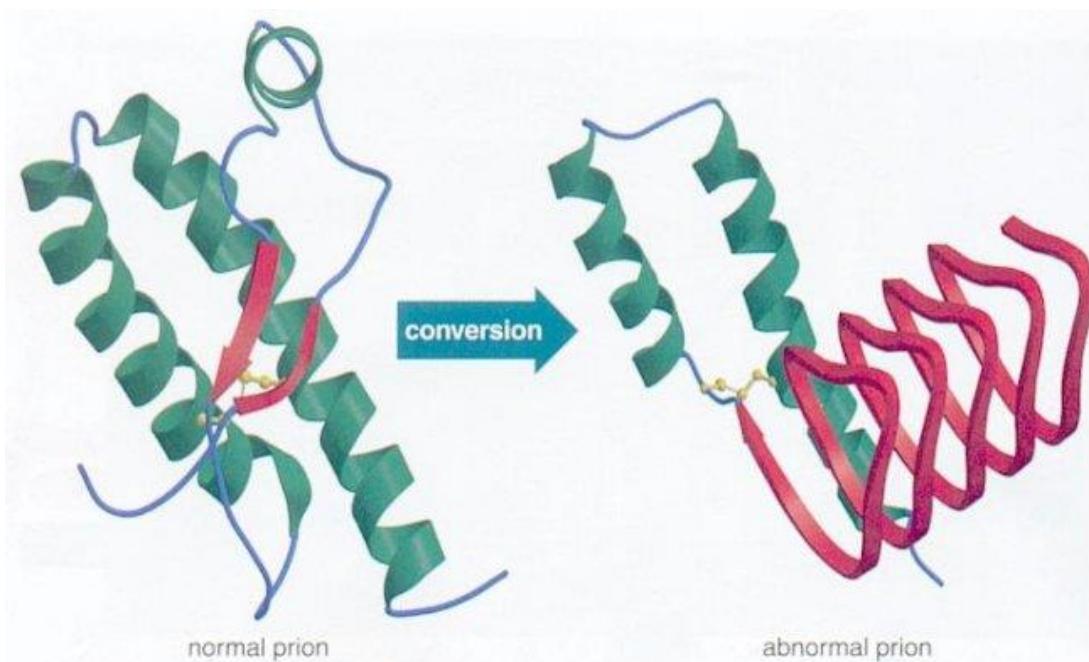


TEMA 2. ENFERMEDADES CAUSADAS POR PRIONES: ENCEFALOPATÍAS ESPONGIFORMES TRANSMISIBLES.



Autoras: Inés Espartero Rodríguez, Clara Linares Menchón, Elena Manzanos Bartolome, Leyre Vélez Fernández

4º Curso del Grado de Bioquímica

Asignatura: Microbiología clínica

Curso: 2025-2026

Microbiología clínica

Grado en Bioquímica
Departamento de Biología Molecular
JMRR-UAM © 2025

ÍNDICE

1. INTRODUCCIÓN.	3
2. BIOLOGÍA DEL AGENTE INFECCIOSO.	6
3. LA ENFERMEDAD EN HUMANOS.	8
4. ASPECTOS MOLECULARES DE LA PATOGÉNESIS PrP.	11
5. TROPISMO DE ESPECIE Y BARRERA DE ESPECIES.	18
6. CEPAS, ASILADOS Y TIPOS DE PRIONES.	21
7. UNA TEORÍA UNIFICADORA DE CEPAS Y BARRERA DE ESPECIE.	27
8. APROXIMACIÓN AL TRATAMIENTO DE LAS ENFERMEDADES TSE.	29
9. BASES MOLECULARES DE LA PATOLOGÍA DE LAS ENFERMEDADES PRIÓNICAS.	31
10. EXPANSIÓN DE LA PROTEÍNA PRIÓNICA EN EL ORGANISMO.	35
11. CUESTIONES POR RESOLVER.	37
12. REFERENCIAS	39

1. Introducción.

Como vamos a ver en este tema, los priones son proteínas con la capacidad de inducir enfermedades. Además, son infecciosos, lo que supone romper con el paradigma de que la información es portada sólo por los ácidos nucleicos y expresada en forma de proteínas, ya que estas proteínas contienen una información que al ser transmitida a otras proteínas va a ser causa de la enfermedad.

Por otro lado, proteínas priónicas se han identificado en organismos como levaduras y otros hongos donde desempeñan papeles fundamentales. Así, las alteraciones conformacionales, que constituyen los priones, son autorreplicantes y pueden ser transferidas entre células y organismos, haciendo que los caracteres asociados sean transmitidos como enfermedades infecciosas (como ocurre en mamíferos) o hereditarios en la división celular (como ocurre en hongos). Hasta ahora, los priones se han descrito en dos especies de hongos, la levadura *Saccharomyces cerevisiae* y el hongo multicelular *Podospora anserina*. En estos organismos, hasta ahora, 9 proteínas han sido confirmadas como priónicas. Estas proteínas constituyen unos sistemas epigenéticos que han evolucionado en base a que pueden modificar de una forma rápida un fenotipo celular en respuesta a un cambio ambiental sin necesidad de introducir cambios en la secuencia o función del genoma.

Actualmente, se define como prion a toda proteína codificada en el genoma que ha experimentado un cambio de tal forma que la molécula alterada es capaz de promover la alteración de la molécula normal. Además, cada vez está más extendida la idea de que los priones no son una anormalidad biológica, que en mamíferos es causa de enfermedades, sino que probablemente son piezas importantes de los mecanismos reguladores.

Las encefalopatías espongiformes transmisibles (TSE, *Transmissible Spongiform Encephalopathies*) o enfermedades priónicas son un grupo inusual de enfermedades degenerativas del cerebro que son transmitidas entre individuos por la inoculación o ingestión de cerebro enfermo u otros tejidos. Dentro de este tipo de enfermedades se encuentran el “scrapie” en las ovejas, la encefalopatía espongiforme bovina (o mal de las vacas locas) en vacas, la enfermedad de Creutzfeldt-Jakob, el kuru y el síndrome Gerstmann-Straussler-Scheinker (GSS) en humanos.

Todas estas enfermedades son causadas por agentes infecciosos distintos a los habituales: virus, bacterias o parásitos. Son causadas por la proteína priónica PrP (*prion protein*). El término “prion” fue acuñado en 1982 por Stanley Prusiner para referirse al agente causante de las enfermedades TSE, y deriva de la frase en inglés “proteinaceous infectious particle”.

Los priones se encuentran entre los agentes más letales, pues van a producir un 100% de mortalidad una vez que aparecen los primeros síntomas clínicos.

Las TSEs se han descrito en muy diferentes especies de animales: humanos, ratones, ovejas, vacas, cerdos, gatos, etc. El agente infeccioso en los animales enfermos se encuentra principalmente en cerebro, médula espinal y tejidos linfoides (bazo, nódulos linfáticos y timo). Sin embargo, los procesos patológicos parecen ocurrir sólo en el SNC.

La demencia y la ataxia cerebelar son los síntomas clínicos más habituales, en la mayoría de los casos conduce a la muerte del individuo infectado en meses o años. La patología ocurre principalmente en el S.N.C. y consiste en una astrocitosis severa (figura 1c), acompañada de una vacuolización (figura 1a y 1b) y pérdida de neuronas, lo que da un aspecto espongiforme al tejido afectado. Además, con frecuencia, se observan fibras o placas amieloides.

No se observan procesos inflamatorios celulares, ni respuestas inmunológicas celulares o humorales, como ocurre cuando se producen infecciones por el resto de agentes infecciosos (virus, bacterias y parásitos).

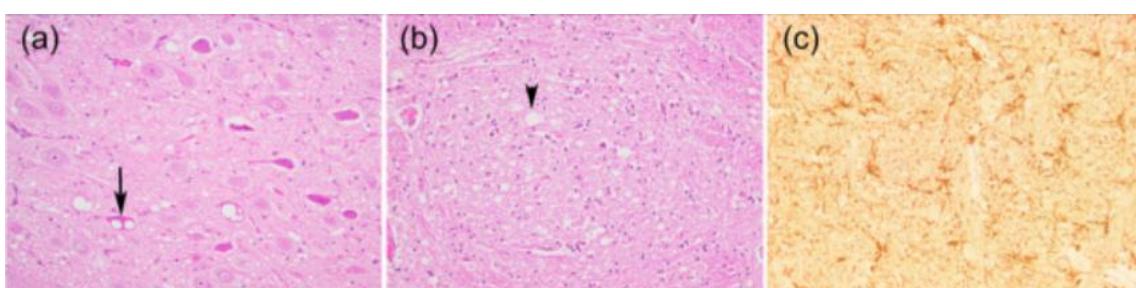


Figura 1: Características neuropatológicas de enfermedades priónicas. a) vacuolización neuronal causado por Scrapie; b) vacuolización del neuropilo por BSE; c) astrogliosis por Scrapie atípica. Imagen sacada de Orge et al (2021).

El “scrapie” es una enfermedad en ovejas descrita hace unos 200 años en Europa. La naturaleza infecciosa de esta enfermedad fue reportada en 1899 por Besnoit y, posteriormente, se demostró que era debida a un agente de naturaleza filtrable. El mecanismo de la transmisión permanece incierto, se sugiere que la placenta u otros tejidos, desprendidos en el momento del parto, pueden contaminar los pastos, y así pasar a infectar a las ovejas que se alimenten de ellos.

La aparición en Inglaterra en 1986 de la encefalopatía espongiforme bovina (BSE, *bovine spongiform encephalopathy*), que rápidamente se convirtió en una gran epidemia, se atribuyó a la transmisión del “scrapie” de las ovejas a las vacas a través de alimentos contaminados preparados a partir de restos de ovejas. Alternativamente, la epidemia también pudo ser producida por el reciclaje de casos de BSE esporádicos, dado que las vacas también fueron empleadas para producir alimentos para vacas.

Más de 180.000 casos de BSE fueron registrados en el Reino Unido, aunque el número total de animales infectados se estimó en más de dos millones. BSE también se ha producido en otros países (principalmente europeos), con epidemias significativas en Suiza, Irlanda y Portugal.

Además de estas, otras enfermedades priónicas o variantes de estas mismas fueron identificándose por todo el mundo en diferentes especies a lo largo de los siglos XX y XIX, como se recoge en la figura 2.

Lo que resultó aún más preocupante es que estas enfermedades podían ser transmitidas entre especies por inoculación o a través de la dieta. Se estimó que unas 200 personas murieron, la mayoría en Reino Unido, por una nueva forma de TSE conocida como variante de la enfermedad de Creutzfeldt-Jakob (vCJD, *variant Creutzfeldt-Jakob disease*). Existen datos experimentales que demuestran que esta enfermedad está causada por la misma especie de prion que causó la BSE.

Otro ejemplo de cómo estas enfermedades se transmiten lo encontramos en la transmisión del kuru en las tribus de Papua Nueva Guinea, debida a las prácticas caníbales, de comer a sus familiares muertos. Estas prácticas dejaron de hacerse a finales de los años 50.

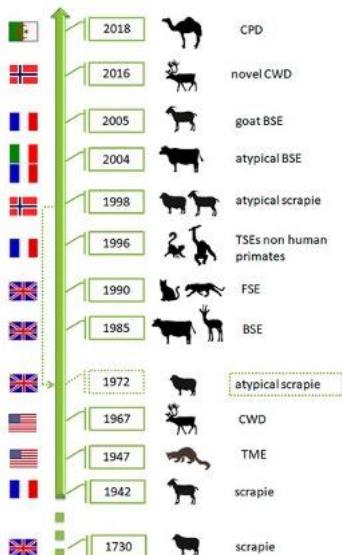


Figura 2: Cronología de la observación de enfermedades priónicas en animales. TME – encefalopatía transmisible del visón; CWD – enfermedad de desgaste crónico; BSE – encefalopatía espongiforme bovina; FSE – encefalopatía espongiforme felina; CPD – enfermedad priónica de camellos. Imagen sacada de Orge et al (2021).

2. Biología del agente infeccioso.

Mediante experimentos de ultrafiltración se demostró que el agente TSE tenía un tamaño entre 20 y 100 nm, un tamaño parecido al de algunos virus convencionales. Sin embargo, el empleo de técnicas de ultracentrifugación han puesto de manifiesto una gran heterogeneidad en tamaño. Además, un problema para la caracterización es que resulta difícil diferenciar entre el pico del agente infeccioso y el resto de material biológico.

Lo que sí se observó pronto es que los agentes TSE eran mucho más resistentes a la inactivación por luz UV o radiación ionizante que cualquiera de los virus analizados. Dado que el principal efecto de la radiación se ejerce sobre los ácidos nucleicos, esto hizo pensar que los agentes TSE tendrían un genoma muy pequeño o un sistema extremadamente eficiente de reparación. También se vio que los agentes TSE eran mucho más resistentes que los virus frente a tratamientos químicos, tales como el formaldehido, el alcohol o el amoniaco. Además, son resistentes al calentamiento hasta ebullición o al autoclavado convencional. De hecho, una forma de propagación de TSE entre pacientes ha sido por una incompleta inactivación con formaldehido del material quirúrgico. Entre los métodos probados, el tratamiento del material

con NaOH 1N y su posterior autoclavado a 121°C durante 1 hora se ha mostrado eficaz en la inactivación de los priones.

Análisis bioquímicos sobre extractos de cerebro con “scrapie”, enriquecidos con el agente infeccioso, condujeron al descubrimiento de una proteína resistente a proteasas, nombrada como PrP o proteína prion, como el agente infeccioso causante del “scrapie”. Esta proteína es el principal componente de las fibras observadas en los cerebros con “scrapie”.

A partir de la secuenciación de la proteína priónica, se pudo clonar el cDNA PrP utilizando muestras de RNA procedentes de cerebros con “scrapie” de ratón y hámster. Lo sorprendente fue descubrir que el mRNA PrP no era específico de cerebros con “scrapie”, sino que es expresado en similares niveles tanto en animales normales como en animales infectados con “scrapie”. Asimismo, se vio que la proteína PrP se expresa en muchos otros tipos de células y tejidos, además del cerebro.

La paradoja de que la proteína PrP estuviera presente tanto en cerebros enfermos como en sanos se resolvió al encontrar que la PrP asociada a TSE es resistente a proteasas (PrP-res) mientras que la PrP normal es sensible a proteasas (PrP-sen). Con frecuencia a la proteína PrP-res se le conoce como PrP^{Sc} (PrP de “scrapie”) mientras que a la PrP-sen se le conoce también como PrP^c. La transformación de la PrP-sen normal a la PrP-res es la causa de la patogénesis de las enfermedades TSE.

La PrP-res se detecta mediante “Western-blot” en extractos de cerebros de todas las enfermedades TSE en todos los animales susceptibles, y este procedimiento es el mejor método de diagnóstico de estas enfermedades. Como se muestra en la figura 3, tras el tratamiento con proteinasa K de extractos de tejidos de animales sospechosos, en los casos que se sigan detectando bandas con los anticuerpos anti-PrP se puede concluir que el animal está infectado.

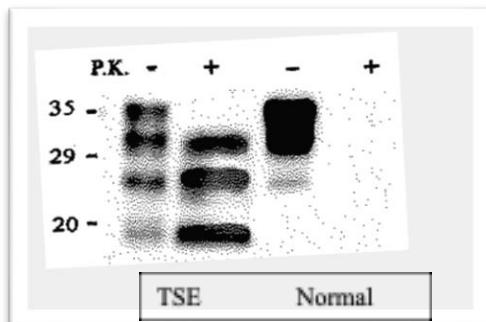


Figura 3: Resultado de prueba Western Blott como diagnóstico de enfermedades TSE. Se compara una muestra afectada por TSE (izquierda) y una normal (derecha), sin tratar (-) y tratadas con proteinasa K (+). Aguzzi et al (2004).

3. La enfermedad en humanos.

Se trata de desórdenes neurodegenerativos raros, con una incidencia mundial de 1-2 persona(s) por millón y por año. Sin embargo, en los últimos años ha crecido el miedo hacia estas afecciones al comprobarse que, a través de usos dietéticos, son verdaderas amenazas para la salud pública. Es por esto por lo que la aparición de la enfermedad en ganado se monitoriza anualmente, y se registra un descenso significativo de focos de BSE y Scrapie en España entre 2001 y 2024 (Fig. 4).

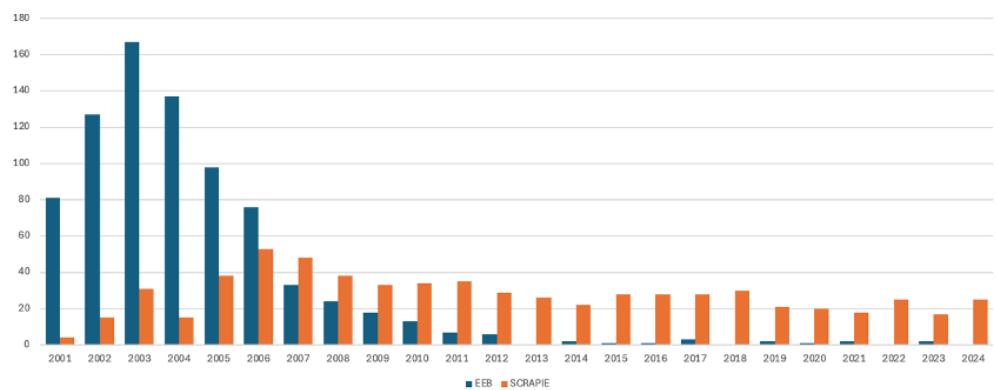


Figura 4: Focos de EEB (azul) y Scrapie (rojo) detectados en España entre 2001 y 2024.
Creación propia basada en datos de <https://www.mapa.gob.es/es/>.

En humanos, las enfermedades TSE se subdividen en tres grupos: infecciosas, familiares y esporádicas. Las enfermedades de los tres grupos pueden ser transmitidas a primates a través de la ingestión de cerebro. Y todas se caracterizan por la acumulación de la proteína PrP^{Sc} en el sistema nervioso central, bien en la forma de placas o de depósitos sinápticos.

3.1. TSE infecciosa.

Este grupo lo componen el kuru, la TSE iatrogénica y la vCJD. En todos los casos, está claro que los pacientes han estado expuestos al agente TSE a través del contacto con tejidos cerebrales o material contaminado con el agente TSE. Este grupo supone el 2-5% de todas las enfermedades priónicas. Casos de TSE iatrogénica se han inducido por trasplante de córnea de pacientes con TSE o por neurocirugía, a través de la utilización de instrumentos

incompletamente esterilizados que con anterioridad se habían empleado con pacientes TSE. Estudios han demostrado que los priones se adhieren con mucha facilidad a las superficies metálicas. También se han reportado 226 casos en personas a las que se les había inoculado la hormona de crecimiento preparada a partir de glándulas pituitarias procedentes de cadáveres, entre los que previsiblemente se encontraba algún paciente TSE no diagnosticado. También se han descrito 228 casos en personas que han recibido trasplantes de duramadre (procedentes de cadáveres con enfermedad CJD no diagnosticada).

Existen evidencias que relacionan la BSE y la vCJD. Las neuropatológicas asociadas a esta enfermedad muestran características distintivas del resto de enfermedades priónicas en humanos. Un hecho que llama la atención es que en todos los casos de vCJD han ocurrido con personas que eran homocigotos para metionina en la posición 129 de la proteína priónica (determinado por la secuencia del gen), como se muestra en la tabla 1. Hasta ahora se han descrito 230 casos, de los que 178 han ocurrido en Reino Unido. La mayoría de los casos han ocurrido durante la segunda/tercera década de las personas afectadas. Los primeros síntomas clínicos son problemas sensoriales y psiquiátricos que progresan a estados de demencia.

Tabla 1. Genotipo del codón 129 del gen codificante para PrP

Frecuencia del genotipo (%)	MM	MV	VV
Población caucásica normal	38	51	11
CJD esporádica	71	15	14
CJD variante	100	0	0

Hasta ahora, se han descrito cuatro casos de vCJD, cuya transmisión parece haber ocurrido como consecuencia de transfusión sanguínea. Estos datos indican que los priones BSE podrían recircularizar entre humanos.

3.2. TSE familiar.

Esta enfermedad está asociada con la presencia de una alteración genética dominante autosomal del gen PrP. Se asocian con mutaciones patogénicas o inserciones en la fase de lectura abierta del gen PrP; hasta ahora se han descrito unas 40 mutaciones diferentes en el gen PrP asociadas a enfermedad. Estas enfermedades suelen desarrollarse en la edad media de una persona, y suponen alrededor del 10-15% de las enfermedades priónicas. Estas enfermedades

se denominan CJD familiar o GSS familiar dependiendo de si la característica clínica principal es demencia (CJD) o ataxia cerebelar (GSS). También a este grupo de enfermedades pertenece la enfermedad del insomnio fatal (FFI, *fatal familial insomnia*). Aunque aún no se conocen con certeza las causas de estas diferencias patológicas, se relacionan con las distintas variantes del gen PRNP, cuyas variaciones en aminoácidos se expresan fenotípicamente como distintas enfermedades. Actualmente, asociamos las variantes E200K y V201I a CJD, P102L a GSS y D178N a IFF.

3.3.TSE esporádica.

La más frecuente dentro de este grupo es la enfermedad de Creutzfeldt-Jakob (CJD) esporádica. Esta enfermedad ocurre con una incidencia mundial de 1 persona por cada millón de población y por año, supone el 85% de las enfermedades priónicas. Suelen ocurrir en personas mayores de 70 años. En este grupo no se ha detectado una asociación tan clara como en vCJD con alelos PrP mutantes (ver Tabla 1) ni tampoco que los pacientes hayan estado expuestos al agente TSE a través del contacto con personas o animales con TSE, pero si se considera un aumento de la probabilidad de desarrollar la enfermedad en individuos homocigotos para Metionina o Valina en el gen RPNN M129V. La hipótesis actual es una mutación somática sobre PrP o a través de un proceso estocástico que desencadena la formación espontánea de PrP-res sin una mutación PrP. Se manifiesta como una demencia que evoluciona muy rápidamente, acompañada de dificultades en los movimientos y problemas visuales. La muerte suele ocurrir dentro de los 6 meses tras la aparición de los síntomas.

En la figura 5 se muestra la localización anatómica de los priones en el cerebro de acuerdo con el tipo de enfermedad; también se indican los síntomas clínicos asociados a cada enfermedad.

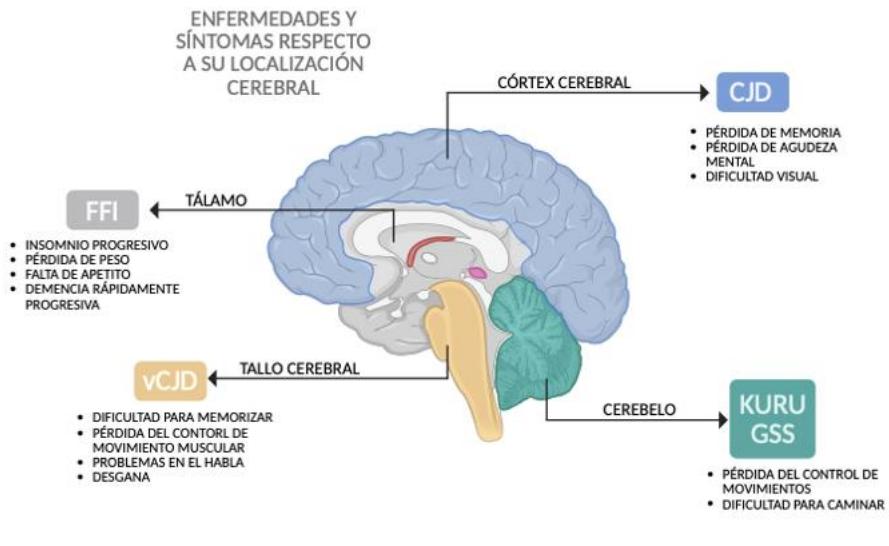


Figura 5: Localización en el encéfalo de los priones en las distintas encefalopatías espongiformes transmitibles y sus síntomas característicos. Imagen de elaboración propia en Biorender.

4. Aspectos moleculares de la patogénesis PrP.

Como se indicó antes, la PrP-res parece desempeñar un papel central en las enfermedades TSE, por lo que es importante entender en qué difieren la PrP-res y la PrP-sen normal y qué es lo que conduce a la formación de PrP-res. Hay que recordar que tanto la forma normal como la anormal son codificadas por el mismo gen. Así, parece que las diferencias entre PrP-res y PrP-sen pueden ser conformacionales o, además, debidas a interacciones con cofactores. De hecho, análisis conformacionales han mostrado evidencias de que la PrP-res tiene mayor contenido en estructura secundaria de hoja-beta que la PrP-sen (Fig. 6). En cambio, PrP-sen tiene un alto contenido en α -hélice. Sin embargo, la proteína es estructuralmente polidispersa, y de ahí la dificultad en cristalizarla.

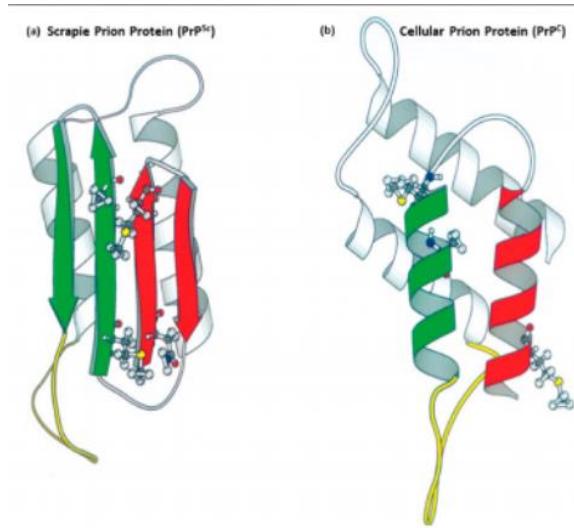


Figura 6: Estructura de una proteína priónica normal (PrP^{c}) y la conformación alterada de la proteína priónica (PrP^{Sc}). Obtenida de Huang et al (1996)

La PrP es sintetizada inicialmente como un polipéptido de 253 aminoácidos (Fig. 7). Sin embargo, un péptido señal N-terminal de 22 aminoácidos es retirado durante la biosíntesis y otros 23 aminoácidos son retirados del extremo C-terminal durante la adición de glicosilfosfatidilinositol (GPI). Así, la PrP madura consta de 209 aminoácidos. En el extremo N-terminal existen cuatro repeticiones del octapéptido PHGGGWGQ, cada una de estas repeticiones interacciona con un átomo de Cu(II) u otros cationes divalentes, lo que ha llevado a sugerir un papel de la proteína en la defensa frente al daño oxidativo.

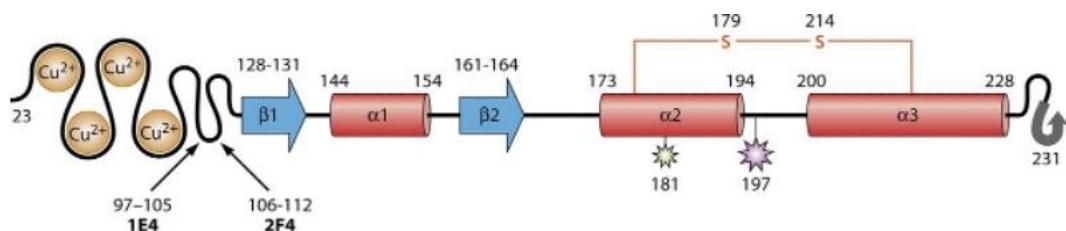


Figura 7: Esquema de la estructura obtenida por resonancia magnética nuclear para la proteína PrP^{c} . Obtenida de Das & Zou (2016).

La PrP, como una típica glicoproteína de membrana plasmática, comienza su ciclo metabólico en el retículo endoplasmático (RE), donde sufre glicosilación de restos de manosa (la proteína tiene dos sitios posibles de glicosilación, N-181 y N-197), la formación de un puente disulfuro entre los residuos C-179 y C-214, y adquiere el anclaje GPI (Fig. 8). En el

aparato de Golgi continúa el proceso de glicosilación, y finalmente es transportada a la membrana plasmática (Fig. 8). Se observa también cierta recirculación entre la superficie celular y vesículas endocíticas. La vida media de la proteína sobre la membrana se estima en unas 3-6 horas. La proteína puede ser retirada de la membrana con tratamientos con fosfolipasa o proteasas.

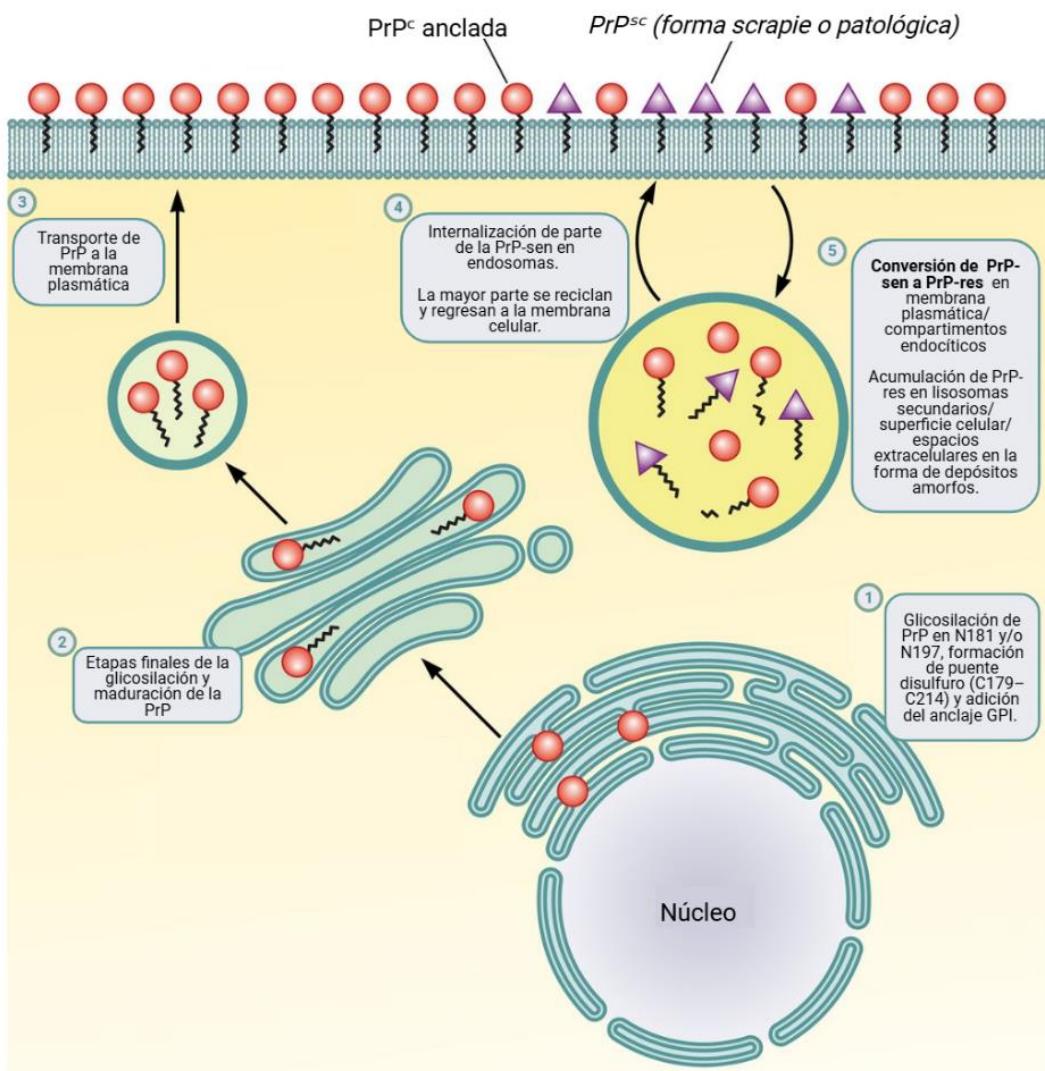


Figura 8. Esquema del recorrido de la proteína priónica desde su síntesis en el retículo endoplasmático hasta su anclaje mediante GPI en la membrana plasmática y recirculación endocítica. Figura elaborada con BioRender. Modificada a partir de Das & Zou (2016).

Al contrario de lo que ocurre con la PrP normal, la PrP-res sobre las células infectadas con “scrapie” es resistente a los tratamientos con fosfolipasa y proteasas (proteína K).

Además, la PrP-res presenta un recambio hacia el interior de las células muy bajo, lo que explica su acumulación in vivo. La conversión de PrP al estado de resistencia a proteasas ocurre probablemente en la membrana plasmática o a lo largo de vías endocíticas hacia los lisosomas (Fig. 8). El proceso de transformación requiere una desnaturalización parcial de PrP-sen que es favorecida en medio ácido. Una vez formada, PrP-res se acumula en lisosomas secundarios, sobre la superficie celular o en espacios extracelulares en la forma de depósitos amorfos, fibrillas o placas amieloides densas. En la figura 9 se muestra un modelo hipotético de cómo estarían estructuradas las fibras de proteína PrP-res.

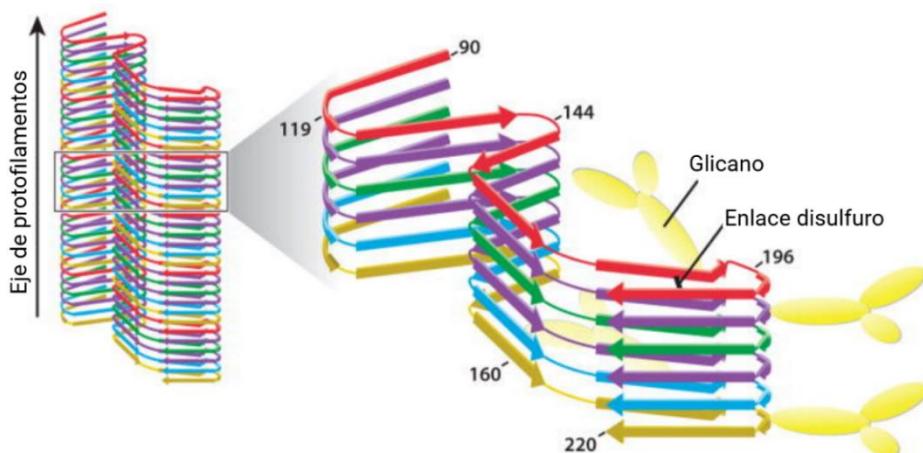


Figura 9. Estructura de los oligómeros de PrP-res que dan lugar a la formación de fibrillas mediante el apilamiento de monómeros a lo largo del eje del protofilamento, formando hojas β paralelas. Cada hebra coloreada representa un monómero de PrP. Figura elaborada con BioRender. Modificada a partir de Kraus et al. (2013).

Cómo se forma la PrP-res ha sido motivo de discusión durante mucho tiempo. La hipótesis más aceptada es que la propia PrP-res instiga la formación de nuevas PrP-res a través de una interacción directa con la PrP-sen endógena convirtiéndola en forma responsable de la enfermedad TSE (Fig. 10)

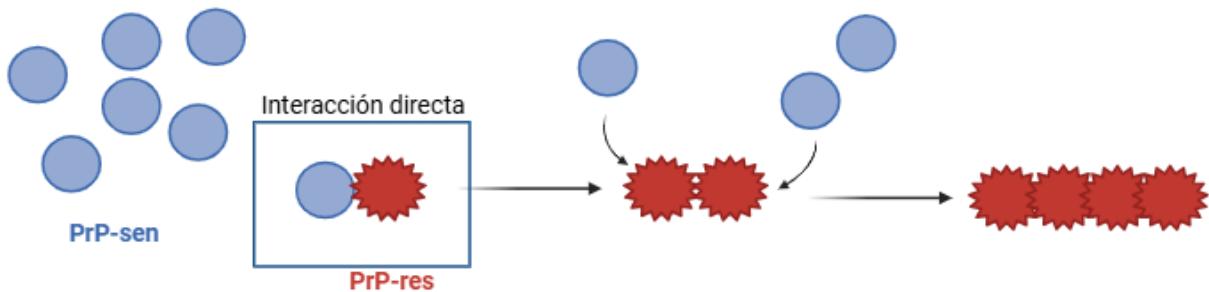


Figura 10. Representación esquemática del mecanismo de propagación del mal plegamiento de PrP-res a PrP-sen, donde la forma mal plegada induce su conformación en PrP-sen. Figura elaborada con BioRender.

Una evidencia directa de este mecanismo ha sido obtenida en sistemas libres de células en los que se ha demostrado que la PrP-sen puede ser convertida en la forma resistente a proteasas en la presencia de PrP-res aislada de tejido de cerebro infectado con “scrapie”. En concreto, se ha visto que la incubación de PrPc radiactiva con PrP-res no marcada, en un sistema libre de células, genera PrP-res radiactiva (Fig. 11)

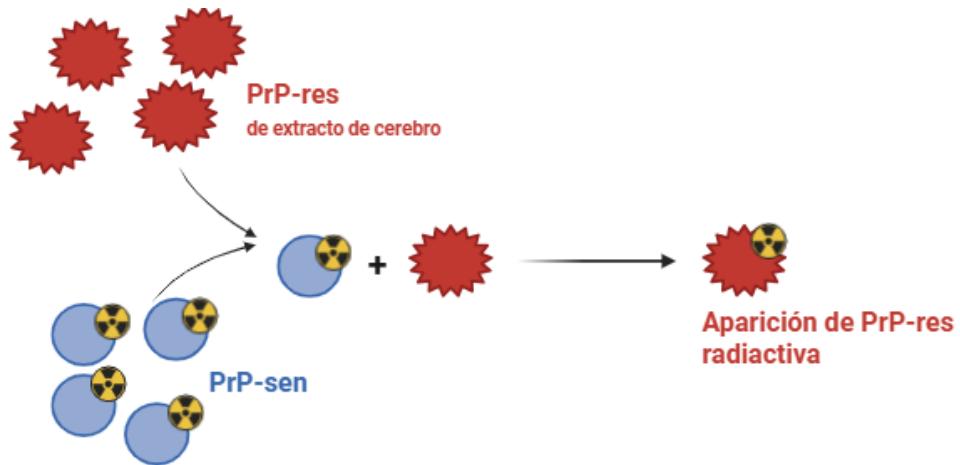


Figura 11. Experimento que demuestra que las proteínas priónicas inducen el cambio conformacional de PrP-Sen hacia su forma patogénica. Figura elaborada con BioRender.

Además, este tipo de experimentos han servido para explicar el fenómeno de barrera de especies. Así, se vio que la PrP-res de hámster fue incapaz de convertir a la PrP-sen de ratón en la forma resistente a proteasas, mientras que la PrP-res de ratón convierte de forma parcial

a la PrP-sen de hámster. También estos experimentos han servido para demostrar que las cepas de priones transmiten sus características estructurales a las PrP-sen. Así, cuando PrP-sen radiactiva es incubada con cepas que difieren en las movilidades electroforéticas de la región resistente a PK, la PrP-res convertida y radiactiva, muestra las mismas propiedades de la PrP-res que actuó de molde.

Posteriormente, se desarrolló una técnica denominada PMCA (protein misfolding cyclic amplification) que permite producir *in vitro* grandes cantidades de PrP-res. Este método, además de su valor diagnóstico, puede entenderse como una demostración del modo de propagación de los priones. En la figura 12 se ilustra el método. Pequeñas cantidades de material infectado son mezcladas con un homogenizado de cerebro normal. La conversión *in vitro*, teóricamente hostigada por la PrP-res, se deja que ocurra a 37°C. Transcurrido el periodo de incubación, la mezcla es sonicada, y esta etapa resulta crítica. Aquí, la fuerza mecánica se utiliza para romper los agregados de PrP-res formados en estructuras más pequeñas, que a su vez actuarían de nuevos puntos de nucleación para la formación de más PrP-res. De este modo, varios ciclos de conversión y sonicación se llevan a cabo para “amplificar” la cantidad de PrP-res presente en la muestra. Sin embargo, la producción de nueva PrP-res resulta modesta si se omite la etapa de sonicación.

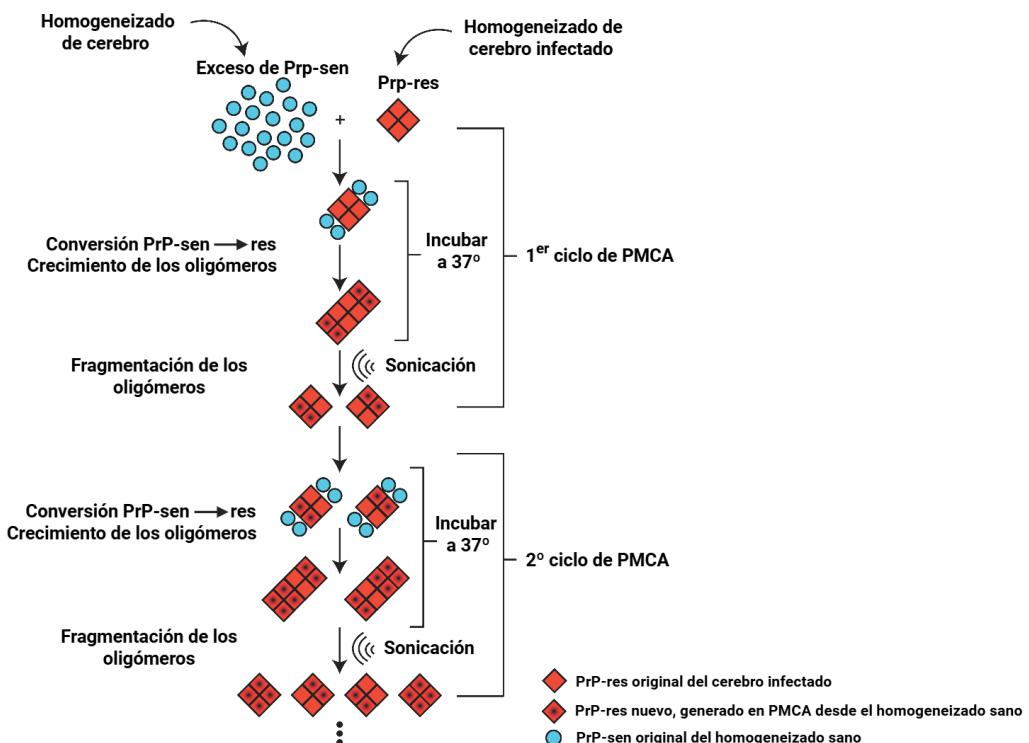


Figura 12. Esquema del procedimiento PMCA (Protein Misfolding Cyclic Amplification), utilizado para la detección de PrP-res a partir de una muestra con una pequeña cantidad inicial de proteína patogénica. El método permite amplificar *in vitro* la PrP-res mediante ciclos alternos de incubación y sonicación, lo que favorece la fragmentación de agregados y la generación de nuevos núcleos de conversión. Figura elaborada con BioRender. Modificada a partir de Watts et al. (2006)

Más recientemente se han realizado tres modificaciones de la metodología PMCA que han aumentado su eficiencia. Primero, la técnica se ha automatizado, pues el proceso requiere de varios días para completarse. Una segunda modificación ha sido la inclusión de bolitas de Teflon, que acelera la conversión a PrP-res, incrementando la sensibilidad de la técnica. Y la tercera modificación es que ha sido posible realizar la amplificación de PrP-res de hámster en presencia de PrP recombinante de hámster en lugar de utilizar tejido de cerebro como substrato. En relación con este último punto, cabe indicar que la técnica PMCA ha permitido detectar PrP-res en sangre de forma temprana tras la infección de hámsters con muestras de scrapie. Esto ha abierto la esperanza a que algún día sea posible aplicar esta metodología para el diagnóstico precoz de enfermedades TSE en humanos.

La técnica ASA (Amyloid Seeding Assay) es otra técnica de detección de priones, que fue descrita en 2007 para la detección de priones en cerebros de pacientes con CJD. En esta técnica se parte de una preparación de priones, parcialmente purificada, y se mezcla con PrP recombinante, producida en bacterias. La formación de fibras se detecta mediante el cambio de fluorescencia (de 342/430 a 442/482) que experimenta la tioflavina al interaccionar con la fibra amieloide. Aunque la sensibilidad del ensayo depende de la cepa del prion, la técnica puede llegar a detectar tan solo 1 fg (1 fentogramo equivale a 10-15 gramos). Además, es más rápida que la técnica PMCA, se puede completar en un día, y no es dependiente de sonicación.

5. Tropismo de especie y barrera de especies.

Un aspecto destacable de los agentes TSE es su especificidad de especie. Se sabe que estos agentes pueden pasar de una especie a otra, pero normalmente la transmisión a través de especies es más difícil que la transmisión dentro de la misma especie. Y cuando se produce la

transmisión, el tiempo de incubación hasta que se desarrollan los síntomas clínicos es más prolongado que cuando se inoculan en la especie en la que se aislaron. Esta característica es conocida como “barrera de especie” (Fig. 13).

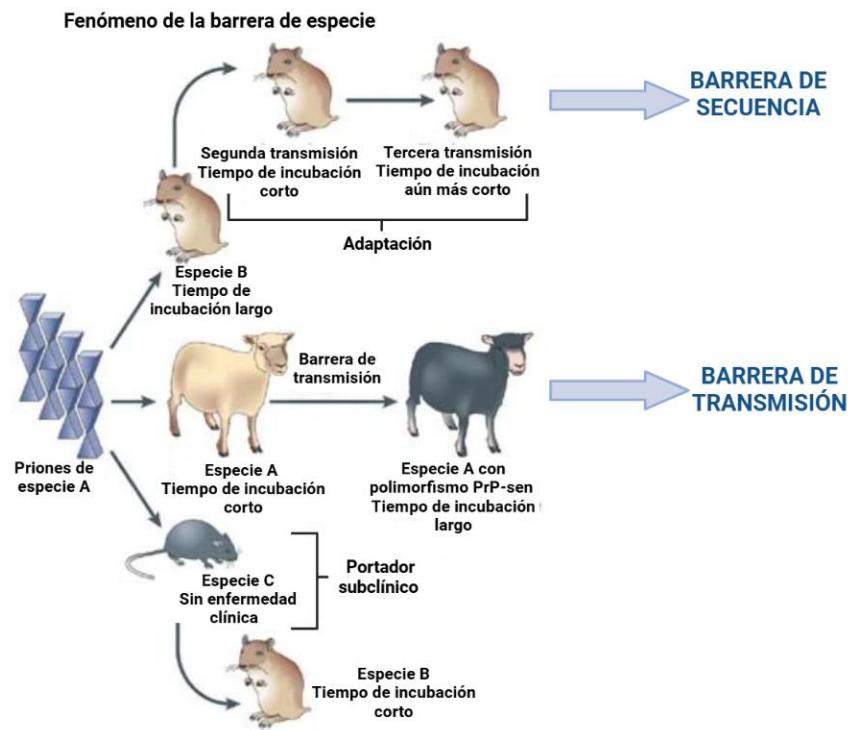


Figura 13. Representación esquemática del fenómeno de la barrera de especie en las enfermedades priónicas. Los priones aislados de una especie suelen ser menos infecciosos para otras especies, como lo demuestran los tiempos de incubación más prolongados y las tasas de infección reducidas. Estas diferencias se atribuyen principalmente a la variabilidad en la secuencia de la proteína priónica (PrP) entre hospedadores, lo que dificulta el proceso de conversión. Después de pases en serie, los tiempos de incubación disminuyen gradualmente, un fenómeno llamado adaptación. En algunos casos, la barrera de especie es tan fuerte que no se manifiestan signos clínicos, aunque los tejidos de estos animales pueden seguir siendo infecciosos para especies susceptibles. Los huéspedes de la misma especie que el inóculo original pueden exhibir tiempos de incubación notablemente largos debido a ciertos polimorfismos del gen PRNP, un fenómeno que se conoce como la barrera de transmisión. Figura elaborada con BioRender. Modificada a partir de Aguzzi et al. (2007).

Cuando se inoculan priones de una especie A a una especie B, normalmente sólo unos pocos animales de la especie B desarrollan enfermedad. Aquellos que la sufren lo hacen con periodos de incubación más largos que cuando los priones son transmitidos dentro de la misma especie, donde típicamente todos los animales inoculados sucumben en un periodo relativamente corto. Pero cuando se inoculan nuevos animales de la especie B con priones procedentes de individuos de la especie B, que habían desarrollado la enfermedad, los parámetros se hacen más homogéneos, todos los animales desarrollan la enfermedad y de una forma rápida. Se habla de un fenómeno de adaptación entre el prion y la proteína PrP-sen. Estos estudios indican que la propagación de los priones ocurre de forma más eficaz cuando la PrPSc y la PrPc tienen la misma estructura primaria. Este hecho se le denomina también como “barrera de secuencia”.

Mediante aproximaciones experimentales se demostró que efectivamente la “barrera” era debida a la diferencia de estructura primaria entre las PrP de las especies donadora y receptora. Así, ratones transgénicos que expresan la PrP de hámster, al contrario que los ratones normales, son muy susceptibles a la infección de los priones de hámster.

A veces, la barrera de especies es tan fuerte que algunas especies animales no desarrollan síntomas clínicos tras la infección con priones procedentes de otras especies. Sin embargo, los extractos de cerebro de estos animales aparentemente resistentes son capaces de transmitir la enfermedad cuando se inoculan en huéspedes susceptibles (Fig. 13).

Finalmente, individuos de una misma especie, inoculados con la misma preparación de priones, pueden desarrollar la enfermedad tras muy diferentes periodos de incubación. Esto se debe a diferencias polimórficas en el gen PrP, fenómeno que se denomina “barrera de transmisión” (Fig. 13).

No obstante, en algunos casos, la barrera de transmisión entre especies se mantiene, aun cuando la secuencia de la PrPc es idéntica entre el donante y el receptor. Por ejemplo, no se produce la enfermedad cuando ratones que expresan la proteína PrPc humana son infectados con priones de la enfermedad variante de Creutzfeldt-Jakob. Esto sugiere que además de la proteína PrPc se requieren otros componentes, presentes en el donante, que no están presentes,

o no interaccionan de forma adecuada, en el receptor. A este hecho se le denomina como “barrera celular” (Fig. 14).

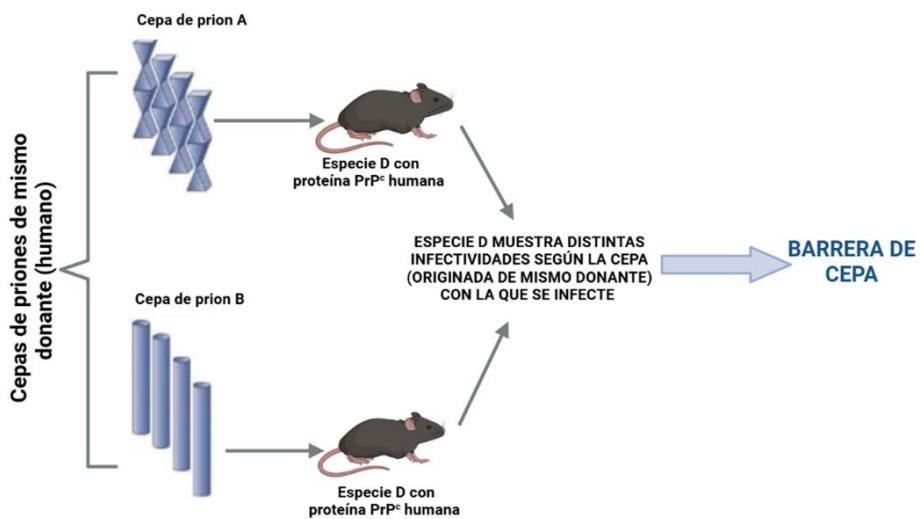


Figura 14. Representación esquemática del fenómeno de la barrera celular y la barrera de cepa en la transmisión de priones. a | Barrera celular; la enfermedad no se desarrolla, aunque donante y receptor comparten la misma secuencia de PrP. b | Barrera de cepa; distintas cepas derivadas del mismo donante presentan diferente infectividad en receptores que expresan idéntica PrP. Figura elaborada con BioRender.

Finalmente, cabe mencionar que dos cepas de priones (ver el apartado siguiente), originadas en el mismo donante y, por tanto, teniendo la misma secuencia, pueden mostrar diferentes infectividades en un receptor que expresa la misma PrPc. Por ejemplo, los priones de la forma esporádica de la enfermedad de Creutzfeldt-Jakob (pero no los priones de la forma variante, como se indicó arriba) son altamente infecciosos en ratones transgénicos para la PrPc humana. Este fenómeno se le conoce como “barrera de cepa” (Fig. 14).

6. Cepas, aislados y tipos de priones.

Un hecho remarcable es la existencia de “cepas de priones” dentro de una misma especie animal, que se diferencian en el tiempo de incubación que necesitan para desarrollar enfermedad, las características histopatológicas de las lesiones, los blancos neuronales específicos y la capacidad para atravesar la barrera de especie (Fig. 15). Es decir, una misma

proteína priónica puede adoptar varias conformaciones auto-replicantes, a éstas se les denomina cepas de priones, y se especula que van a ser sus propiedades fisicoquímicas las que van a ser responsables de su ensamblaje en agregados, y éstos, a su vez, responsables de los fenotipos específicos de cada tipo de enfermedad.

Variación de la cepa de priones

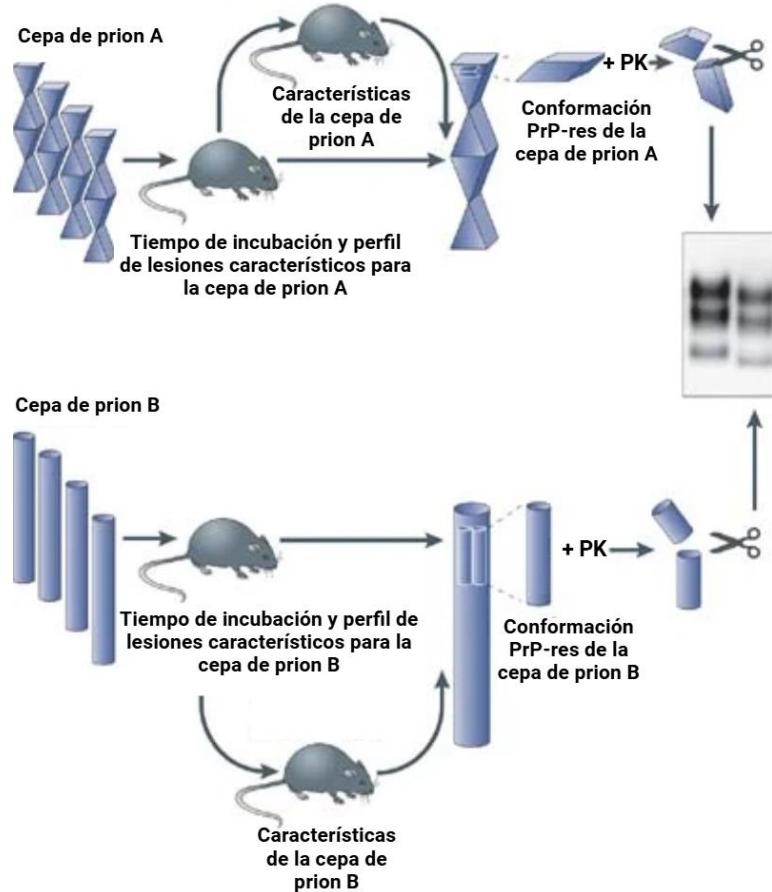


Figura 15. Modelos de variación de cepas de priones. La transmisión de diferentes aislados de a hospedadores genéticamente idénticos da lugar a fenotipos de enfermedad distintos, como los tiempos de incubación y el perfil de lesiones, los cuales están determinados por el inoculo. Estas características persisten tras pases seriales a nuevos hospedadores. En algunos casos, las cepas presentan firmas bioquímicas características, como la movilidad electroforética del núcleo resistente a proteinasa K (PK). Se piensa que esto resulta de conformaciones divergentes de la proteína priónica de scrapie (PrP^{Sc}), las cuales provocan la exposición de diferentes sitios para la escisión enzimática. Figura elaborada con BioRender. Modificada a partir de Aguzzi et al. (2007).

Como se comentó antes, la proteína PrP tiene dos sitios de N-glicosilación (Asn181IleThr y Asn197PheThr), por lo que la proteína se puede encontrar en cuatro glicoformas: diglicosilada, dos formas monoglicosiladas (según el sitio de glicosilación) y una forma no glicosilada (Fig. 16). Además, existe una gran microheterogeneidad según las estructuras oligosacáridicas presentes. En general, la glicosilación promueve la estabilización de las proteínas, y esto también parece ocurrir en el caso de la proteína PrP, ya que en la fracción PrPSc (no digerida por proteasas) las formas glicosiladas son minoritarias, y de hecho, la forma diglicosilada no suele estar presente en la fracción resistente a proteasas. Además, cuando se inhibe la glicosilación, se observa una aceleración en la formación de la proteína priónica.

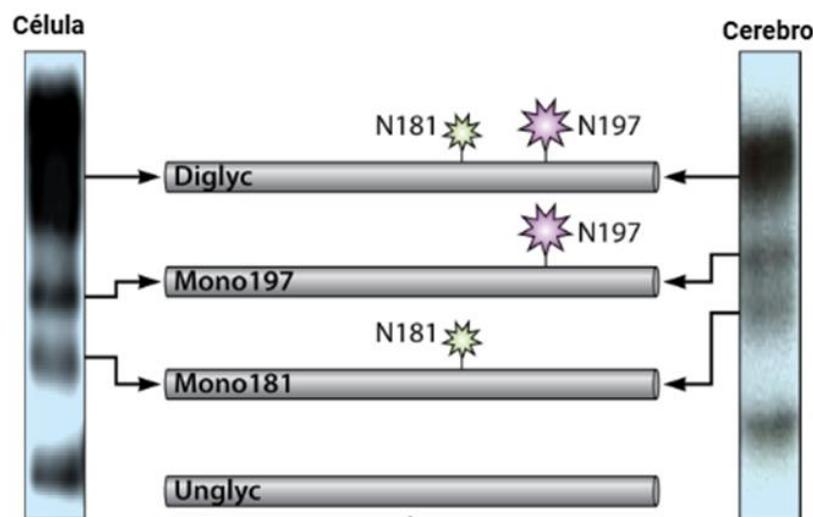


Figura 16. Esquema de las cuatro glicoformas de PrP (diglicosilada, monoglicosilada en N197, monoglicosilada en N181 y no glicosilada) y su conversión a PrP-res en células que expresan PrP^{V180I} o en cerebros de pacientes con VPSPr. Tras el tratamiento con proteinasa K, solo las formas Mono197 y Unglyc se convierten en PrP-res. Figura elaborada con BioRender. Modificada a partir de Das et al. (2016).

La digestión de PrP-res con proteinasa K (PK) produce una rotura entre los residuos 87 y 91 (dependiendo de la cepa del prion). Una vez analizado por Western-blot se observan dos bandas que corresponden a las formas mono- o no-glicosiladas (Fig. 16).

Las diferentes cepas de priones se suelen diferenciar en algunas propiedades físicas como son susceptibilidad a la digestión con PK, movilidad electroforética después del tratamiento con PK que refleja el sitio de corte en la región N-terminal, la relación entre formas di-, mono- o no-glicosiladas, y su estabilidad frente a agentes desnaturalizantes (Fig. 15).

La figura 17 ilustra los métodos biológicos y bioquímicos más frecuentemente empleados para caracterizar las diferencias entre las cepas de priones (tiempo de incubación, movilidad electroforética, signos clínicos, patrón de glicosilación, perfil de lesiones en el cerebro, sensibilidad a proteína K).

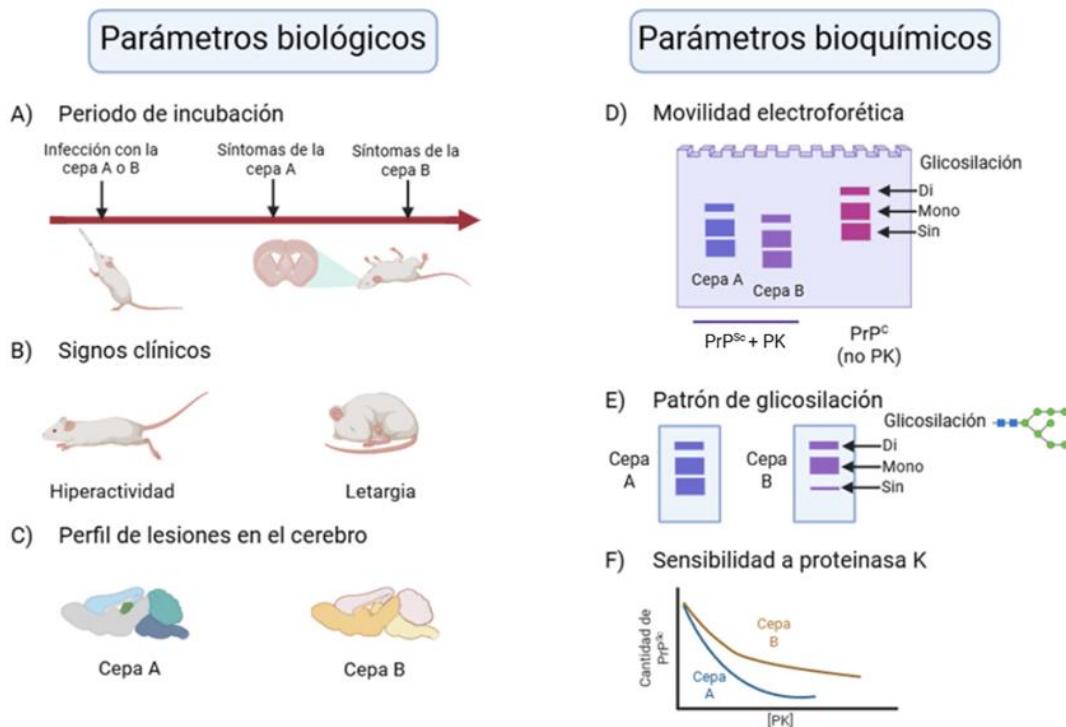


Figura 17. Diferencias de parámetros biológicos y bioquímicos entre cepas priónicas. A) Diferencias entre cepas según su periodo de incubación. B) Hay manifestación diferencial de signos clínicos entre cepas. C) Según la cepa, la localización en el cerebro de esta varía. D) El tratamiento con proteinasa K (PK) genera diferentes fragmentos entre cepas. E) También se pueden observar diferentes patrones de glicosilación en cada cepa. F) Las cepas muestran diferentes grados de resistencia frente al tratamiento con PK. Figura de elaboración propia con BioRender.

Así, un ejemplo de cepa de prion infecciosa y promiscua lo constituye la cepa causante de BSE (bovine spongiform encephalopathy or mad cow disease). Esta cepa es capaz de transmitirse eficientemente entre un rango amplio de especies animales. Además, lo que resulta especialmente significativo, es que es capaz de mantener sus características biológicas en su paso a través de especies intermedias con PrP con distinta estructura primaria (Fig. 18).

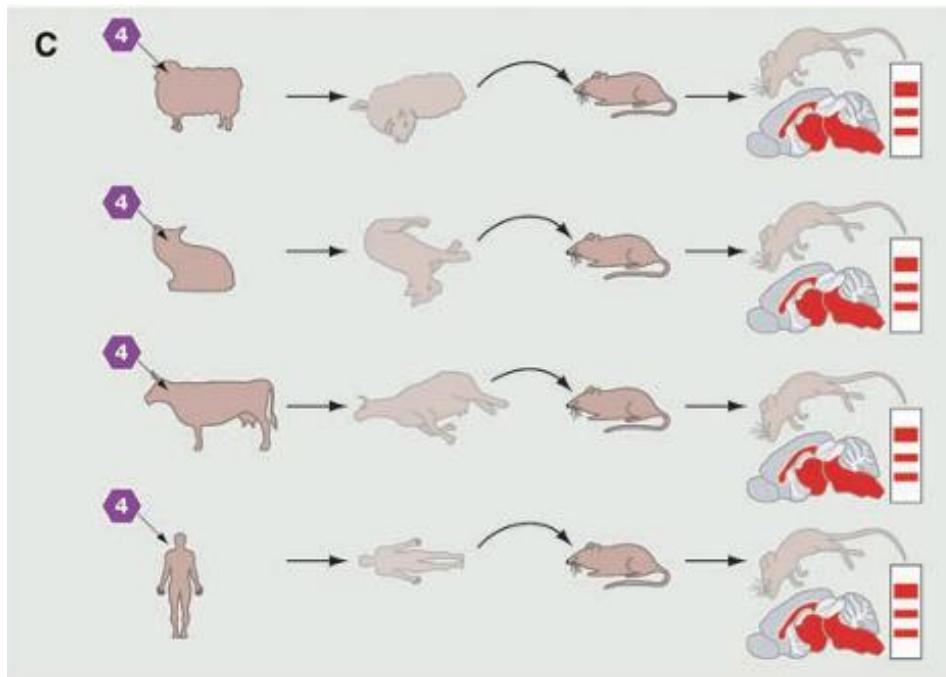


Figura 18. Las propiedades de una única cepa pueden mantenerse después de sucesivos pasos en un rango amplio de especies diferentes con distintas secuencias de PrPC, cuando vuelven a ser aisladas en el hospedador original. Figura elaborada con BioRender. Modificada a partir de Collinge et al., 2007.

Existe una gran variedad de cepas de priones que se han aislado y son propagadas en ratones, donde mantienen sus características de períodos de incubación y neuropatología. Estas cepas no son codificadas por diferentes PrP, ya que la secuencia primaria de los ratones es idéntica, ya que sólo existe un gen (Fig. 19). Además, como se indicó antes (Fig. 18), las cepas pueden aislarse de nuevo en ratones, después de haberse propagado en distintas especies animales.

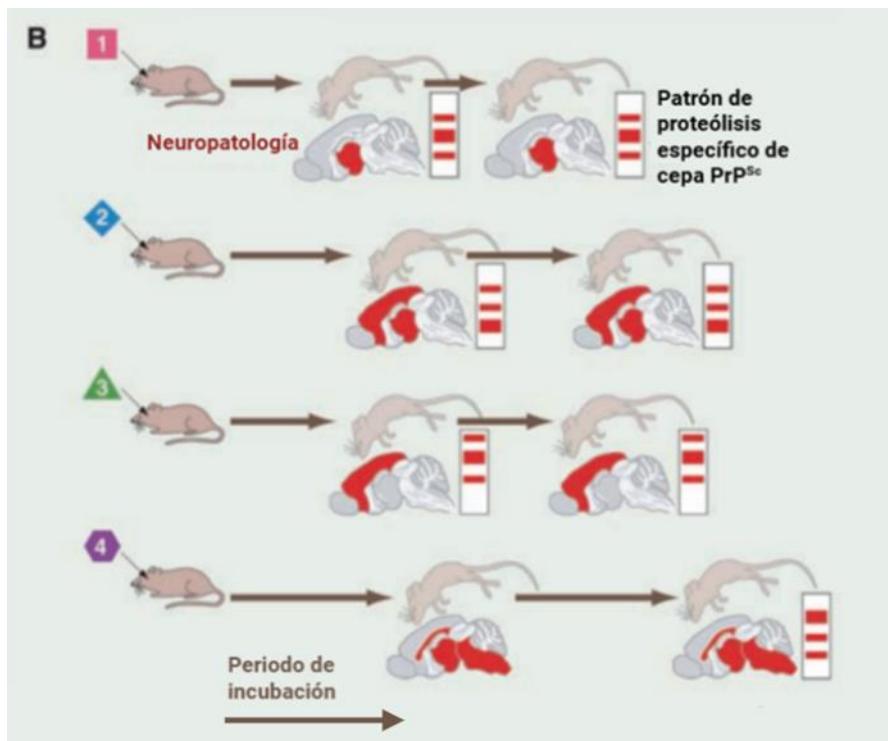


Figura 19. Propagación de cepas de priones. Las cepas pueden ser diferenciadas según sus períodos de incubación (longitud de la flecha) y neuropatología (área del cerebro en rojo) cuando se inoculan en líneas de ratones congénitos. Se ilustran en Western blots esquemáticos los fragmentos de PrP^{Sc} específicos de cada cepa resultantes de su proteólisis. Tanto las características biológicas como bioquímicas de cada cepa se conservan en los sucesivos pasos en hospedadores que expresan la misma PrP^C. Imagen obtenida de Collinge & Clarke (2007) y modificada con BioRender.

Resulta bastante difícil de imaginar cómo se mantienen y propagan las características bioquímicas de las cepas de priones en una misma especie, cómo una misma cadena polipeptídica puede dar lugar a distintas conformaciones y, éstas, a su vez, ocasionar distintos grados de patología. Así, por ejemplo, los distintos tipos de PrP^{Sc} en humanos se caracterizan por dar distintos tipos de fragmentos proteolíticos y de relación de glicoformas tras el tratamiento con proteinasa K y, además, se encuentran asociados a diferentes fenotipos clínicopatológicos de CJD.

Pero, aún más, cuando se transmiten priones humanos o bovinos a ratones normales (que expresan la PrP^C de ratón), la PrP^{Sc} que se forma genera los mismos fragmentos proteolíticos y las mismas ratios de glicosilación que el inóculo original. Esto demuestra la

capacidad que tienen los priones de transmitir sus características estructurales. De hecho, las señas de identidad de los priones BSE se mantienen en varias especies de mamíferos, incluyendo los humanos (Fig. 18). Cómo se mantienen las características estructurales y las ratios de glicosilación, sigue siendo una intrigante cuestión aún sin resolver.

Por otro lado, en algunas enfermedades priónicas coexisten varias cepas de un mismo prion; ejemplos son el “scrapie” de las ovejas y la enfermedad CJD en humanos. Se piensa que diferentes poblaciones celulares dentro de un mismo huésped pueden generar distintos ambientes que conduzcan a una selección de cepas. Es más, se postula que la infección de un huésped con una “cepa linfotrófica”, que rápidamente coloniza tejidos linfoides, pero presenta una larga latencia hasta que se produce la neuroinvasión, podría deberse en parte a la necesidad de que se produzca la selección de una “cepa neuoinvasora”. Esta hipótesis se basa en la existencia de diferentes tipos de PrPSc en los tejidos periféricos de pacientes vCJD, en los que la colonización de los tejidos linfoides precede la enfermedad neurológica.

7. Una teoría unificadora de cepas y barrera de especie.

Los genes PrP de mamíferos están altamente conservados, lo que hace que las proteínas PrP tengan una estructura primaria muy similar, esto es probablemente la razón fundamental que explica la habilidad de los priones para infectar a especies distintas.

Se piensa que, por razones termodinámicas, dictadas por su secuencia primaria, una determinada PrPSc va a ser capaz de adoptar una serie de conformaciones infecciosas. En consecuencia, sólo se va a producir propagación de un prion entre dos especies, cuando sus correspondientes proteínas PrP sean capaces de adoptar una serie de estados conformacionales similares; no dándose propagación cuando la PrP de la especie receptora sea incapaz de adoptar una conformación PrPSc permisiva, existiendo así una barrera de transmisión (Fig. 20). En este modelo, la facilidad de transmitirse entre especies de un prion vendrá dada por el mayor solapamiento de estados conformacionales que las PrPC de huésped y donador compartan.

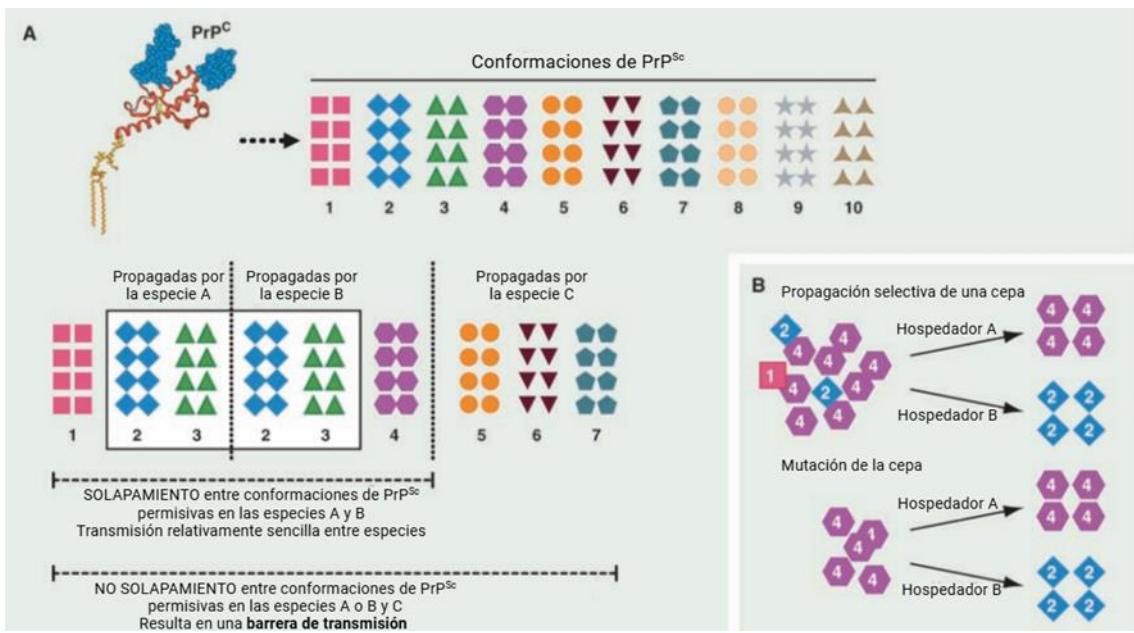


Figura 20. Explicación gráfica de la Teoría de la Barrera de Transmisión entre especies.

A) Selección conformacional y barreras de transmisión. Cada individuo es compatible con una serie de cepas priónicas y la transmisión entre especies determina la facilidad con la que se transmiten. **B)** Propagación selectiva o mutación de una cepa. Puede darse el caso de que el hospedador favorezca la propagación de la cepa dominante (A) o de una minoritaria (B), pareciendo una mutación de la cepa. O puede ocurrir que, con una cepa clonal, el hospedador no sea compatible con esta y la transmisión solo se dé en caso de mutación. Las dos alternativas no son mutuamente excluyentes. Modificada a partir de la figura de Collinge & Clarke (2007) con BioRender.

Volviendo a la alta capacidad de cruzar especies del prion BSE, esta cepa debe representar una conformación termodinámicamente muy favorable que es transmitida con facilidad a un gran número de especies diferentes, dando cuenta de la gran promiscuidad de esta cepa entre los mamíferos. Ciertamente, esta cepa fue seleccionada por un proceso industrial en el que los desechos de animales se reciclaban, lo que posiblemente favoreció la reinfección de animales, hasta que se generó la epidemia BSE en Reino Unido. De hecho, la cepa BSE es particularmente termoestable, lo que seguramente es un factor favorecedor del proceso.

Otro ejemplo ilustrador del modelo de selección clonal lo encontramos en el polimorfismo PrP humano (M129V), conocido desde hace mucho tiempo por ser un determinante clave de susceptibilidad genética a las enfermedades priónicas. Es de destacar, que todos los pacientes con vCJD ensayados (≈ 200) son homocigóticos para el alelo metionina en posición 129 (un genotipo que constituye aproximadamente 1/3 de la población normal). La

razón parece estar en que la valina en posición 129 de la PrP humana no es capaz de adoptar la conformación asociada con la cepa BSE.

8. Aproximaciones al tratamiento de las enfermedades TSE.

No existen terapias efectivas para el tratamiento de las formas clínicas de las enfermedades TSE en humanos. Esto es debido en parte a que cuando se observan los síntomas clínicos ya se han producido lesiones neuropatológicas. Sin embargo, el conocimiento en detalle de los procesos de formación y propagación de los priones ha permitido diseñar posibles tratamientos, algunos probados con éxito en animales de experimentación.

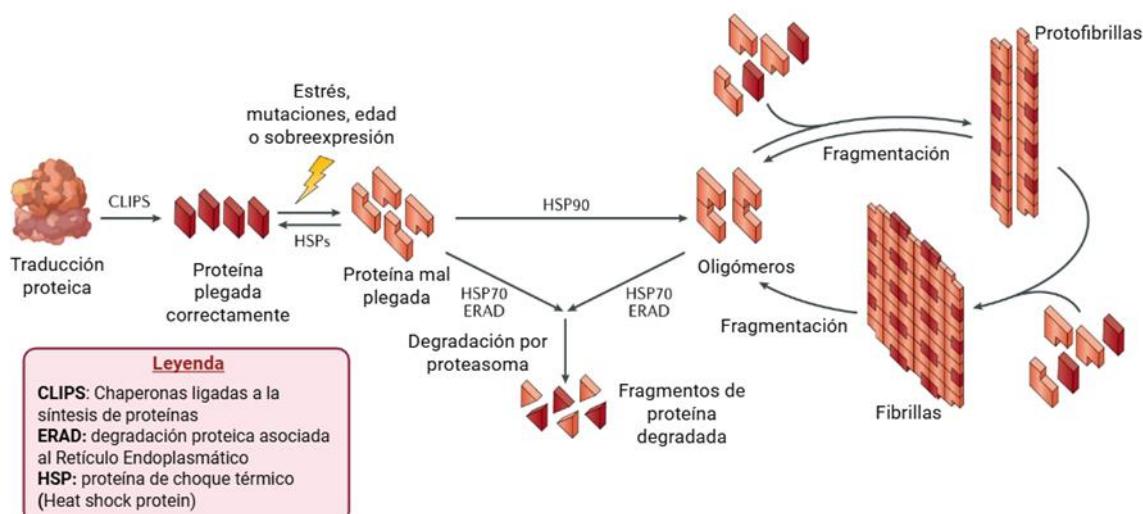


Figura 21. Formación y degradación de las fibras amiloides. Las chaperonas ligadas a la síntesis de proteínas (CLIPS) guían y supervisan el correcto plegamiento de las cadenas polipeptídicas recién sintetizadas. Las proteínas mal plegadas inducidas por sobreexpresión, mutaciones, estrés o la edad, pueden replegarse correctamente gracias a las proteínas de choque térmico (HSPs), sufrir degradación o agregarse en oligómeros ricos en β -láminas. Estos oligómeros son considerados los agregados más tóxicos. Modificada a partir de la figura de Scheckel & Aguzzi (2018) con BioRender.

En la figura 21 se ilustra el proceso de nucleación y fragmentación de las fibras amiloides formadas por los priones. Las chaperonas desempeñan papeles relevantes en el proceso. Así, por ejemplo, el sistema ERAD (Endoplasmic reticulum-associated protein

degradation) o la ubiquitinación mediada por HSP70 se consideran mecanismos destinados a la degradación tanto de proteínas mal plegadas como de agregados, siendo, por tanto, procesos inhibidores de la formación de fibras amieloides. En cambio, la HSP90 actuaría estabilizando los oligómeros y favoreciendo la formación de fibras amieloides, a través de la incorporación de proteínas monoméricas tanto bien como mal plegadas. La fragmentación de las fibras produce nuevos “propagones” que sirven para amplificar la propagación de los agregados priónicos. [Se define como propagón a la unidad mínima con capacidad de autorreplicarse; en este sentido, propagón y prion son términos equivalentes].

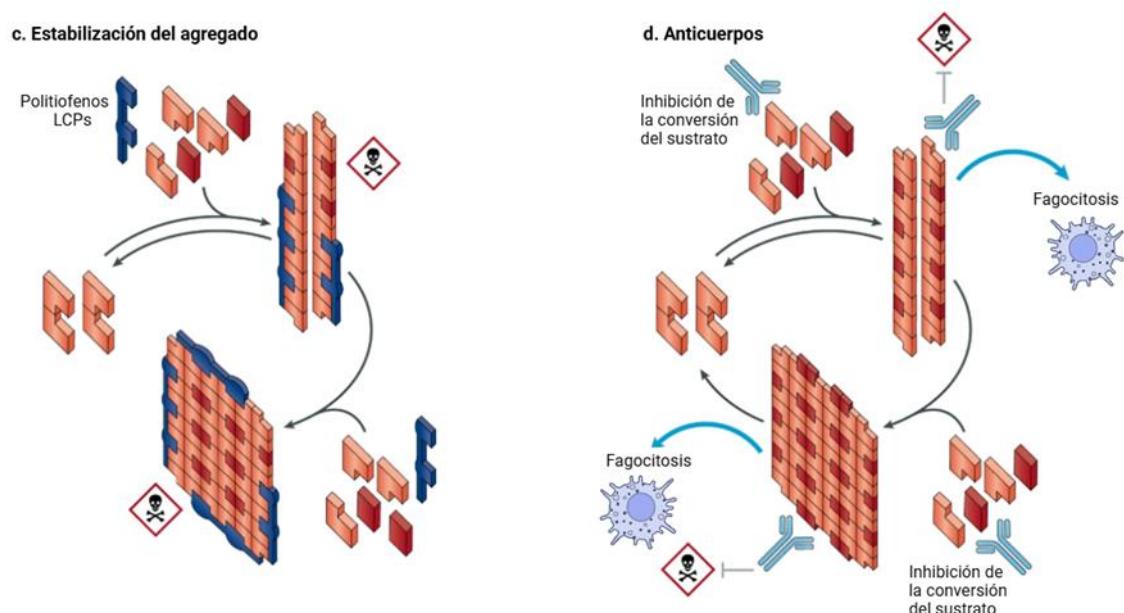


Figura 22. A) Sobreexpresión de HSP70 e inhibición de HSP90. B) Uso de antipriones. C) Uso de politiofenos asociados a luminiscencia (LCPs) para estabilizar los agregados. D) Uso de anticuerpos contra los agregados. Modificada a partir de la figura de Scheckel & Aguzzi (2018) con BioRender.

En la figura 22 se muestran aproximaciones que se están siguiendo para frenar el desarrollo de las enfermedades priónicas.

Por un lado, se está investigando en el desarrollo de los llamados “anti-priones”, que son agregados de PrP inocuos que, una vez inoculados, compiten con los priones por el mismo sustrato PrPC, reduciendo la replicación de los priones. Experimentos en animales han mostrado que una única dosis reduce en un 99% la infectividad de los priones, lo que habla de su valor terapéutico (Fig. 22).

La sobreexpresión de HSP70 o la utilización de inhibidores de HSP90, que conducen a la disminución de los agregados, son otras vías de investigación.

Una tercera vía es la estabilización de las fibras priónicas, para evitar su propagación (formación de “propagones”), que es una fase muy importante en el ciclo replicativo de los priones. Sustancias como los politiofenos se han mostrado eficaces en este objetivo. Así, su aplicación en ratones permite prolongar un 80% la vida de los ratones infectados con priones. Estas sustancias son bien toleradas por los ratones y tienen la capacidad de atravesar la barrera hematoencefálica.

Una cuarta vía está basada en el desarrollo de anticuerpos. Estos, mediante la unión a las proteínas PrP o a los agregados, bloquearían el proceso de conversión y, por tanto, la replicación de los priones. Además, estos anticuerpos podrían favorecer la retirada de las fibras priónicas, al estimular su fagocitosis por células del sistema inmunitario.

9. Bases moleculares de la patología de las enfermedades priónicas.

El síntoma clínico de las enfermedades priónicas es el desarrollo progresivo de problemas neurológicos graves, probablemente debidos a una combinación de patología sináptica y de pérdida neuronal. La pérdida de neuronas es variable y depende tanto de la especie animal como del fondo genético del hospedador y de la cepa del agente infeccioso.

En cuanto a los mecanismos que conducen a la muerte de neuronas, se ha establecido que la apoptosis es uno de los principales. Sin embargo, las vías que conducen a la apoptosis son objeto de intenso debate.

Por otro lado, se considera que la microglía no desempeña un papel importante en la replicación de los priones. Es más, se piensa que tienen un papel protector al retirar activamente priones para su eliminación.

9.1. La proteína PrP^c y su papel en las enfermedades priónicas.

Es un dato bien establecido el que los ratones deficientes en PrP (“knockout”) son resistentes al desarrollo del “scrapie” tras la inoculación de PrP-res. Esto está de acuerdo con la necesidad de que exista PrP-sen para ser convertida en PrP-res y se desarrolle la enfermedad. Por tanto, se puede concluir que la proteína PrP^c es esencial para la replicación de los priones, aunque su función fisiológica no es muy bien conocida. Se le han atribuido varias funciones: regulación de la respuesta inmunitaria, transducción de señales, unión a cobre y transmisión sináptica.

PrP-sen se encuentra codificada en el genoma de todos los vertebrados estudiados hasta ahora, y muestra un alto grado de conservación evolutiva, lo que se interpreta como signo de que desempeña una función esencial. Se expresa durante la embriogénesis temprana y se encuentra en la mayoría de los tejidos del adulto. Los mayores niveles de expresión se observan en el sistema nervioso central, en particular en las membranas sinápticas y en los astrocitos. PrP también es muy abundante en células del sistema inmunitario. También se encuentra soluble en varios fluidos corporales como el plasma o la leche.

Sin embargo, los ratones deficientes en PrP-sen, no muestran un fenotipo claro que pueda relacionarse con la falta de PrP-sen, probablemente debido a mecanismos compensatorios. Lo que parece poco probable es que una proteína que está conservada entre especies tan diferentes como tortugas, ranas, peces y humanos, haya evolucionado con el único propósito de generar susceptibilidad a las enfermedades priónicas.

Cuando se han analizado con detenimiento los ratones carentes de PrP se ha visto que difieren de los ratones normales en varios aspectos, entre los que están el ritmo cardíaco, la neuroprotección, la función sináptica, la activación linfocitaria, la adhesión celular, la renovación y proliferación de células pluripotentes (*stem cells*) y el olfato. En consecuencia, la PrP parece intervenir en múltiples aspectos celulares (papel pleiotrópico) y se postula que podría estar implicada en vías de señalización celular.

Entre las funciones que la proteína PrPc podría estar desempeñando se han sugerido las siguientes. Dada su alta afinidad por cobre, se piensa que podría ser un transportador de cobre. También, en este sentido, se ha planteado un efecto antioxidante, reduciendo los niveles de especies reactivas de oxígeno. También podría estar implicada en la neurotransmisión. Por otro lado, dada su capacidad por interaccionar con laminina, se ha sugerido un posible papel en adhesión celular y en la regulación de la neuritogénesis.

9.2.PrP y neurotoxicidad.

Cuál es la causa de la muerte celular durante la neurodegeneración provocada por los priones es una cuestión clave que está aún sin resolver. La pérdida de función de PrP^c no parece ser una causa suficiente: los ratones deficientes en el gen PrP son esencialmente normales. Sin embargo, la conversión de PrP^c a PrP^{Sc} es claramente clave para la patogénesis dado que los ratones deficientes en PrP son resistentes al desarrollo de la enfermedad y no propagan la infectividad de los priones.

Aunque en estudios *in vitro* se ha visto que la PrP^{Sc}, e incluso algunos péptidos derivados de la PrP, podrían resultar neurotóxicos, existen varias evidencias experimentales que sugieren que esto no es así *in vivo*. Por un lado, se ha visto que no existe una relación directa entre la cantidad de depósitos PrP^{Sc} y la aparición de síntomas clínicos. Por otro lado, se ha visto que la PrP^{Sc} no resulta tóxica a neuronas que no expresan PrP^c. Esto indica que la toxicidad requiere la interacción entre PrP^{Sc} y la PrP^c nativa en la membrana neuronal, posiblemente generando alteraciones de los complejos de señalización sináptica o receptores asociados a lípidos de membrana (también llamados rafts).

Además, se ha visto que, si se detiene la expresión de PrP^c en neuronas, una vez que se ha iniciado la infección del cerebro, los ratones no desarrollan la enfermedad clínica, no se produce pérdida de neuronas y se revierten los signos neuropatológicos. Es de destacar que esta reversión tiene lugar a pesar de que la PrP^{Sc} se sigue produciendo en las células gliales, y que estos ratones acumulan niveles de priones similares a los que tienen los ratones control en estados terminales de la enfermedad.

Otro dato interesante es que ratones transgénicos que expresan una variante PrP que carece de la secuencia de anclaje a GPI, producen grandes niveles de una forma soluble. Estos ratones, aunque no presentan síntomas clínicos de enfermedad priónica cuando son infectados experimentalmente, sí que sus cerebros acumulan placas de PrP^{Sc}. Además, los cerebros de estos ratones transgénicos presentan formas PrP resistentes a proteasas y resultan infecciosos para ratones normales. Estos datos indican que se requiere que la proteína esté anclada a la membrana por GPI para conferir susceptibilidad a la enfermedad, pero que este anclaje no se necesita para la replicación del prion.

Así, todo parece indicar que las neuronas requieren expresar PrP^c y replicar a los priones por sí mismas para que se ejerza la toxicidad.

Como posible explicación, se ha sugerido que la PrP^{Sc} es inerte, y que la toxicidad es debida a una especie minoritaria (denominada PrP^L, “L de letal”), que sería generada como un intermediario o producto secundario durante la propagación de los priones. En la figura 23 se muestra el modelo propuesto, que acomoda los siguientes dos axiomas: i) la PrP^{Sc} actúa como molde para la conversión PrP^c → PrP^{Sc}; ii) PrP^{Sc} no es un agente tóxico en sí mismo.

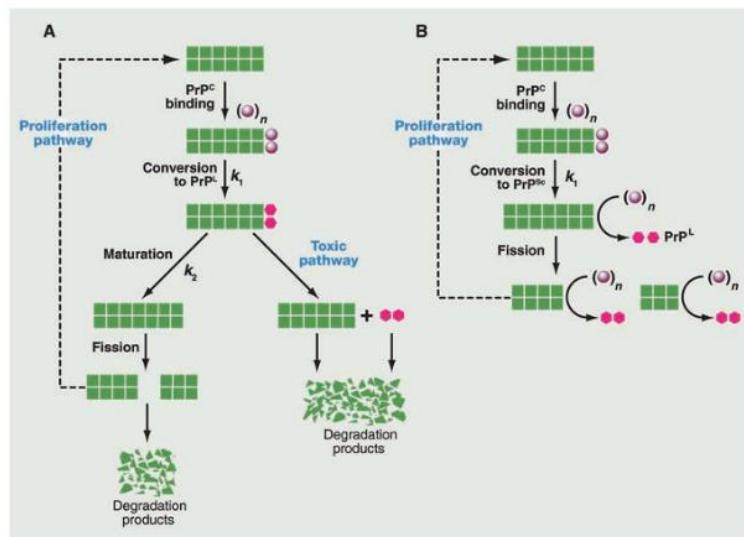
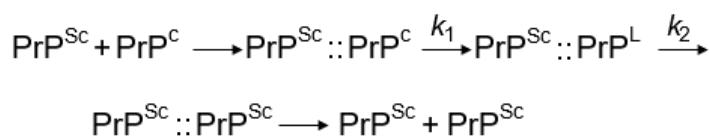


Figura 23: Modelos ilustrativos para la producción de PrP^L. Obtenida de Collinge y Clarke, 2007

El modelo postula que durante la progresión PrP^c a PrP^{Sc} se forma un estado intermedio (PrP^L). El modelo se puede expresar matemáticamente como:



De acuerdo con el modelo, PrP^L es la especie tóxica, y la relación de toxicidad e infectividad viene dada por la ratio de velocidad de conversión (k_1) y la velocidad de maduración (k_2). En el caso de una infección subclínica, habría una velocidad relativamente lenta de conversión (k_1) y una alta velocidad de maduración (k_2), lo que significaría unos bajos niveles de PrP^L. Lo contrario ocurriría durante los procesos patológicos, cuya evolución más rápida o lenta vendría dictada por la razón k_1/k_2 .

La hipótesis con más consenso sobre el efecto citotóxico del proceso de transformación a la forma priónica de PrP^c es que, esta transformación, podría activar la respuesta a proteínas mal plegadas (UPR, *unfolded protein response*). Una consecuencia de la inducción de UPR es el bloqueo generalizado de la traducción de proteínas, mediada por la fosforilación de la kinasa EIF2AK3 (*eukaryotic translation initiation factor 2-α kinase 3*), que a su vez fosforila y desactiva a la subunidad α del factor 2 de iniciación de la traducción (eIF2 α o EIF2S1). Así, la represión global de la síntesis de proteínas, a través de la fosforilación de eIF2 α , conduciría finalmente a una muerte de neuronas y a una disfunción sináptica.

10. Expansión de la proteína priónica en el organismo.

Dado que la proteína priónica debe acceder al SNC para causar enfermedad, la expansión entre tejidos es un requisito para que esto ocurra (Fig. 24). Por ejemplo, tras la exposición oral, que es una forma frecuente de transmisión, los priones atraviesan la mucosa intestinal, posiblemente a través de los parches de Peyer, e interactúan con la superficie de las células dendríticas foliculares del tejido linfoide, desde donde pueden interactuar con los nervios entéricos que los conducirán al SNC.

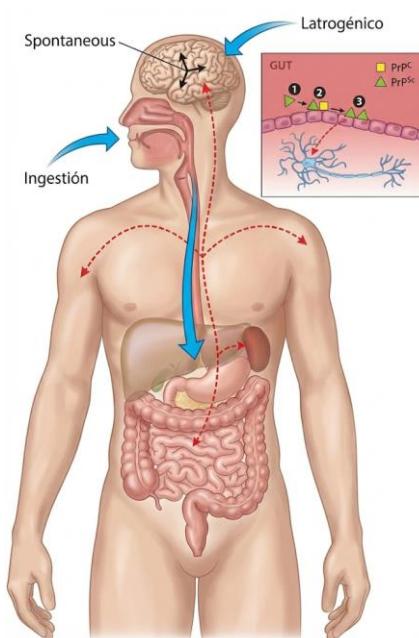


Figura 24: Fuentes de infección por priones en humanos. Obtenida en Kraus et al. 2013. (Calidad de imagen mejorada mediante IA).

La enfermedad de Creutzfeldt-Jakob iatrogénica se adquiere por la transferencia de la hormona de crecimiento contaminada con priones, transplantes de duramadre de cadáveres, instrumentos quirúrgicos contaminados, transplantes corneales y transfusiones sanguíneas.

Por otro lado, también tiene que ocurrir una transmisión entre células. Se piensa que es preciso que exista una proximidad entre ellas y posiblemente una transferencia de membrana entre las células, dado que la proteína PrP-res se encuentra anclada a la membrana de la célula infectada a través del anclaje GPI, esto ha llevado a plantear que los exosomas pueden ser un mecanismo adecuado para la propagación de los priones entre las células (**Fig. 25**).

Otra posible ruta de transmisión directa célula-a-célula son los nanotúneles, que son nanotubos muy finos que conectan células y desempeñan un papel en comunicación celular. Orgánulos como mitocondrias y lisosomas pueden ser transportados mediante estas estructuras.

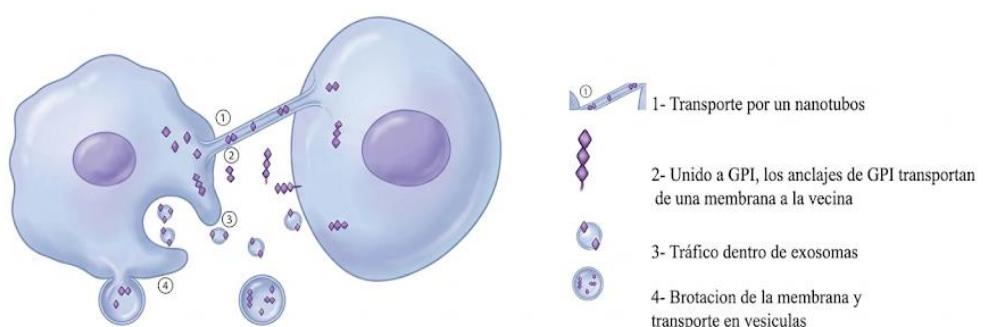


Figura 25: Posibles vías de propagación del prión de una célula a otra. Figura de elaboración propia con BioRender. (Calidad de imagen mejorada mediante IA)

11. Cuestiones por resolver

Aún existen muchas incógnitas sobre los mecanismos patológicos que desencadenan los priones y otros aspectos, como son:

- No se conoce cómo se mantienen y transmiten las características de las cepas de priones.
- No se conoce los mecanismos que definen los tropismos de tejido mostrados por las distintas cepas de priones.
- No se sabe cómo los agentes priónicos causan neurotoxicidad.
- Tampoco se sabe por qué los priones no son tóxicos para las células del sistema inmunitario, donde se acumulan en altos niveles.
- Y la cuestión fundamental, la función fisiológica de PrP^c, también permanece sin resolver.

Es muy posible que los priones hayan aparecido (o evolucionado) como reguladores epigenéticos y no como agentes causantes de enfermedad. Quizás en unos pocos años se descubran muchos procesos celulares que están mediados por proteínas priónicas.

Por otro lado, procesos neuropatológicos como la enfermedad de Alzheimer, la enfermedad de Parkinson o la enfermedad de Huntington, son causados por la acumulación de proteínas denominadas “prion-like” o prionoides: la proteína amiloide β y tau (Alzheimer), la sinucleina α (Parkinson) y la proteína huntingtina (Huntington). Si bien, la naturaleza infecciosa de estos procesos no ha sido probada (**Fig. 26**).

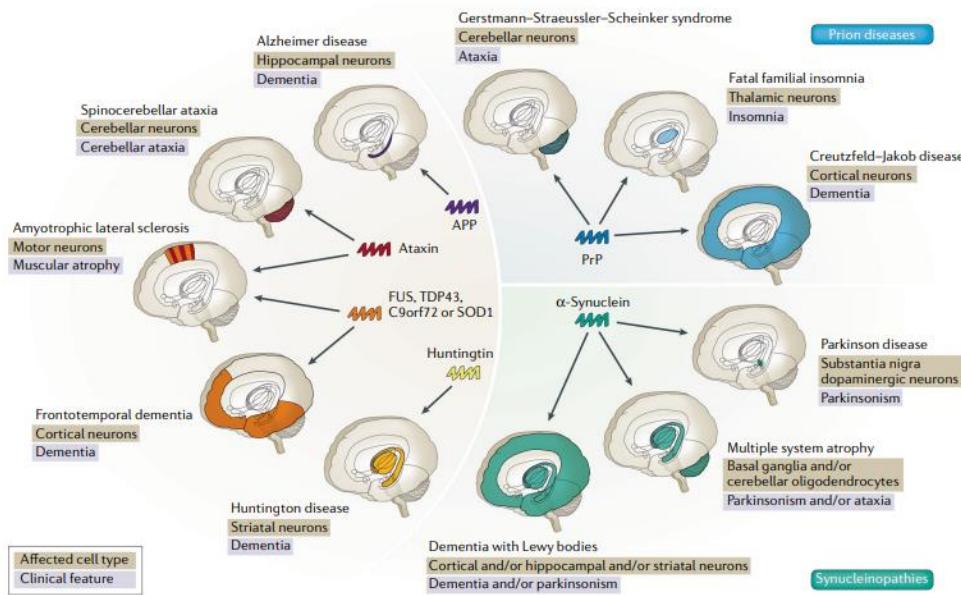


Figura 26: Los trastornos neurodegenerativos se han vinculado a diversos agregados proteicos y, por lo tanto, pertenecen a la categoría más amplia de trastornos de plegamiento incorrecto de proteínas (PMD). Obtenida de Scheckel & Aguzzi (2018).

REFERENCIAS

- Adam, M. P., Bick, S., Mirzaa, G. M., Pagon, R. A., Wallace, S. E., Amemiya, A. editors. GeneReviews® [Internet]. Seattle (WA): University of Washington, Seattle; 1993–2025. PMID: 20301295.
- Aguzzi, A., Heikenwalder, M., & Polymenidou, M. (2007). Insights into prion strains and neurotoxicity. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 8(7), 552-561. <https://doi.org/10.1038/nrm2204>
- Aguzzi, A., and Polymenidou, M. (2004). Mammalian prion biology: one century of evolving concepts. *Cell* 116: 313-327.
- Brown, P., Brandel, J.P., Sato, T., Nakamura, Y., MacKenzie, J., Will, R.G., Ladogana, A., Pocchiari, M., Leschek, E.W. and Schonberger, L.B. (2012). Iatrogenic Creutzfeldt-Jakob disease, final assessment. *Emerg. Infect. Dis.* 18: 901-907.
- Caughey, B. (2001) Interactions between prion protein isoforms: the kiss of death? *Trends Biochem. Sci.* 26: 235-242.
- Chesebro, B. and Caughey, B. (1997). Transmissible spongiform encephalopathies (prion protein diseases). In: Clinical virology (Eds: D.D. Richman, R.J. Whitley and F.G. Hayden); cap. 54: 1285-1304. Churchill Livingstone Inc., New York.
- Collinge, J. (2001) Prion diseases of humans and animals: their causes and molecular basis. *Annu. Rev. Neurosci.* 24: 519-550.
- Collinge, J., & Clarke, A. R. (2007). A General Model of Prion Strains and Their Pathogenicity. *Science*, 318(5852), 930-936. <https://doi.org/10.1126/science.1138718>
- Das, A. S., & Zou, W. (2016). Prions: Beyond a Single Protein. *Clinical Microbiology Reviews*, 29(3), 633-658. <https://doi.org/10.1128/cmr.00046-15>
- Gasset, M. y Pajares, M.A. (2006) Priones. En: virus patógenos (L. Carrasco y J.M. Almendral, eds.). Editorial Hélice, Fundación BBVA.
- Giese, A. and Kretzschmar, H.A. (2001) Prion-induced neuronal damage –the mechanisms of neuronal destruction in the subacute spongiform encephalopathies. *Curr. Top. Microbiol. Immunol.* 253: 203-217.
- Huang, Z., Prusiner, S. B., Cohen, F. E. (1996) Structures of prion proteins and conformational models for prion diseases. *Curr Top Microbiol Immunol.* 207:49-67. doi: 10.1007/978-3-642-60983-1_5. PMID: 8575206.
- Ironside, J. W. and Head, M. W. (2004). Neuropathology and molecular biology of variant Creutzfeldt-Jakob disease. *Curr. Top. Microbiol. Immunol.* 284: 133-159.
- Kraus, A., Groveman, B. R., & Caughey, B. (2013). Prions and the Potential Transmissibility of Protein Misfolding Diseases. *Annual Review Of Microbiology*, 67(1), 543-564. <https://doi.org/10.1146/annurev-micro-092412-155735>
- Morales, R. (2017). Prion strains in mammals: Different conformations leading to disease. *PLoS pathogens* 13: e1006323.
- Orge, L., Lima, C., Machado, C., Tavares, P., Mendonça, P. et al. (2021) Neuropathology of Animal Prion Diseases. *Biomolecules*. Mar 21;11(3):466. doi: 10.3390/biom11030466. PMID: 33801117; PMCID: PMC8004141.
- Sanchez-Juan, P., Bishop, M.T., Croes, E.A. et al. (2011) A polymorphism in the regulatory region of *PRNP* is associated with increased risk of sporadic Creutzfeldt-Jakob disease. *BMC Med Genet* 12, 73. <https://doi.org/10.1186/1471-2350-12-73>
- Scheckel, C., and Aguzzi, A. (2018). Prions, prionoids and protein misfolding disorders. *Nat Rev Genet* 19, 405–418.
- Silveira, J. R., Caughey, B., and Baron, G. S. (2004). Prion protein and the molecular features of transmissible spongiform encephalopathy agents. *Curr. Top. Microbiol. Immunol.* 284: 1-50.
- Solforosi, L. et al. (2004). Cross-linking cellular prion protein triggers neuronal apoptosis in vivo. *Science*, 303(5663), 1514–1516.
- Tuite, M.F., and Serio, T.R. (2010). The prion hypothesis: from biological anomaly to basic regulatory mechanism. *Nat. Rev. Mol. Cell. Biol.* 11: 823-833.

- **Watts, J. C., Balachandran, A., & Westaway, D.** (2006). The Expanding Universe of Prion Diseases. PLoS Pathogens, 2(3), e26. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.0020026>
- **Weissmann, C.** (2005). Birth of a prion: spontaneous generation revisited. Cell 122: 165-168.
- **Wickner, R. B., Edskes, H. K., Ross, E. D., Pierce, M. M., Baxa, U., Brachmann, A., and Shewmaker, F.** (2004). Prion genetics: new rules for a new kind of gene. Annu. Rev. Genet. 38: 681-707.

En la red:

- Resource on Prion Diseases, Department of Neurology, Johns Hopkins. <http://www.jhu-prion.org>
- <http://www.cmpharm.ucsf.edu/cohen> [Este sitio contiene imágenes que muestran los cambios conformacionales asociados a la transformación de PrP].
- Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación: <https://www.mapa.gob.es/es/>.