

LA ENFERMEDAD DE CREUTZFELDT-JAKOB

James W. Ironside

Unidad Nacional de Vigilancia de la Enfermedad
de Creutzfeldt-Jakob

Escuela de Medicina Molecular y

Clínica Universidad de Edimburgo

Western General Hospital

Reino Unido

Publicado por la Federación Mundial de Hemofilia (FMH), 2009

© World Federation of Hemophilia, 2009

La FMH alienta la redistribución de sus publicaciones por organizaciones de hemofilia sin fines de lucro con propósitos educativos. Para obtener la autorización de reimprimir, redistribuir o traducir esta publicación, por favor comuníquese con el Departamento de Comunicación a la dirección indicada abajo.

Esta publicación se encuentra disponible en la página Internet de la Federación Mundial de Hemofilia, www.wfh.org. También pueden solicitarse copias adicionales a:

Federación Mundial de Hemofilia
1425 René Lévesque Boulevard West, Suite 1010
Montréal, Québec H3G 1T7
CANADA
Tel.: (514) 875-7944
Fax: (514) 875-8916
Correo electrónico: wfh@wfh.org
Página Internet: www.wfh.org

El objetivo de la serie *Tratamiento de la hemofilia* es proporcionar información general sobre el tratamiento y manejo de la hemofilia. La Federación Mundial de Hemofilia no se involucra en el ejercicio de la medicina y bajo ninguna circunstancia recomienda un tratamiento en particular para individuos específicos. Las dosis recomendadas y otros regímenes de tratamiento son revisados continuamente, conforme se reconocen nuevos efectos secundarios. La FMH no reconoce, de modo explícito o implícito alguno, que las dosis de medicamentos u otras recomendaciones de tratamiento en esta publicación sean las adecuadas. Debido a lo anterior, se recomienda enfáticamente al lector buscar la asesoría de un consejero médico y/o consultar las instrucciones impresas que proporciona la compañía farmacéutica, antes de administrar cualquiera de los medicamentos a los que se hace referencia en esta monografía.

Las afirmaciones y opiniones aquí expresadas no necesariamente representan las opiniones, políticas o recomendaciones de la Federación Mundial de Hemofilia, de su Comité Ejecutivo o de su personal.

Monografías sobre El tratamiento de la hemofilia
Editor de la serie
Dr. Sam Schulman

Dirección para correspondencia

Dr. James W. Ironside
Professor of Clinical Neuropathology and Honorary Consultant Neuropathologist
National Creutzfeldt-Jakob Disease Surveillance Unit
Division of Pathology, School of Molecular and Clinical Medicine
University of Edinburgh
Western General Hospital
EH4 2XU
United Kingdom
Tel.: 44 131 537 1980
Fax : 44 131 343 1404
Correo-e: james.ironside@ed.ac.uk

Índice

Introducción	1
La hipótesis del prión	1
¿Qué es lo que causa las enfermedades priónicas?	1
Biología molecular de los priones	1
Detección y descontaminación de priones	2
Detección	2
Descontaminación	2
Enfermedades priónicas humanas	3
ECJ esporádica	3
Enfermedades priónicas genéticas	4
Enfermedades priónicas infecciosas	4
Variante de la ECJ	4
Infecciosidad de la sangre en enfermedades priónicas	7
Estudios experimentales	7
Transmisión de la vECJ por transfusión sanguínea	7
Potencial de transmisión de la vECJ a través de productos derivados de plasma	8
Infección asintomática por la vECJ en un paciente hemofílico en el Reino Unido	9
Prospectos futuros	9
Conclusión	10
Glosario	10
Agradecimientos	13
Referencias	13

La enfermedad de Creutzfeldt-Jakob

James W. Ironside

Introducción

La enfermedad de Creutzfeldt-Jakob (ECJ) forma parte de un grupo de enfermedades conocidas como **encefalopatías espongiformes transmisibles (EET)** o enfermedades **priónicas** [1, 2]. Éstas constituyen trastornos poco comunes y mortales que dan lugar a la destrucción progresiva del sistema nervioso. En animales, los mejores ejemplos conocidos son el *scrapie* (tembladera) en ovinos, y la encefalopatía espongiforme bovina (EEB, también conocida como la enfermedad de la vaca loca) en reses. Las enfermedades priónicas humanas constituyen un singular grupo de trastornos neurológicos que incluyen la ECJ, el síndrome Gerstmann-Sträussler-Scheinker, y el insomnio letal familiar.

Las enfermedades priónicas humanas presentan síntomas neurológicos progresivos y provocan la muerte, por lo general después de un periodo de varios meses. Si bien no existe una cura, se realizan extensos esfuerzos para encontrar un método de tratamiento o **paliativo** para las enfermedades priónicas.

Recientemente, el brote de una nueva forma de la ECJ en humanos (conocida como variante de la ECJ ó vECJ) se relacionó con el consumo de carne infectada con EEB. En el Reino Unido (RU), posteriormente se descubrió que un puñado de casos había tenido su origen en transfusiones de sangre proveniente de donantes infectados. Por tanto, la comunidad de trastornos de la coagulación ha estado preocupada por el potencial de transmisión de la vECJ a través de hemoderivados contaminados. Si bien hasta ahora no se han identificado tales casos clínicos, es necesaria una vigilancia continua.

La hipótesis del prión

¿Qué es lo que causa las enfermedades priónicas?

La naturaleza del agente transmisible que provoca las EET ha sido objeto de intenso debate durante muchas décadas. Los primeros estudios sobre el agente causante del *scrapie* señalaban que era de tamaño pequeño y notablemente resistente a los métodos de descontaminación más convencionales

(incluyendo fijación en formaldehído, exposición a temperaturas elevadas y, sorprendentemente, a la degradación por **enzimas** que destruyen ácidos nucleicos, los componentes básicos del ADN). Los ácidos nucleicos se encuentran en todos los organismos vivientes y son necesarios para la supervivencia y la reproducción. A pesar de muchos intentos, hasta ahora nadie ha encontrado pruebas contundentes de un componente de ADN en el agente infeccioso de las EET.

En 1982, Stanley Prusiner propuso por primera vez su **hipótesis del prión**, la cual sugería que el agente responsable de las EET estaba compuesto en su totalidad por una proteína (la proteína “priónica”) [3]. Su teoría fue sumamente controvertida porque iba en contra de las leyes fundamentales de la biología molecular, que establecen que todos los agentes infecciosos deberían estar formados por ADN para poder reproducirse.

Unos cuantos años después se descubrió el gen que codifica a la proteína priónica, en células tanto normales como infectadas. Prusiner llegó a la conclusión de que el agente transmisible era de hecho una versión anormal (mal plegada) de la proteína priónica, que normalmente se encuentra en la superficie externa de las células. Las enfermedades priónicas parecen ser el resultado de una acumulación de esta proteína anormal en las células del sistema nervioso central.

Biología molecular de los priones

En los seres humanos, el gen de la proteína priónica (PRNP) se ubica en el brazo corto del cromosoma 20. Codifica a una **proteína precursora** de 253 aminoácidos [2, 4] que normalmente está cortada, **glicosilada** y anclada a la superficie externa de la membrana celular. La forma celular normal de la proteína priónica (PrPC) se produce en muchos tejidos, entre ellos músculo esquelético, **células dendríticas foliculares**, **plaquetas** y **células endoteliales**, pero su mayor concentración se encuentra en las neuronas (células nerviosas) del sistema nervioso central [2].

La PrPC tiene una **semivida** corta, se disuelve en agua y es fácilmente degradada por enzimas **proteolíticas** [5]. Se desconoce la función exacta de la PrPC, aunque se han propuesto varias posibilidades, entre ellas

intervención en la transmisión de señales nerviosas y protección contra **estrés oxidativo**. En las enfermedades priónicas, una forma anormal de la PrP (designada PrP^{Sc}) se acumula en el sistema nervioso central. Esta proteína anormal tiene una secuencia de aminoácidos idéntica a la de la PrP^C, pero tiene una forma tridimensional diferente que la hace relativamente resistente a la degradación por enzimas proteolíticas [2] e insoluble en agua. La PrP^{Sc} está estrechamente relacionada con la infecciosidad en las enfermedades priónicas y parece ser el principal (si no es que el único) componente del agente transmisible.

Hasta ahora no se sabe a ciencia cierta exactamente dónde y cómo tiene lugar el plegamiento anormal de la proteína priónica en las enfermedades priónicas. No obstante, queda claro que la PrP^C normal debe estar presente para que las enfermedades priónicas se desarrollen. Ratones genéticamente modificados en los que se eliminó el gen del prión son resistentes a la infección priónica [6].

Detección de priones y descontaminación

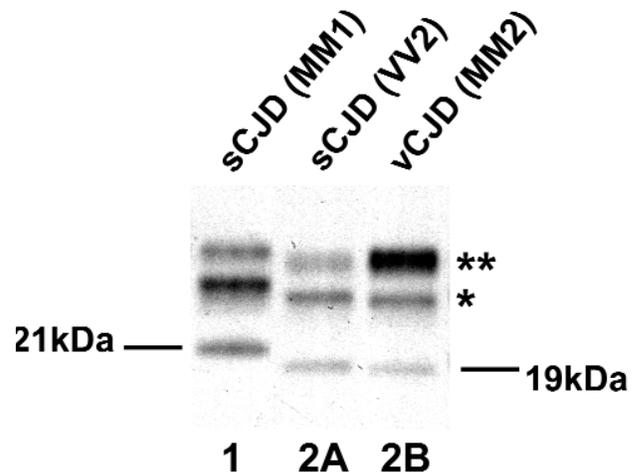
Detección

La única manera de confirmar un diagnóstico clínico de enfermedad priónica en seres humanos es realizar un examen neuropatológico del cerebro, generalmente durante la autopsia. La **biopsia** del cerebro no se realiza con frecuencia porque a menudo conduce a un empeoramiento de los síntomas. Al examinar el cerebro afectado por la enfermedad se observan varios cambios característicos en la materia gris del cerebro y el cerebelo, incluyendo la pérdida de neuronas, la cual deja una serie de pequeños agujeros en el cerebro, los que le confieren un aspecto de esponja (de ahí el término encefalopatía "espongiforme"). También pueden detectarse un incremento de los astrocitos y, en algunos casos, **placas amiloides** [1].

La detección de PrP^{Sc} en el cerebro constituye un importante auxiliar diagnóstico. Sin embargo, la mayoría de los **anticuerpos anti-PrP** actualmente disponibles reconocen las formas tanto normales como anormales de la proteína priónica. Por lo tanto, cualquier PrP^C normal en la muestra cerebral debe primero degradarse mediante proteólisis, quedando solamente PrP^{Sc} como una proteína parcialmente escindida (que puede existir en forma mono o diglicosilada o no glicosilada) (figura 1) [7]. La presencia de PrP resistente a la proteasa (PrP^{Sc}) ofrece un medio de diagnóstico molecular de las enfermedades priónicas [2].

Hay considerable interés en el desarrollo de nuevas tecnologías para la detección de PrP^{Sc} que tengan mayor sensibilidad que la obtenida con los actuales métodos [8]. A continuación se abordan algunas técnicas recientemente desarrolladas, en términos de su potencial para detectar PrP^{Sc} en sangre y hemoderivados.

Figura 1



Análisis *Western blot* de proteína priónica resistente a la proteasa (PrP^{Sc}) en dos casos de la enfermedad de Creutzfeldt-Jakob esporádica (sCJD, con genotipos MM y VV en el codón 129 del gen PRNP) y un caso de la variante de la enfermedad de Creutzfeldt-Jakob (vCJD). El tamaño de la banda no glicosilada (inferior) es 21kDa (denominada tipo 1) o 19kDa (denominada tipo 2). La PrP^{Sc} diglicosilada (**) predomina en la vCJD y el patrón es denominado tipo 2B para distinguirlo de los casos tipo 2, en los que predomina la forma monoglicosilada (*) (tipo 2A).

Descontaminación

Los métodos utilizados convencionalmente para eliminar bacterias y virus son en su mayoría ineficaces en el caso de priones. Las recomendaciones actuales para el control de infecciones en casos de enfermedades priónicas humanas incluyen la **esterilización en autoclave** a altas temperaturas, hidróxido de sodio en concentraciones molares y ácido fórmico concentrado [9]. No obstante, ninguno de estos métodos garantiza la eliminación total de la infecciosidad priónica, particularmente de tejidos como el cerebro, que son sumamente proclives a infecciones. Además, estos métodos no pueden utilizarse para descontaminar sangre o productos derivados de plasma, ya que comprometerían la eficacia y/o seguridad de los mismos. La necesidad de desarrollar una prueba de detección de enfermedades priónicas humanas constituye una prioridad importante en el intento

de reducir las posibilidades de diseminación de la enfermedad de persona a persona.

Enfermedades priónicas humanas

Las enfermedades priónicas humanas pueden clasificarse como esporádicas, genéticas o infecciosas (cuadro 1) [1, 2]. Los casos esporádicos ocurren en patrones irregulares, diseminados e impredecibles. Los casos genéticos se transmiten de padres a hijos, mientras que las formas infecciosas se adquieren ya sea por material contaminado (por ejemplo, carne o sangre) o por contacto de persona a persona.

Cuadro 1. Clasificación de las enfermedades priónicas humanas

Esporádicas:	Enfermedad de Creutzfeldt-Jakob esporádica Insomnio letal esporádico
Genéticas:	Enfermedad de Creutzfeldt-Jakob familiar Insomnio letal familiar Síndrome Gerstmann-Sträussler-Scheinker y variantes
Infecciosas:	Fuente bovina: variante de la enfermedad de Creutzfeldt-Jakob Fuente humana: Kuru Fuente iatrogénica : enfermedad de Creutzfeldt-Jakob

ECJ esporádica

La enfermedad priónica humana más común es la forma esporádica de la ECJ. Se ha encontrado en todas las regiones del mundo con una sorprendente incidencia uniforme de alrededor de 1.5 casos por

millón de población, por año [10]. Se desconocen las causas de la ECJ esporádica, aunque se han sugerido diversas posibilidades, entre ellas un efecto ambiental (desconocido) o sucesos aleatorios que resultan en la producción espontánea de PrPSc en el cerebro [2, 10].

La genética podría intervenir en el desarrollo de la ECJ esporádica. Existe una variación genética natural (**polimorfismo**) en el codón 129 del gen *PRNP* [2, 4] que puede codificar ya sea para metionina (M) o valina (V). La mayoría de la población caucásica normal es **heterocigota** (MV) para este codón (cuadro 2) [11]. Sin embargo, entre los casos de ECJ esporádica hay una predominancia de **homocigotas**, particularmente para metionina (MM) (cuadro 2). El significado biológico de esta observación es incierto, aunque sí parece indicar un factor de riesgo genético para la ECJ esporádica.

La ECJ esporádica se manifiesta en un amplio rango de edades, aunque la mayoría de los casos ocurren en la séptima década de la vida [10, 11]. Hombres y mujeres resultan igualmente afectados. La mayoría de los pacientes presenta demencia de progresión rápida acompañada de otros síntomas neurológicos, en particular **ataxia**, espasmos musculares, anormalidades visuales y signos **piramidales** y **extrapiramidales**. A diferencia de otras enfermedades demenciales más comunes, como la enfermedad de Alzheimer, la ECJ esporádica avanza rápidamente y los pacientes mueren dentro de los seis meses siguientes a la aparición de la enfermedad [10, 11].

Se han realizado varios estudios de caso control a fin de investigar si la transfusión de sangre constituye un factor de riesgo para la ECJ esporádica, y las

Cuadro 2. Polimorfismos de los genes de la proteína priónica en la población normal y en enfermedades priónicas

	Polimorfismos del codón 129 del gen de la proteína priónica (%)		
	MM	MV	VV
Población normal	39	50	11
ECJ esporádica	71	13	16
Variante de la ECJ	100	-	-

(M=metionina, V=valina)

pruebas parecen ser tranquilizadoras en el sentido de que este no es el caso [12, 13]. A pesar de argumentaciones ocasionales respecto a que la sangre de pacientes con ECJ esporádica es infecciosa (revisadas por Brown [14]), estudios neuropatológicos de personas con hemofilia fallecidas no han revelado ningún caso de enfermedad priónica preclínica o no diagnosticada y, hasta ahora, no hay pruebas epidemiológicas que indiquen que las personas que reciben grandes cantidades de hemoderivados o transfusiones de sangre corran un mayor riesgo de desarrollar ECJ **iatrogénica** [15, 16].

Enfermedades priónicas genéticas

Las enfermedades priónicas humanas hereditarias incluyen la forma familiar de la ECJ, el síndrome Gerstmann-Sträussler-Scheinker, y el insomnio letal familiar [1-4]. Todas se heredan como trastornos **autosómicos dominantes** con un alto grado de **penetrancia**. Cada una está relacionada con mutaciones patogénicas en el gen *PRNP* (mutaciones puntuales o inserciones en regiones de octapéptidos repetidos) que parecen afectar la estabilidad de la PrP^C, haciendo más probable su plegamiento anormal como PrP^{Sc}. Existen más de 30 mutaciones patogénicas del gen *PRNP* y las inserciones actualmente identificadas están relacionadas con una diversidad de características y síntomas que abarcan un amplio rango de trastornos neuropsiquiátricos [17]. Los estudios patológicos de estos trastornos poco comunes (que juntos equivalen a solo el 10% de todas las enfermedades priónicas humanas) son más limitados que los de la ECJ esporádica, pero hay pocas pruebas que indiquen que la infecciosidad de la PrP^{Sc} esté presente fuera del sistema nervioso central [17].

Enfermedades priónicas infecciosas

La primera enfermedad priónica humana infecciosa en ser identificada fue el kuru, un trastorno que en los años cincuenta alcanzó proporciones epidémicas entre la población fore de Papua Nueva Guinea. Esta enfermedad se transmitía a través del **endocanibalismo ritual** [18]. Dado que estas prácticas se abandonaron, la incidencia del trastorno ha disminuido considerablemente, aunque se ha registrado un pequeño número de casos en años recientes. Esto indica que la enfermedad podría tener un **periodo de incubación** de más de 40 años [19].

Se han registrado casos más recientes de transmisión iatrogénica de la ECJ mediante tratamientos médicos y procedimientos quirúrgicos, particularmente después de la administración de **hormona del crecimiento pituitaria** humana (usada para estimular el crecimiento en niños que carecen de la hormona) y el uso de trasplantes de **duramadre** (cuadro 3) [20, 21]. El análisis del gen *PRNP* en personas que recibieron hormona del crecimiento humana y posteriormente presentaron ECJ iatrogénica también ha señalado una predominancia de homocigotas en el codón 129 (que en el RU es homocigota para valina, en comparación con la ECJ esporádica) [22]. Nuevamente, no hay pruebas convincentes de que la ECJ iatrogénica haya ocurrido por transfusión de sangre o en receptores de hemoderivados, inclusive productos derivados de plasma [13-16].

Variante de la ECJ

En 1990 se reinició la vigilancia de la ECJ en el RU a fin de investigar los posibles efectos de la EEB (la "enfermedad de la vaca loca") en seres humanos. La

Cuadro 3. Transmisión iatrogénica de la enfermedad de Creutzfeldt-Jakob

Fuente de la infección	Número de casos reportados	Periodo de incubación (meses)
Instrumentos neuroquirúrgicos	4	12-28
Electrodos intracerebrales	2	16-20
Trasplante de córnea	2	16-320
Trasplante de duramadre	192	18-216
Hormona del crecimiento humana	198	55-456
Gonadotropina humana	5	144-192

EEB tuvo lugar como una epidemia en el ganado del RU, con más de 180,000 casos clínicos identificados desde los años ochenta pero, desde entonces, se ha calculado que hasta tres millones de cabezas de ganado infectado podrían haber ingresado a la cadena alimentaria en el RU [23]. Ha habido brotes menores de EEB en algunos otros países, particularmente en Portugal, España y Suiza, y casos aislados con una distribución más amplia que incluye Estados Unidos y Japón. En 1996 se informó sobre una nueva forma de enfermedad priónica humana, ahora conocida como variante de la ECJ (vECJ), en una serie de diez pacientes del RU [24].

Las pruebas convincentes de la relación entre la EEB y la vECJ provinieron de resultados de estudios experimentales en ratones, que demostraban que el agente de transmisión de la vECJ tiene propiedades biológicas idénticas a las del agente que causa la EEB [25, 26]. La vECJ es el único ejemplo de una enfermedad priónica humana adquirida de otra especie y, por tanto, es única dentro del espectro de enfermedades priónicas humanas (cuadro 1).

Un estudio de casos de control en el RU ha señalado que es muy probable que los seres humanos se hayan visto expuestos a la EEB a través del consumo de productos cárnicos contaminados, si bien no pueden excluirse otras posibilidades (como la exposición laboral) [27]. Hasta marzo de 2009 se habían reportado

168 casos de la vECJ en el RU, con 44 casos adicionales en otros diez países (cuadro 4). Algunos de los casos fuera del RU representan personas que anteriormente visitaron o residieron en el RU y se presume resultaron infectadas allí, mientras que la mayoría representa infecciones endógenas.

Características clínicas y moleculares de la vECJ

Existen varias diferencias notables entre las formas esporádica y variante de la ECJ. En primer lugar, la edad promedio al presentarse la enfermedad en la vECJ es considerablemente más joven que en pacientes con ECJ esporádica. La vECJ también tiene un perfil clínico, neuropatológico y bioquímico único (cuadro 5) [28]. Hasta ahora, todos los pacientes afectados por la vECJ son homocigotos para metionina en el polimorfismo del codón 129 del gen *PRNP*, lo cual indica una susceptibilidad genética a la vECJ en este subgrupo de la población.

Otra diferencia importante entre la vECJ y otras enfermedades priónicas humanas es la extensa presencia de PrP^{Sc} e infecciosidad en tejidos linfoides, entre ellos bazo, timo, ganglios linfáticos y tejido linfoide intestinal (por ejemplo, el apéndice) (figura 2) [29-32]. La PrP^{Sc} se acumula en células dendríticas foliculares dentro de los **centros germinales** de estos tejidos, y la biopsia de amígdalas se ha utilizado como prueba diagnóstica en algunos pacientes vivos [21]. Estudios con ratones endogámicos han demostrado que las

Cuadro 4. Casos mundiales de la variante de la ECJ (hasta marzo de 2009)

País	Número de casos primarios	Número de casos secundarios: transmisión por transfusión sanguínea
Reino Unido	165	3
Francia	23	-
España	5	-
Irlanda	4	-
Estados Unidos	3	-
Holanda	3	-
Portugal	2	-
Canadá	1	-
Italia	1	-
Japón	1	-
Arabia Saudita	1	-

Cuadro 5. Comparación entre ECJ esporádica y variante de la ECJ

	ECJ esporádica	Variante de la ECJ
Promedio de edad al momento de la muerte (años)	67	29
Duración promedio de la enfermedad (meses)	4	13
Síntomas psiquiátricos al inicio	Raros	Comunes
Demencia de progresión rápida	Común	Rara
Síntomas sensoriales	Raros	Comunes
Electroencefalograma	Complejos trifásicos periódicos en 66%	Complejos trifásicos periódicos poco comunes al final de la enfermedad
MRI del cerebro	Hiperseñal en ganglios basales en 70%	Hiperseñal en núcleos pulvinares del tálamo en >90%
Proteína 14.3.3. en el fluido cerebroespinal	Elevada en 90%	Elevada en 50%
Neuropatología	Cambio esponjiforme Placas amiloides en 15%	Cambio esponjiforme Placas floridas en 100%
Distribución de la PrP^{Sc}	Sistema nervioso central	Sistema nervioso central y tejidos linfoides
Isotipo de PrP^{Sc} en prueba Western blot	Varias formas identificadas (tipos 1A y 2A)	Una sola forma (tipo 2B) identificada con una banda diglicosilada predominante

muestras tisulares de bazo y amígdalas resultan infecciosas cuando se inyectan directamente al cerebro (si bien la infecciosidad de estas muestras tisulares presenta una disminución aproximada de 2-3 en escala logarítmica a la del tejido cerebral) [33].

No se encontró PrP^{Sc} en muestras de **capa leucocítica** de la vECJ y la inyección de capa leucocítica de pacientes con vECJ en el cerebro del ratón susceptible no demostró infecciosidad [31, 33]. No obstante, el número de muestras en estos estudios era pequeño y la sensibilidad de las técnicas usadas podría haber sido insuficiente para detectar bajas concentraciones de PrP^{Sc} e infecciosidad. La presencia de PrP^{Sc} e infecciosidad en tejidos linfoides en casos de vECJ ha llevado a sugerir que los **linfocitos** circulantes podrían acarrear infecciosidad en la sangre [34]. Estudios en modelos experimentales de enfermedades priónicas indican que los tejidos linfoides pueden resultar infectados poco después de la exposición y

pueden permanecer infecciosos durante todo el periodo de incubación [35].

La incidencia de la vECJ ha disminuido en el RU desde 1999-2000; sin embargo, un estudio retrospectivo de la prevalencia de la infección por la vECJ en el RU descubrió una acumulación de PrP relacionada con la enfermedad en apéndices extirpados quirúrgicamente y tejidos amigdalares en tres de 12,674 muestras [36]. Esta cifra es mayor que el actual número de casos de la vECJ en el RU e indicaría que los casos de la vECJ hasta ahora identificados podrían representar solo aquellos con los periodos de incubación más cortos. Otra explicación plausible sería que la infección por EEB podría no siempre resultar en enfermedad clínica, sino que podría producir un estado de **portador(a) asintomático(a)** en algunas personas.

Infeciosidad de la sangre en enfermedades priónicas

El potencial de transmisión de la vECJ a través de sangre y hemoderivados contaminados es de especial preocupación para la comunidad de trastornos de la coagulación. Si bien hasta ahora no se ha informado de ningún caso, la presencia de infeciosidad en la sangre, aunada a la ausencia de una prueba de detección sensible y al hecho de que la PrP^{Sc} es inmune a los procedimientos de inactivación viral usados en hemoderivados, implican la necesidad de una vigilancia continua.

Estudios experimentales

Estudios en modelos animales (incluidos tanto un modelo de hámster con *scrapie* 263K y un modelo de vECJ adaptado a ratón) han demostrado que las enfermedades priónicas pueden transmitirse a través de la sangre tanto durante el periodo de incubación como en la **fase clínica** de la enfermedad [37, 38]. En el modelo de hámster, la sangre entera parece contener alrededor de 10 dosis infecciosas (DI)/mL. La mayor parte de esta infeciosidad parece estar relacionada con glóbulos blancos y no con plaquetas; sin embargo, también puede haber infeciosidad en plasma y glóbulos rojos [37].

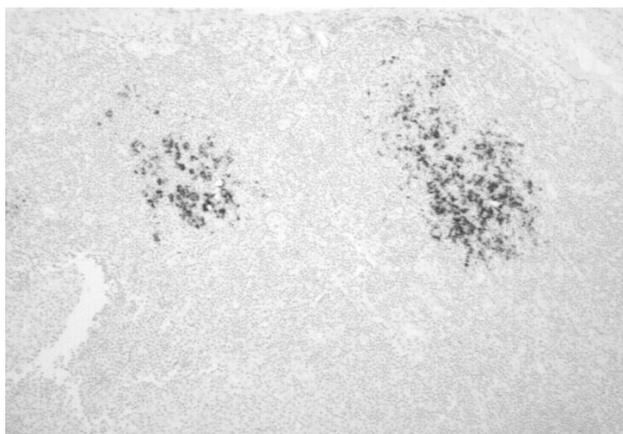
Recientemente se ha utilizado un modelo experimental de EEB en ovinos a fin de investigar la infeciosidad en la sangre. Un informe preliminar de este estudio

señalaba transmisión de EEB por transfusión de sangre entera de una oveja infectada, en la etapa preclínica de la enfermedad [39]. Transfusiones subsecuentes de sangre entera de animales infectados con EEB (durante las fases tanto preclínica como clínica de la infección) han dado por resultado una tasa de infección de por lo menos 36% [40]. En este modelo también se ha investigado la transmisión de *scrapie* a través de transfusiones de sangre, con una tasa de transmisión resultante de por lo menos 40%. También se informó de transmisión de la enfermedad en ovinos que recibieron transfusiones de un volumen relativamente pequeño de preparación de capa leucocítica a partir de sangre tomada del donante en la fase clínica final de la enfermedad [40]. Este modelo podría utilizarse para estudiar la distribución de la infeciosidad en los diferentes componentes de la EEB y de sangre ovina infectada con *scrapie*, y podría utilizarse también para estudiar el efecto de diversas intervenciones (tales como **desleucocitación**) en la infeciosidad de sangre, sus componentes y hemoderivados.

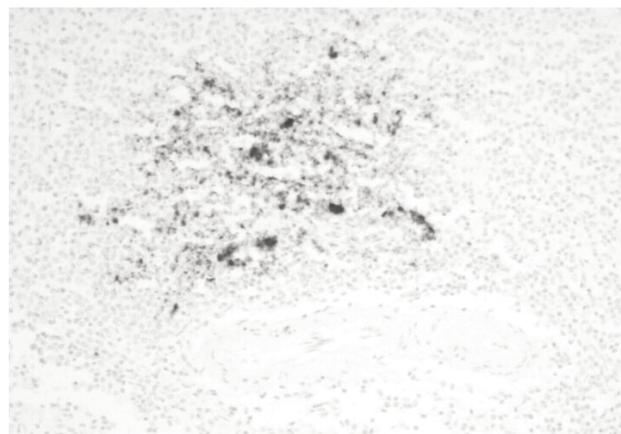
Transmisión de la vECJ por transfusión sanguínea

Diversas autoridades nacionales de sangre y la Unidad Nacional de Vigilancia de la ECJ (*National CJD Surveillance Unit*) del RU establecieron un estudio conjunto conocido como Revisión epidemiológica de la medicina de transfusión (*Transfusion Medicine Epidemiology Review*) a fin de investigar la posibilidad de transmisión de la vECJ mediante transfusiones de sangre. Hasta ahora, el estudio ha identificado

Figura 2. Detección de PrP en tejidos linfoides en la vECJ



A.



B.

El análisis inmunocitoquímico para la PrP en tejidos linfoides en la vECJ muestra coloración de células dendríticas foliculares y macrófagos dentro de los centros germinales en la amígdala (A) y el bazo (B). Anticuerpo anti-PrP (KG9) con contratinción de hematoxilina.

tres casos de vECJ en pacientes que recibieron una unidad de glóbulos rojos sin desleucocitar, proveniente de donantes asintomáticos al momento de la donación, pero que años después murieron de la vECJ [41, 42]. Los receptores presentaron síntomas de la vECJ de cinco a ocho años después de las transfusiones.

Las características clínicas y neuropatológicas de la enfermedad en estos tres pacientes eran sumamente similares a las de los demás casos de la vECJ, y los tres receptores eran homocigotos para metionina en el codón 129 del gen *PRNP* (al igual que todos los demás pacientes con vECJ). En 2004, la Unidad Nacional de Vigilancia de la ECJ del RU informó sobre los resultados de la autopsia a un paciente anciano que había recibido la transfusión de una unidad de glóbulos rojos sin desleucocitar de otro donante asintomático que 18 meses después de la donación presentó síntomas de la vECJ [43]. El receptor nunca presentó ningún síntoma de la vECJ y murió cinco años después a causa de otra enfermedad. Al examinar el tejido cerebral, no se encontraron cambios patológicos consistentes con la vECJ, y los análisis **inmunohistoquímico** y **Western blot** en busca de PrP^{Sc} en el cerebro resultaron negativos. No obstante, el análisis inmunohistoquímico reveló pruebas de PrP^{Sc} en el bazo y el ganglio linfático cervical, pero no en las amígdalas o el apéndice. El análisis Western blot confirmó la presencia de PrP^{Sc} en el bazo [43]. A diferencia de todos los casos clínicos de la vECJ, el receptor de esta transfusión era heterocigoto en el codón 129 (metionina/valina). Este caso da lugar a varias preguntas importantes, en particular, la influencia del **genotipo** en el codón 129 del gen *PRNP* en el periodo de incubación de la enfermedad y la posibilidad de que otros genotipos del gen *PRNP* resulten infectados por el agente de la EEB.

Es muy poco probable que la identificación de la vECJ en cuatro personas que recibieron transfusiones de sangre de donantes infectados con la vECJ haya ocurrido por casualidad, e indica que la sangre es infecciosa en personas asintomáticas durante la fase preclínica de la enfermedad. Como resultado de lo anterior se han tomado diversas medidas precautorias a fin de reducir la posibilidad de transmisión a través de sangre y hemoderivados en el RU [44]. Si bien es probable que ninguna de estas precauciones elimine todos los riesgos de transmisión de la vECJ a través de la sangre, parece probable que la desleucocitación pueda reducir los niveles de infecciosidad

de la sangre [45]. Estos descubrimientos también han hecho resurgir la preocupación respecto a que la vECJ pueda ser transmisible a través de hemoderivados, inclusive productos derivados de plasma, ya que se sabe que algunas de las donaciones de donantes asintomáticos que posteriormente murieron a causa de la vECJ fueron utilizadas en el procesamiento de plasma.

Potencial de transmisión de la vECJ a través de productos derivados de plasma

Varios modelos experimentales de enfermedades priónicas han demostrado infecciosidad en la sangre o sus componentes tanto durante el periodo de incubación como en la fase clínica de la enfermedad (véase Brown [14] para un análisis). Esto se ha demostrado tanto en animales con infecciosidad priónica endógena en la sangre, como en estudios de "adicionamiento", en los que a una muestra de sangre o plasma normal se "adiciona" tejido infectado con priones y sumamente infeccioso, por lo general del cerebro. Este último método también se ha utilizado para estudiar los efectos de varias etapas de procesamiento usadas en la producción de componentes de **plasma**. No obstante, los estudios de adicionamiento podrían no ser muy útiles, dado que parece poco probable que las propiedades físicas y/o químicas de la proteína priónica anormal en el cerebro (donde se encuentra en grandes acumulaciones) sean necesariamente las mismas que en la sangre.

En un estudio de adicionamiento de tejido del cerebro de un hámster infectado con *scrapie* a sangre humana normal se descubrieron las mayores concentraciones de infecciosidad en los componentes celulares de la sangre (glóbulos rojos y blancos, plaquetas), con concentraciones menores en plasma, **crioprecipitado**, y **fracciones de Cohn I-III**, y concentraciones casi nulas en las fracciones IV y V [46]. En un modelo de ratón del síndrome Gerstmann-Sträussler-Scheinker se detectaron concentraciones de infecciosidad endógena de entre 6-12 UI (unidades infecciosas)/mL en la capa leucocitaria, y ocasionalmente también presentes en plasma. En este modelo, la infecciosidad aumentó en la fase clínica de la enfermedad hasta cerca de 100 UI/mL en la capa leucocitaria, 20 UI/mL en plasma, 2 UI/mL en crioprecipitado, y menos de 1 UI/mL en las fracciones de Cohn IV y V [47]. Subsecuentemente se informó de descubrimientos similares en una cepa de la vECJ adaptada a ratón [38].

Los bajos niveles de infecciosidad en las fracciones de Cohn en dichos estudios apuntan a que las etapas de procesamiento utilizadas en la fabricación de estos componentes de plasma, que incluyen alfa-1 antitripsina y albúmina, podrían ser eficaces para reducir la infecciosidad priónica. Se ha informado que, durante el fraccionamiento de sangre a la que se ha "adicionado" tejido infectado, varias etapas de procesamiento (incluso precipitación con etanol y cromatografía de intercambio de iones) reducen potencialmente las concentraciones de PrP^{Sc} y, por ende, la infecciosidad priónica. Esto indicaría que es probable que al menos algunos productos derivados de plasma (particularmente inmunoglobulinas y albúmina) sean seguros con respecto a su potencial de transmisión de enfermedades priónicas [48, 49].

En el RU, el Departamento de Salud encargó un estudio de valoración del riesgo de la exposición a la infecciosidad de la vECJ en sangre y hemoderivados [50]. Se concluyó que los concentrados de factor de coagulación VIII y IX posiblemente tenían suficientes concentraciones de infecciosidad de la vECJ como para asegurar la implementación de medidas de salud pública en los receptores, con el fin de reducir al mínimo el posible riesgo de transmisión posterior. Si bien se reconoció que muchas de las suposiciones en esta valoración del riesgo eran pesimistas, con base en la recomendación de la Organización de Médicos de Centros de Tratamiento de Hemofilia (*Haemophilia Centre Doctors' Organisation*) del RU, se informó a todos los pacientes con trastornos de la coagulación que habían recibido tratamiento con concentrados de factor elaborados a partir de lotes de plasma del RU entre 1980 y 2001, que podrían correr un mayor riesgo de presentar infección por la vECJ, y se les solicitó que tomaran medidas precautorias a fin de evitar la posibilidad de una diseminación secundaria de la infección, por ejemplo a través de instrumentos quirúrgicos [51]. La Sociedad de Hemofilia del RU apoyó esta medida.

Infección asintomática por la vECJ en un paciente hemofílico en el Reino Unido

En febrero de 2009, la Agencia de Protección de la Salud (*Health Protection Agency*) del RU anunció la identificación de un caso de infección por vECJ asintomática en un paciente con hemofilia del RU [52]. El paciente formaba parte de un estudio que investigaba la prevalencia de infección por la vECJ en personas con trastornos de la coagulación en el RU, y que había sido incluido en el estudio luego de su muerte

por otras causas. En el transcurso de su vida, el paciente no había presentado ningún signo o síntoma de la vECJ (ni de ningún otro trastorno neurológico). El análisis bioquímico de su bazo descubrió indicios de PrP^{Sc} en una distribución muy localizada, mientras que los resultados del estudio de otros tejidos fueron negativos. Se sabía que el paciente había recibido factor VIII preparado de un lote de plasma que incluía donaciones de una persona que posteriormente murió a causa de la vECJ. Las investigaciones de este caso están incompletas; el paciente hemofílico había sido residente del RU y también había recibido varias transfusiones de sangre. No está claro si el descubrimiento bioquímico en este caso representa el resultado de una exposición primaria a la EEB a través de la dieta, es decir, el consumo de carne infectada con EEB, o infección secundaria mediante transfusión sanguínea o por productos derivados de plasma contaminados. Son necesarios más datos para realizar un análisis estadístico de la posibilidad relativa de cada una de estas posibilidades. No obstante, este caso refuerza la necesidad de vigilancia con respecto a la vECJ en pacientes potencialmente expuestos a la vECJ a través de sangre o productos derivados de plasma.

Prospectos futuros

Muchas de las preocupaciones respecto a la posible transmisión iatrogénica de la vECJ a través de sangre y componentes de plasma podrían reducirse si se contara con una prueba de detección sensible y específica. Hasta ahora, tal prueba no está disponible, aunque actualmente se encuentran bajo investigación varios métodos. La mayoría de ellos se basan en la detección de PrP^{Sc} en la sangre, lo cual se ha logrado en un modelo experimental de *scrapie*, usando la **prueba de amplificación cíclica del plegamiento anormal de las proteínas** (PMCA, por sus siglas en inglés) en animales tanto sintomáticos como asintomáticos [53, 54]. La prueba PMCA puede aplicarse a tejidos humanos para amplificar la PrP^{Sc} en casos de ECJ tanto esporádica como variante, pero hay algunas limitantes que deben considerarse en el diseño de la prueba [55, 56]. Esta técnica todavía no se ha reportado en sangre humana, aunque hay considerable interés en su aplicación. No obstante, la técnica de la prueba PMCA es bastante larga como para ser usada como prueba de detección. El uso de **péptidos** sensibles a los cambios estructurales que caracterizan a la PrP^{Sc} podría ser más adecuado [57].

Hasta ahora no se ha informado de ningún caso de enfermedad priónica humana transmitida por productos derivados de plasma. Sin embargo, dado el periodo de incubación potencialmente largo de estas enfermedades, es prematuro llegar a la conclusión de que tal caso nunca se presentará, por lo menos en lo que se refiere a la vECJ. Es necesaria la vigilancia de enfermedades priónicas humanas, particularmente en los países en los que se han registrado casos de la vECJ, a fin de evaluar esta posibilidad e investigar cualquier factor de riesgo potencial en casos futuros. También debería considerarse la posible utilización de una prueba de detección de la vECJ (dado que parece probable que se podrá contar con una en un futuro previsible), incluyendo la necesidad potencial de aplicar pruebas de detección a las personas al momento de donar sangre. La necesidad de un **consentimiento fundamentado** para tales pruebas (particularmente cuando se realizan a personas) es al presente motivo de debate, ya que la actual falta de cualquier tratamiento preventivo o terapéutico para las enfermedades priónicas pone en tela de juicio los beneficios potenciales para la persona sometida a la prueba. El desarrollo de tal tratamiento a partir de la amplia gama de sustancias que actualmente se encuentran bajo investigación no es algo inconcebible [58, 59], en cuyo caso sería necesario reevaluar el análisis de costo/beneficio y los principios éticos para aplicar la prueba de detección.

Conclusión

La vECJ es una nueva forma de enfermedad priónica humana cuya causa muy posiblemente sea la exposición al agente de la EEB a través de la dieta. La infecciosidad de la vECJ en el cuerpo, incluso en la sangre, está más extendida que la de otras formas de la ECJ. Hasta ahora se han registrado cuatro casos de infección por la vECJ posteriores a transfusiones de sangre proveniente de donantes asintomáticos quienes posteriormente murieron a causa de la vECJ. Es probable que el riesgo de transmisión a través de productos derivados de plasma sea bajo, pero actualmente esta posibilidad no puede descartarse por completo dados los largos periodos de incubación relacionados con las enfermedades priónicas humanas. Se requiere vigilancia continua a fin de investigar esta posibilidad. 🌐

Glosario

Albúmina: proteína que se encuentra en la sangre y ayuda a mantener el volumen de ésta en el cuerpo.

Alfa-1 antitripsina: enzima que evita que las proteínas sean degradadas por las proteasas.

Anticuerpos anti-PrP: los anticuerpos son proteínas producidas por el sistema inmunológico del cuerpo para reconocer y neutralizar partículas ajenas. Los anticuerpos también pueden producirse en el laboratorio para reaccionar de manera selectiva contra una molécula específica, en este caso la proteína priónica (PrP).

Astroцитos: células que apoyan a las neuronas, les proporcionan nutrientes y ayudan a repararlas.

Ataxia: incapacidad para coordinar los movimientos musculares voluntarios. Los signos incluyen torpeza, falta de precisión o inestabilidad.

(esterilización con) Autoclave: método de esterilización en el que los materiales se someten a altas temperaturas y vapor.

Autosómico dominante: 'autosómico' se refiere a cualquier cromosoma que no sean los cromosomas sexuales (X e Y). En genética, la dominancia se establece cuando la forma particular de un gen domina sobre otras formas, y siempre se expresa cuando está presente en un individuo. Una enfermedad heredada como trastorno autosómico dominante se presentará en cualquier persona que tenga aunque sea una sola copia del gen que provoca la enfermedad.

Biopsia: retiro y examen con fines diagnósticos de una muestra de células o tejido.

Capa leucocítica: parte de una muestra de sangre que contiene la mayoría de los glóbulos blancos y plaquetas.

Células dendríticas foliculares: células del sistema inmunológico ubicadas en pequeñas cavidades (foliculos) de los ganglios linfáticos. Los ganglios linfáticos se encuentran en todo el cuerpo y funcionan como filtros o trampas para atrapar partículas ajenas, entre ellas bacterias y virus.

Células endoteliales: células que conforman el recubrimiento interior de un tejido o un órgano.

Centros germinales: áreas dentro de los ganglios linfáticos en las que las células inmunológicas (linfocitos B) se dividen rápidamente.

Consentimiento fundamentado: acuerdo de un paciente para someterse a un tratamiento médico o quirúrgico o para participar en un experimento, luego de haber comprendido los riesgos que éstos conllevan.

Crioprecipitado: componente de la sangre obtenido mediante el congelamiento y descongelamiento del plasma. El crioprecipitado se utiliza para el tratamiento de enfermedades, tales como la hemofilia, en las que falta un factor de coagulación determinado, o después de una operación o un traumatismo.

Desleucocitación: proceso mediante el cual se retiran los leucocitos o glóbulos blancos de una muestra de sangre.

Duramadre: la más exterior, resistente y fibrosa de las tres membranas que cubren el cerebro y la médula espinal.

Encefalopatías espongiiformes transmisibles (EET): grupo de trastornos neurológicos mortales y de rápida progresión que afectan tanto a seres humanos como a animales y son causados por una infección con priones.

Endocanibalismo: práctica que consiste en comerse a los individuos muertos de la propia cultura, tribu o grupo social.

Endógeno: que es producido, originado o que crece desde dentro.

Enzima: molécula que acelera una reacción bioquímica específica en un organismo.

Estrés oxidativo: acumulación de moléculas destructoras, llamadas radicales libres, que puede dañar células humanas, incluso células del cerebro.

Extrapiramidal: subdivisión del sistema nervioso que agrupa las rutas al exterior del tracto piramidal. El sistema extrapiramidal interviene en la coordinación del movimiento. Los síntomas extrapiramidales son

alteraciones de los movimientos faciales o corporales, tales como andar torpe o una rigidez repentina.

Fase clínica: etapa de una enfermedad en la que los síntomas están presentes y es necesaria terapia o tratamiento de apoyo.

Fracciones de Cohn: el proceso de Cohn es un método usado para separar los diferentes componentes del plasma. Cada una de las cinco fracciones se separa del resto bajo condiciones de laboratorio específicas.

Genotipo: conformación genética de un organismo, o de una característica específica, por ejemplo, el color del cabello.

Glicosilado: modificado bioquímicamente mediante la adición de una molécula de azúcar.

Gonadotropina: hormona que actúa sobre las gónadas (ovarios en la hembra, testículos en el macho) a fin de fomentar la producción de hormonas sexuales y ya sea óvulos o esperma.

Heterocigota(o): cada individuo tiene dos copias, o alelos, de cada gen: una proveniente de la madre y otra del padre. Si ambas copias son diferentes, entonces se dice que el individuo es heterocigota para ese gen.

Hipótesis del prión: teoría científica desarrollada por Stanley Prusiner, que establece que una proteína anormal, que carezca de cualquier componente de ADN, es el agente causante de las encefalopatías espongiiformes transmisibles.

Homocigota(o): individuo en el que ambas copias, o alelos, de un gen particular (una heredada de la madre y otra del padre) son idénticas.

Hormona de crecimiento pituitaria: hormona producida por la glándula pituitaria que fomenta el crecimiento en los seres humanos. La glándula pituitaria es una estructura del tamaño de un guisante ubicada en la base del cerebro.

Iatrogénico: resultante de la acción de un médico o cirujano, de un tratamiento médico o de un procedimiento diagnóstico.

Inmunoglobulinas: también llamadas anticuerpos. Los anticuerpos son proteínas producidas por el sistema inmunológico del cuerpo para reconocer y neutralizar partículas ajenas.

(análisis) Inmunohistoquímico: técnica de laboratorio que utiliza anticuerpos etiquetados para buscar una proteína específica en una sección de tejido (examinada bajo el microscopio). Véase también **anticuerpos anti-PrP**.

Linfocito: tipo de glóbulo blanco que constituye un importante componente del sistema inmune.

Paliativo: alivio de los síntomas de una enfermedad sin cura; alivio temporal.

Penetrancia: proporción de individuos con una mutación que provoca un trastorno particular y que de hecho presentan el trastorno. Se dice que un trastorno tiene penetrancia completa si se presentan síntomas en todos los individuos que tienen la mutación causante de la enfermedad.

Péptido: proteína pequeña.

Periodo de incubación: periodo entre la adquisición de la infección y la aparición de síntomas de una enfermedad.

Piramidal: subdivisión del sistema nervioso. El tracto piramidal es una colección de fibras nerviosas que viajan entre el córtex cerebral y la médula espinal.

Placa amiloide: acumulación insoluble de una proteína anormal, llamada beta-amiloide, que se encuentra en los espacios entre las neuronas del cerebro. Las placas amiloides son una característica típica de la enfermedad de Alzheimer.

Plaquetas: pequeñas partículas en forma de disco que se encuentran en la sangre y que desempeñan un importante papel en la formación de coágulos.

Plasma: fracción transparente y líquida de la sangre, que no contiene células, pero en la que se encuentran los factores de coagulación.

Polimorfismo: variación común en la secuencia del ADN entre individuos.

Portador(a) asintomático(a): persona que ha contraído una enfermedad infecciosa o que tiene un gen que

provoca la enfermedad, pero que no presenta síntomas de la misma. Si bien no se ven afectadas por la enfermedad, las personas portadoras pueden transmitirla a otras.

Prión: partícula proteica que ha sido implicada como causante de varias enfermedades neurodegenerativas (tales como scrapie, enfermedad de Creutzfeldt-Jakob, y encefalopatía espongiiforme bovina). Es una versión anormal y causante de enfermedades de una proteína que se encuentra naturalmente, y es menos soluble y más resistente a la degradación por enzimas que su equivalente normal.

Proteína precursora: proteína que se modifica por una o varias reacciones bioquímicas.

Proteolítico: relativo a la degradación dirigida o descomposición de proteínas por enzimas celulares llamadas proteasas.

Prueba de amplificación cíclica del plegamiento anormal de las proteínas: tecnología usada para "amplificar" o hacer copias de proteínas anormales en una muestra de sangre, con lo que se facilita su detección y aislamiento; PMCA por sus siglas en inglés.

Pulvinar: extremo posterior del tálamo, estructura del cerebro que funciona como estación retransmisora de información sensorial (particularmente dolor y placer).

Semivida: tiempo necesario para que la mitad de una determinada cantidad de una sustancia sea eliminada del cuerpo.

(prueba) Western blot: prueba de laboratorio usada para identificar y separar proteínas de diferentes tamaños en una mezcla compleja, como una muestra de sangre.

Agradecimientos

La Unidad Nacional de Vigilancia de la Enfermedad de Creutzfeldt-Jakob recibe apoyo del Departamento de Salud y del gobierno escocés. Agradezco al doctor Mark Head por haberme facilitado la figura 1; a la señora Diane Ritchie por facilitarme la figura 2; a la señora Kirsteen Forrest por su apoyo secretarial, y a la Unidad de Científicos Biomédicos por su apoyo profesional. Este trabajo forma parte del proyecto de la Unión Europea titulado *EU NeuroPrion project* (FOOD-CT-2004-506579) subproyecto: TSELAB (QLK2-CT-2000-8152).

Referencias

1. Ironside JW. Creutzfeldt-Jakob disease. *Brain Pathol* 1996; 6: 379-88.
2. Prusiner SB. Prions. *Proc Nat Acad Sci USA* 1998; 95: 13363-83.
3. Prusiner SB. Novel proteinaceous infectious particles cause scrapie. *Science* 1982; 216: 136-44.
4. Goldfarb LG, Brown P, Cervenakova L, Gajdusek DC. Molecular genetic studies of Creutzfeldt-Jakob disease. *Mol Neurobiol* 1994; 8: 89-97.
5. Borchelt DR, Scott M, Taraboulos A, Stahl N, Prusiner SB. Scrapie and cellular prion proteins differ in their kinetics of syntheses and topology in cultured cells. *J Cell Biol* 1990; 110: 743-52.
6. Weissmann C, Büeler H, Fischer M et al. PrP-deficient mice are resistant to scrapie. *Ann N Y Acad Sci* 1994; 724: 235-40.
7. Ironside JW, Head MW, Bell JE, McCardle L, Will RG. Laboratory diagnosis of variant Creutzfeldt-Jakob disease. *Histopathology* 2000; 37: 1-9.
8. MacGregor I. Prion protein and developments in its detection. *Transfus Med* 2001; 11: 3-14.
9. WHO Infection Control Guidelines for Transmissible Spongiform Encephalopathies. *World Health Organisation* 2000, Geneva.
10. Brown P, Cathala F, Raubertas RF, Gajdusek DC, Castaigne P. The epidemiology of Creutzfeldt-Jakob disease: conclusion of a 15-year investigation in France and review of the world literature. *Neurology* 1987; 37: 895-904.
11. Alperovitch A, Zerr I, Pocchiari M et al. Codon 129 prion protein genotype and sporadic Creutzfeldt-Jakob disease. *Lancet* 1999; 353: 1673-4.
12. Kitamoto T, Mohri S, Tateishi J. Organ distribution of proteinase-resistant prion protein in humans and mice with Creutzfeldt-Jakob disease. *J Gen Virol* 1989; 70: 3371-9.
13. Esmonde TFG, Will RG, Slattery JM et al. Creutzfeldt-Jakob disease and blood transfusion. *Lancet* 1993; 341: 205-7.
14. Brown P. Can Creutzfeldt-Jakob disease be transmitted by transfusion? *Curr Opin Haematol* 1995; 2: 472-7.
15. Evatt B, Austin H, Barnhart E, Schonberger L, Sharer L, Jones R, DeArmond S. Surveillance for Creutzfeldt-Jakob disease in patients with haemophilia. *Transfusion* 1998; 38: 817-20.
16. Lee CA, Ironside JW, Bell JE et al. Retrospective neuropathological review of prion disease in UK haemophilic patients. *Thromb Haemost.* 1998; 80: 909-11.
17. Kovacs GS, Trabattoni G, Hainfellner JA, Ironside JW, Knight RS, Budka H. Mutations of the prion protein gen: phenotypic spectrum. *J Neurol* 2002; 249: 1156-82.
18. Gajdusek DC, Vidas V. Degenerative disease of the central nervous system in New Guinea: the endemic occurrence of 'kuru' in the native population. *New Engl J Med* 1957; 257: 974-8.
19. Collinge J, Whitfield J, McKintosh E et al. Kuru in the 21st century - an acquired human prion disease with very long incubation periods. *Lancet* 2006; 367: 2068-74.
20. Brown P, Brandel JP, Preece M, Sato T. Iatrogenic Creutzfeldt-Jakob disease: the waning of an era. *Neurology* 2006; 67: 389-93.
21. Brown P, Preece M, Brandel J-P et al. Iatrogenic Creutzfeldt-Jakob disease at the millennium. *Neurology* 2000; 55: 1075-81.
22. Collinge J, Palmer MS, Dryden AJ. Genetic predisposition to iatrogenic Creutzfeldt-Jakob disease. *Lancet* 1991; 337: 1441-2.
23. Smith PG, Bradley R. Bovine spongiform encephalopathy (BSE) and its epidemiology. *Br Med Bull* 66:185-98.
24. Will RG, Ironside JW, Zeidler M et al. A new variant of Creutzfeldt-Jakob disease in the UK. *Lancet* 1996; 347: 921-5.
25. Bruce ME, Will RG, Ironside JW et al. Transmissions to mice indicate that 'new variant' CJD is caused by the BSE agent. *Nature* 1997; 389: 498-501.
26. Scott MR, Will R, Ironside J et al. Compelling transgenetic evidence for transmission of bovine spongiform encephalopathy prions to humans. *Proc Natl Acad Sci USA* 1999; 96: 15137-42.

27. Ward HJ, Everington D, Cousens SN et al. Risk factors for variant Creutzfeldt-Jakob disease: a case-control study. *Ann Neurol* 2006; 59: 111-20.
28. Ironside JW, McCardle L, Horsburgh A, Lim Z, Head MW. Pathological diagnosis of variant Creutzfeldt-Jakob disease. *APMIS* 2002; 110: 79-87.
29. Hill AF, Zeidler M, Ironside JW, and Collinge J. Diagnosis of new variant Creutzfeldt-Jakob disease by tonsil biopsy. *Lancet* 1997; 349: 99-100.
30. Hill AF, Butterworth RJ, Joiner S et al. Investigation of variant Creutzfeldt-Jakob disease and other human prion diseases with tonsil biopsy samples. *Lancet* 1999; 353: 183-9.
31. Wadsworth JD, Joiner S, Hill AF et al. Tissue distribution of protease resistant prion protein in variant Creutzfeldt-Jakob disease using a highly sensitive immunoblotting assay. *Lancet* 2001; 358: 171-80.
32. Hilton DA, Fathers E, Edwards P, Ironside JW, Zajicek J. Prion immunoreactivity in appendix before clinical onset of variant Creutzfeldt-Jakob disease. *Lancet* 1998; 352: 703-4.
33. Bruce ME, McConnell I, Will RG, Ironside JW. Detection of variant Creutzfeldt-Jakob disease infectivity in extraneural tissues. *Lancet* 2001; 358: 208-9.
34. Turner ML, Ironside JW. New-variant Creutzfeldt-Jakob disease: the risk of transmission by blood transfusion. *Blood Rev* 1998; 12: 255-68.
35. Weissmann C, Raeber AJ, Montrasio F et al. Prions and the lymphoreticular system. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 2001; 356: 177-84.
36. Hilton DA, Ghani AC, Conyers L et al. Prevalence of lymphoreticular prion protein accumulation in UK tissue samples. *J Pathol* 2004; 203: 733-9.
37. Holada K, Vostal JG, Theisen PW et al. Scrapie infectivity in hamster blood is not associated with platelets. *J Virol* 2002; 76: 4649-50.
38. Cervenakova L, Yakovleva O, McKenzie C et al. Similar levels of infectivity in the blood of mice infected with human-derived vCJD and GSS strains of transmissible spongiform encephalopathy. *Transfusion* 2003; 43: 1687-94.
39. Houston F, Foster JD, Chong A, Hunter N, Bostock CJ. Transmission of BSE by blood transfusion in sheep. *Lancet* 2000; 356: 999-1000.
40. Houston F, McCutcheon S, Goldmann W et al. Prion diseases are efficiently transmitted by blood transfusion in sheep. *Blood* 2008; 112: 4739-45.
41. Hewitt PE, Llewelyn CA, Mackenzie J, Will RG. Creutzfeldt-Jakob disease and blood transfusion: results of the UK Transfusion Medicine Epidemiological Review study. *Vox Sang* 2006; 91: 221-30.
42. Wroe SJ, Pal S, Siddique D et al. Clinical presentation and pre-mortem diagnosis of Creutzfeldt-Jakob disease associated with blood transfusion. *Lancet* 2006; 368: 2061-7.
43. Peden AH, Head MW, Ritchie DL, Bell JE, Ironside JW. Preclinical vCJD after blood transfusion in a PRNP codon 129 heterozygous patient. *Lancet* 2004; 364: 527-9.
44. Ludlam CA, Turner ML. Managing the risk of transmission of variant Creutzfeldt-Jakob disease by blood products. *Brit J Haematol* 132, 13-24.
45. Gregori L, McCombie N, Palmar D et al. Effectiveness of leucoreduction for removal of infectivity of transmissible spongiform encephalopathies from blood. *Lancet* 2004; 364: 529-31.
46. Brown P, Rohwer RG, Dunstan BX et al. The distribution of infectivity in blood components and plasma derivatives in experimental models of transmissible spongiform encephalopathy. *Transfusion* 1998; 38: 810-6.
47. Brown P, Cervenaková L, McShane LM et al. Further studies of blood infectivity in an experimental model of transmissible spongiform encephalopathy, with an explanation of why blood components do not transmit Creutzfeldt-Jakob disease in humans. *Transfusion* 1999; 39: 1169-78.
48. Stenland CJ, Lee DC, Petteway SR, Rubenstein R. Partitioning of human and sheep forms of the pathogenic prion protein during the purification of therapeutic proteins from human plasma. *Transfusion* 2002; 42: 1497-1500.
49. Gregori L, Maring JA, MacAuley C et al. Partitioning of TSE infectivity during ethanol fractionation of human plasma. *Biologicals* 2004; 32: 1-10.
50. DH risk assessment for vCJD infectivity in blood products. *Det Norske Veritas* 2003 http://www.dnv.com/binaries/vCJD_Update_Report_tcm4-74414.pdf.
51. Variant CJD and blood products. Health Protection Agency 2004 http://www.hpa.org.uk/webw/HPAweb&HPAwebStandard/HPAweb_C/1195733818681?p=1191942152861.

52. Health Protection Agency. Variant CJD and plasma products. Press Release 2009
[.http://www.hpa.org.uk/webw/HPAweb&HPAwebStandard/HPAweb_C/1195733818681?p=1225960597236](http://www.hpa.org.uk/webw/HPAweb&HPAwebStandard/HPAweb_C/1195733818681?p=1225960597236).
53. Castilla J, Saá P, Soto C. Detection of prions in blood. *Nat Med* 2005; 11: 982-5.
54. Saá P, Castilla J, Soto C. Presymptomatic detection of prions in blood. *Science* 2006; 313: 92-4.
55. Jones M, Peden AH, Prowse CV et al. In vitro amplification and detection of variant Creutzfeldt-Jakob disease PrP^{Sc}. *J Pathol* 2007; 213: 21-6.
56. Jones M, Peden AH, Yull H, Wight D, Bishop MT et al. Human platelets as a substrate source for the in vitro amplification of the abnormal prion protein (PrP) associated with variant Creutzfeldt-Jakob disease. *Transfusion* 2008 *in press*.
57. Pan T, Sethi J, Nelsen C et al. Detection of misfolded prion protein in blood with conformationally sensitive peptides. *Transfusion* 2007; 47: 1418-25.
58. Head MW, Ironside JW. Inhibition of prion-protein conversion: a therapeutic tool? *Trends Microbiol* 2000; 8: 6-8.
59. Caughey B, Caughey WS, Kocisko DA et al. Prions and transmissible spongiform encephalopathy (TSE) chemotherapies: A common mechanisms for anti-TSE compounds? *Acc Chem Res* 2006; 39 (9): 646-53.

