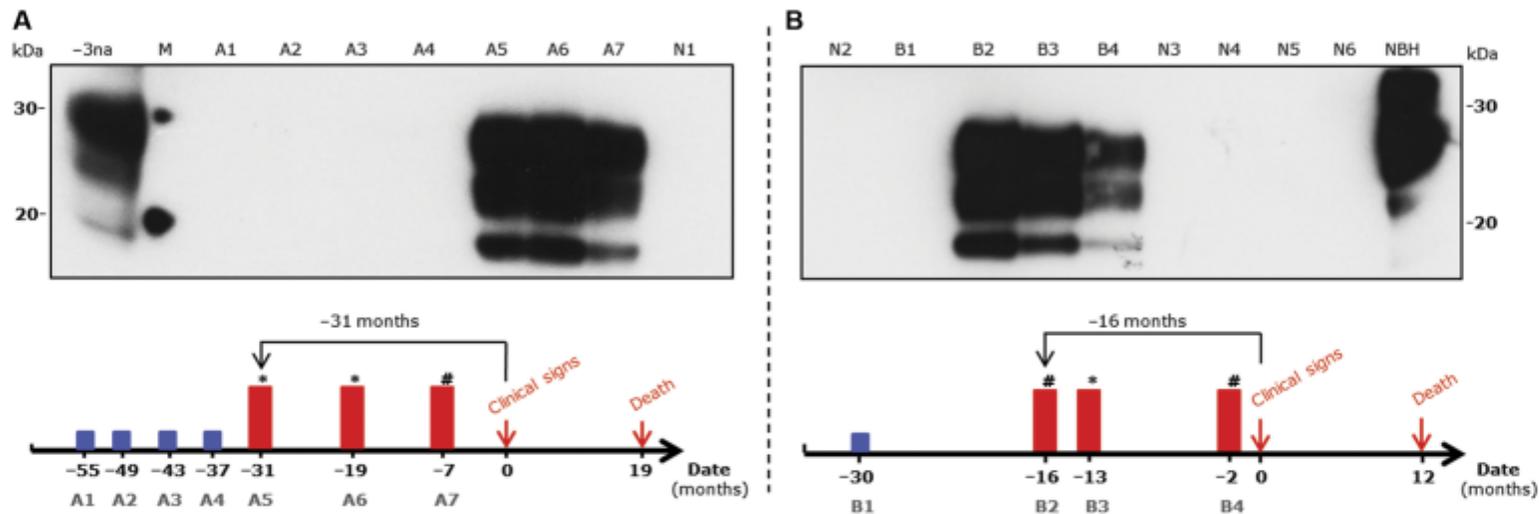
Detection of prions in the plasma of presymptomatic and symptomatic patients with variant Creutzfeldt-Jakob disease

Daisy Bougard,^{1*} Jean-Philippe Brandel,^{2,3,4} Maxime Bélondrade,¹ Vincent Béringue,⁵ Christiane Segarra,¹ Hervé Fleury,⁶ Jean-Louis Laplanche,^{4,7} Charly Mayran,¹ Simon Nicot,¹ Alison Green,⁸ Arlette Welaratne,³ David Narbey,⁹ Chantal Fournier-Wirth,¹ Richard Knight,⁸ Robert Will,⁸ Pierre Tiberghien,^{9,10} Stéphane Haïk,^{2,3,4} Joliette Coste^{1,9*}

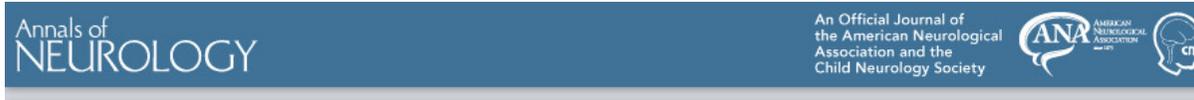
Il test ha permesso di rilevare il prione con una sensibilità ed una specificità del 100%

→ anche in fasi precliniche di malattia su sangue collezionato da donatori che successivamente hanno sviluppato vCJD

SCIENCE TRANSLATIONAL MEDICINE | RESEARCH ARTICLE



APPLICAZIONI RT-QuIC IN CAMPO DIAGNOSTICO – CJD sporadica

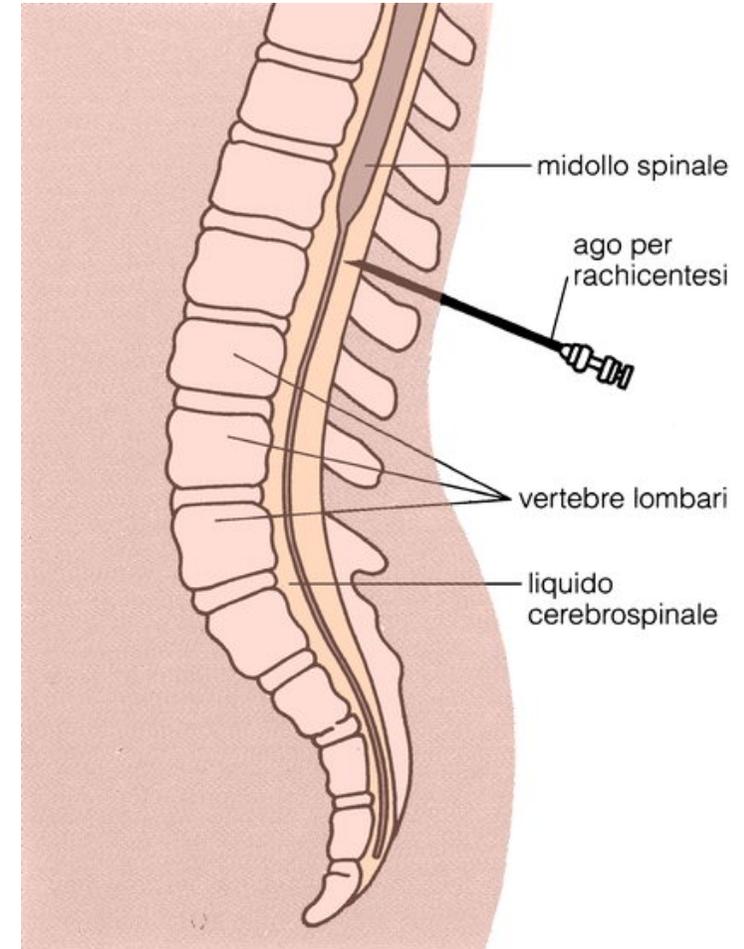


ORIGINAL ARTICLE

Real Time Quaking-Induced Conversion Analysis of Cerebrospinal Fluid in Sporadic Creutzfeldt–Jakob Disease

Lynne I. McGuire, PhD,¹ Alexander H. Peden, PhD,¹ Christina D. Orrú, PhD,²
Jason M. Wilham, PhD,² Nigel E. Appleford, Cbiol,³ Gary Mallinson, PhD,³
Mary Andrews, BSc,¹ Mark W. Head, PhD,¹ Byron Caughey, PhD,²
Robert G. Will, FRCP,¹ Richard S. G. Knight, FRCP,¹ and Alison J. E. Green, PhD¹

Il test ha permesso di rilevare il prione con una sensibilità del 91% e specificità del 98%



APPLICAZIONI RT-QuIC IN CAMPO DIAGNOSTICO – CJD sporadica

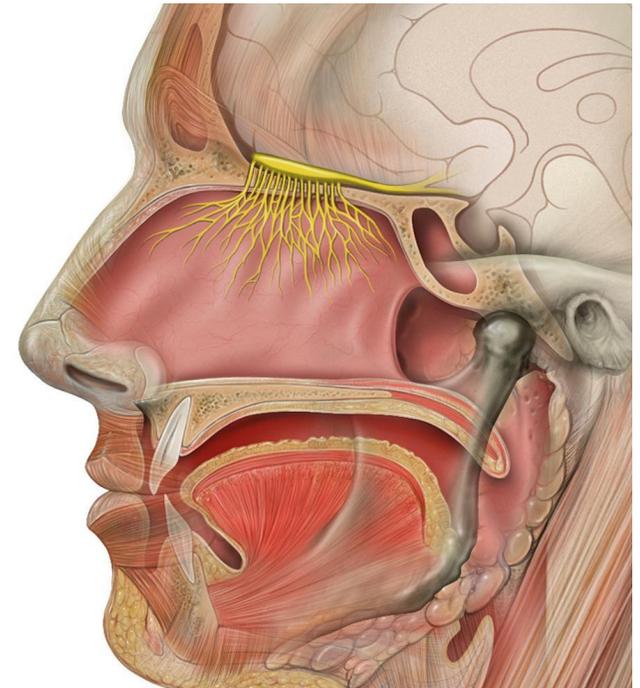
The NEW ENGLAND JOURNAL of MEDICINE

ORIGINAL ARTICLE

A Test for Creutzfeldt–Jakob Disease Using Nasal Brushings

Christina D. Orrú, Ph.D., Matilde Bongiani, Ph.D., Giovanni Tonoli, M.D.,
 Sergio Ferrari, M.D., Andrew G. Hughson, M.S., Bradley R. Groveman, Ph.D.,
 Michele Fiorini, Ph.D., Maurizio Pocchiari, M.D., Salvatore Monaco, M.D.,
 Byron Caughey, Ph.D., and Gianluigi Zanusso, M.D., Ph.D.

**Il test ha permesso di rilevare il
 prione con una sensibilità del
 97% e specificità del 100%**



APPLICAZIONI RT-QuIC IN CAMPO DIAGNOSTICO – CJD sporadica

SCIENCE TRANSLATIONAL MEDICINE | RESEARCH ARTICLE

PRION DISEASE

Prion seeding activity and infectivity in skin samples from patients with sporadic Creutzfeldt-Jakob disease

Christina D. Orrù,^{1*} Jue Yuan,^{2*} Brian S. Appleby,^{2,3,4*} Baiya Li,^{2,5*} Yu Li,^{2,6} Dane Winner,⁷ Zerui Wang,^{2,8} Yi-An Zhan,^{2,6} Mark Rodgers,² Jason Rarick,² Robert E. Wyza,⁹ Tripti Joshi,⁹ Gong-Xian Wang,⁶ Mark L. Cohen,² Shulin Zhang,² Bradley R. Groveman,¹ Robert B. Petersen,¹⁰ James W. Ironside,¹¹ Miguel E. Quiñones-Mateu,^{2,7} Jiri G. Safar,^{2,4} Qingzhong Kong,^{2,3,4,12†} Byron Caughey,^{1†} Wen-Quan Zou^{2,3,4,6,8,12,13†}

Copyright © 2017
The Authors, some
rights reserved;
exclusive licensee
American Association
for the Advancement
of Science. No claim
to original U.S.
Government Works



RESEARCH ARTICLE
Clinical Science and Epidemiology



Prion Seeds Distribute throughout the Eyes of Sporadic Creutzfeldt-Jakob Disease Patients

Christina D. Orrù,^a Katrin Soldau,^b Christian Cordano,^c Jorge Llibre-Guerra,^{d,e} Ari J. Green,^c Henry Sanchez,^f Bradley R. Groveman,^a Steven D. Edland,^{g,h} Jiri G. Safar,^{i,j} Jonathan H. Lin,^b Byron Caughey,^a Michael D. Geschwind,^e Christina J. Sigurdson^{b,k}

APPLICAZIONI PMCA/RT-QuIC IN CAMPO DIAGNOSTICO - FFI

PMCA

SCIENTIFIC REPORTS

OPEN

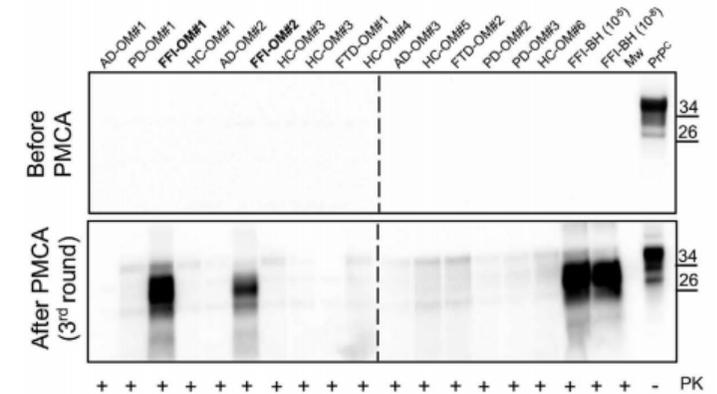
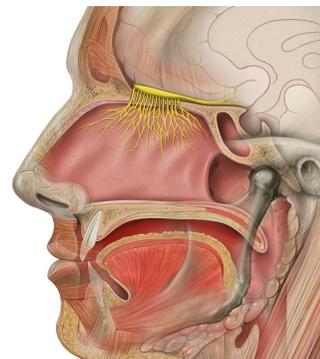
Detection of prion seeding activity in the olfactory mucosa of patients with Fatal Familial Insomnia

Received: 24 January 2017
Accepted: 14 March 2017
Published: 07 April 2017

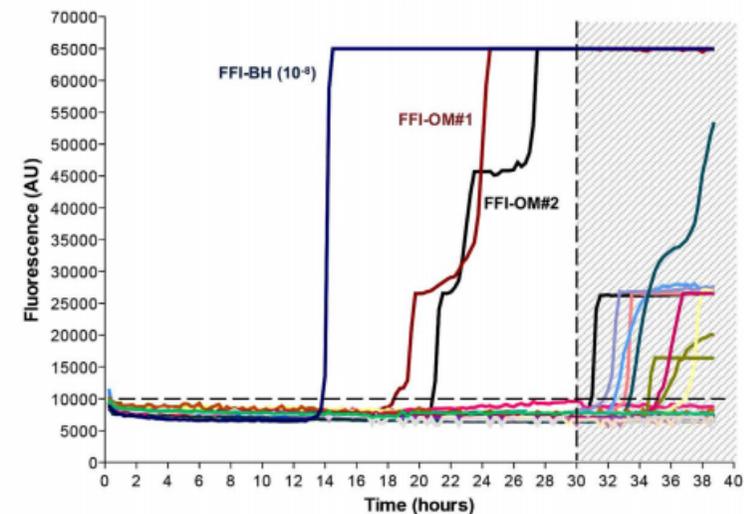
Veronica Redaelli^{1,*}, Edoardo Bistaffa^{1,2,*}, Gianluigi Zanusso^{3,*}, Giulia Salzano², Luca Sacchetto⁴, Martina Rossi^{1,2}, Chiara Maria Giulia De Luca¹, Michele Di Bari⁵, Sara Maria Portaleone⁶, Umberto Agrimi⁵, Giuseppe Legname^{2,7}, Ignazio Roiter⁸, Gianluigi Forloni⁹, Fabrizio Tagliavini¹ & Fabio Moda¹

Acknowledgements

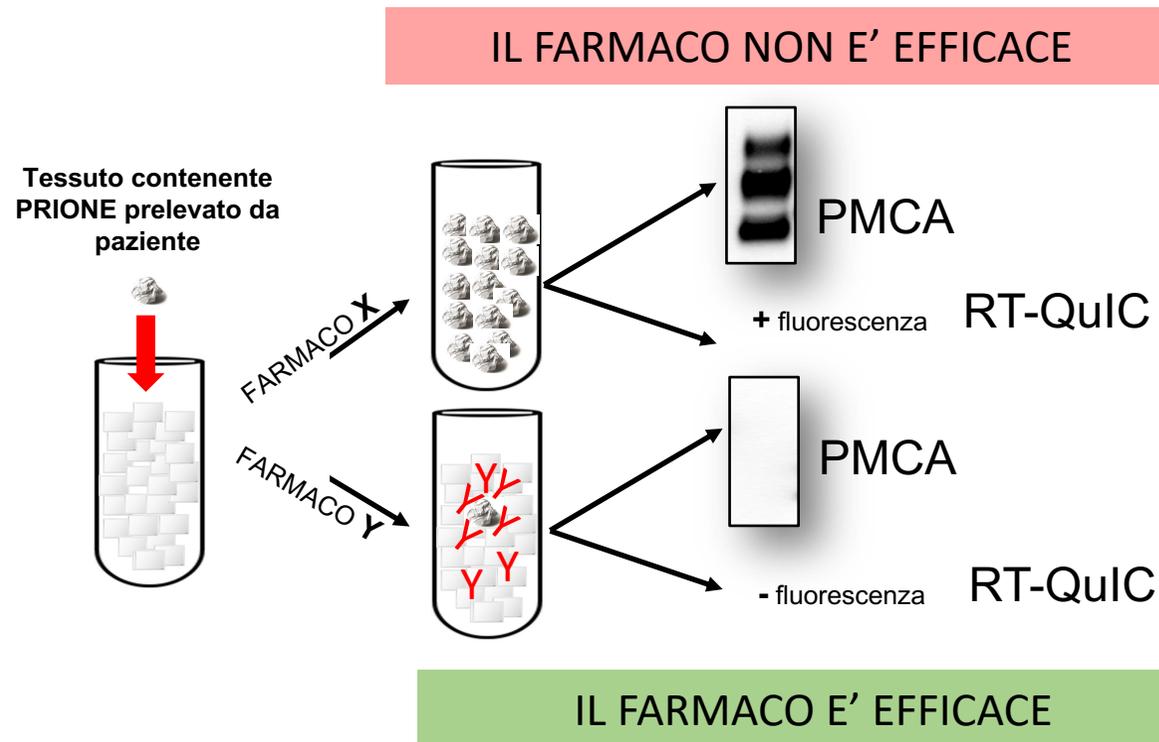
This work was supported in part by the Italian Ministry of Health (GR-2013-02355724), MJFF, ALZ, Alzheimer Research UK and the Weston Brain Institute (BAND2015), and La Fondation pour la Recherche Medical (FABS201402) to FM; the Italian Ministry of Health and Associazione Italiana Encefalopatie da Prioni (AIEnP) to FT; Teletthon (GSP14001) to GF. The funders had no role in the study design, data collection and analysis or th preparation of the manuscript.



B RT-QuIC



APPLICAZIONI PMCA IN CAMPO TERAPEUTICO



TERAPIA SPECIFICA PER OGNI PAZIENTE → MEDICINA PERSONALIZZATA

GRAZIE PER L'ATTENZIONE



**Grazie a tutti i
pazienti**

DOMANDE ?

