

**LAS ENFERMEDADES PRIÓNICAS,  
ATRAVESANDO LAS FRONTERAS DEL CONOCIMIENTO**

Juan José Badiola Diez

## I. INTRODUCCIÓN

Las enfermedades priónicas, también denominadas encefalopatías espongiformes transmisibles (EET) son enfermedades neurodegenerativas crónicas transmisibles, con largos periodos de incubación y que presentan un curso invariablemente fatal. Presentan una baja incidencia y una distribución universal, afectando a tanto a los humanos como a varias especies animales.

En lo que respecta a la etiología de estas enfermedades, la teoría más aceptada en la actualidad sostiene que todas estas enfermedades están causadas por una isoforma producida por la conversión post-traducciona l de la proteína prion celular ( $\text{PrP}^{\text{C}}$ ), una glicoproteína que en los mamíferos está codificada de forma fisiológica por el gen *PRNP*, con características específicas asociadas a un cambio de conformación, denominada  $\text{PrP}^{\text{Sc}}$  o  $\text{PrP}^{\text{res}}$ . Este cambio conformacional le otorga a la proteína  $\text{PrP}^{\text{Sc}}$  una gran resistencia a los procesos de esterilización físicos y químicos, una tendencia a la agregación, insolubilidad en detergentes no iónicos y una resistencia parcial a la digestión con proteasas. Así se considera que los priones son partículas proteínicas desprovistas de ácido nucleico que pueden agregarse, así como reclutar y convertir la  $\text{PrP}^{\text{C}}$  fisiológica en su isoforma patológica (Prusiner, 1982, 1998b).

Así se considera que existe un cambio conformacional de la estructura terciaria de la  $\text{PrP}^{\text{C}}$ , rica en hélices  $\alpha$ , a una isoforma aberrante  $\text{PrP}^{\text{Sc}}$ , rica en láminas  $\beta$ , proceso que se produciría en la superficie celular o a través de distintas rutas endocíticas celulares (Mabbott and Bruce, 2001; Fehlinger *et al.*, 2017).

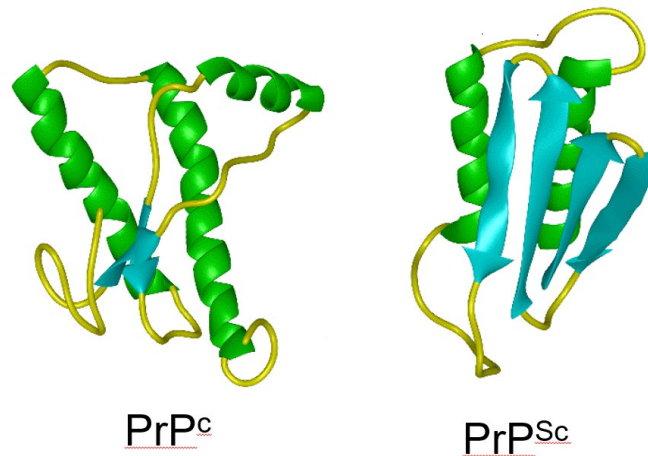


Figura 1. Imagen obtenida por análisis de cristalografía electrónica de la estructura de PrP<sup>c</sup> y su isoforma patológica PrP<sup>Sc</sup>.

Además de la acumulación de PrP<sup>Sc</sup>, este grupo de enfermedades comparten otras características anatomopatológicas: degeneración espongiiforme (Prusiner, 1998), pérdida neuronal y gliosis (incluyendo astrocitosis y microgliosis) (DeArmond and Prusiner, 1993; Wadsworth and Collinge, 2011).

Independientemente de su origen, las encefalopatías espongiiformes transmisibles presentan una serie de características comunes, entre las que destacan los hallazgos neuropatológicos como la gliosis, el depósito de la proteína prion, la degeneración espongiiforme del sistema nervioso central (SNC), con la aparición de vacuolas intraneuronales (vacuolización) y en el neuropilo (espongiosis) que acaban causando una progresiva pérdida de neuronas (Bell and Ironside, 1993; Fraser, 1993). Estos cambios neuropatológicos se presentan con especial frecuencia en determinadas áreas y núcleos nerviosos. En las distintas especies afectadas por las EET han sido identificadas diferentes cepas y fenotipos del agente etiológico.

Aunque existen muchos aspectos desconocidos sobre la patogenia de las (EET), sin embargo se ha demostrado que la presencia de la PrP<sup>c</sup> en el SNC es fundamental, no sólo para la generación de la PrP<sup>Sc</sup>, sino también para que el huésped experimente la neurotoxicidad asociada a los priones (Brandner *et al.*, 1996).

Según su causa se consideran tres tipos de enfermedades priónicas, las esporádicas o espontáneas, las genéticas o familiares y las adquiridas, siendo más habituales las dos primeras en los seres humanos y la tercera en los animales.

Hasta la fecha no han podido detectarse anticuerpos frente al agente causal en los individuos afectados, no existiendo tampoco tratamientos específicos ni vacunas para combatir o prevenir estos procesos. Y en la actualidad los principales métodos diagnósticos se basan en el estudio *post mortem* del tejido nervioso.

Estudios recientes han demostrado que enfermedades neurodegenerativas humanas, como la enfermedad de Alzheimer, enfermedad de Parkinson, la esclerosis lateral amiotrófica, la demencia frontotemporal lobar o la enfermedad de Huntington, comparten precisamente la acumulación de proteínas incorrectamente plegadas o aberrantes tales como  $\beta$ -amiloide,  $\alpha$ -sinucleína, TDP-43 o huntingtina (Aguzzi *et al.*, 2008; Prusiner, 2013). Se han evidenciado diversos aspectos a nivel histopatológico y molecular también en común con las enfermedades priónicas (Garces *et al.*, 2019), por lo que a todos estos desórdenes neurodegenerativos humanos se les ha atribuido el término de patologías prion-*like*. Esto convierte a las enfermedades priónicas en un modelo válido para abordar el proceso patogénico de la neurodegeneración en todas estas proteinopatías.

## II. ENFERMEDADES PRIÓNICAS HUMANAS Y ANIMALES

El devenir histórico de las enfermedades priónicas humanas y animales comenzó con el reconocimiento de algunas enfermedades neurodegenerativas de una prevalencia en general baja o muy baja y ha acabado formulando un concepto biológico auténticamente revolucionario, el de que una molécula proteica presuntamente desprovista de ácido nucleico sea capaz de reproducirse y ser transmisible, cuyo hallazgo se ha hecho merecedor de la concesión de dos premios Nobel.

La historia de las encefalopatías espongiiformes transmisibles humanas y animales discurren en paralelo y los avances en el conocimiento de cada una de ellas han ayudado respectiva y mutuamente a clarificar muchos aspectos comunes entre ambas.

En lo que se refiere a las encefalopatías espongiformes transmisibles humanas se conocen las siguientes (Ver tabla 1)

Tabla 1. Enfermedades priónicas humanas (Prusiner, 1998b; Imran and Mahmood, 2011a)

<b>Enfermedades priónicas humanas</b>				
<b>Enfermedad</b>	<b>Abreviatura</b>	<b>Hospedador natural</b>	<b>Origen</b>	<b>Año de la descripción</b>
<b>Enfermedad de Creutzfeldt-Jacob esporádica</b>	ECJe	Humano	Esporádica	1920
<b>Enfermedad de Creutzfeldt-Jacob genética o familiar</b>	ECJf	Humano	Genética	1924
<b>Enfermedad de Gerstmann-Stäussler-Scheinker</b>	GSS	Humano	Genética	1936
<b>Kuru</b>	-	Humano	Adquirida	1953
<b>Enfermedad de Creutzfeldt-Jacob iatrogenética</b>	ECJi	Humano	Adquirida	1974
<b>Insomnio familiar fatal</b>	IFF	Humano	Genética	1986
<b>Variante de la enfermedad de Creutzfeldt-Jacob</b>	vECJ	Humano	Adquirida	1996
<b>Insomnio fatal esporádico</b>	IFE	Humano	Esporádica	1999
<b>Prionopatía de sensibilidad variable a las proteasas</b>	PrPSVP	Humano	Esporádica	2008

Actualmente se han descrito nueve enfermedades priónicas humanas distintas cuyo origen puede ser esporádico o espontáneo, genético o familiar o ser adquiridas como resultado de una infección. Las enfermedades priónicas humanas esporádicas incluyen la forma espontánea de la enfermedad de Creutzfeldt-Jacob (eECJ), el insomnio esporádico fatal (IEF) y la prionopatía variable sensible a la proteasa (PVSP) (Imran and Mahmood, 2011b)-

Las enfermedades priónicas genéticas o familiares, que están producidas por mutaciones autosómicas dominantes del gen *PRNP*, incluyen la enfermedad de Creutzfeldt-Jakob familiar (fECJ), el insomnio familiar fatal (IFF) y la enfermedad de Gerstmann-Sträussler-Scheinker (GSS).

Por último, las EET humanas adquiridas, y que representan únicamente el 5% de las enfermedades priónicas diagnosticadas en el ser humano, son el kuru, asociado al canibalismo ritual; la enfermedad de Creutzfeldt-Jakob iatrogénica, resultado de la exposición accidental a priones durante procedimientos médicos y quirúrgicos, y la ya mencionada vECJ, asociada al consumo de productos contaminados con EEB (Will and Ironside, 2017).

Entre todas las enfermedades priónicas humanas la más frecuente es la Enfermedad de Creutzfeldt-Jakob Esporádica (eECJ), representando a un 85% de los casos de EET diagnosticados en el ser humano. Identificada por primera vez en los años 20 (Creutzfeldt, 1920; Jakob, 1921), el origen de esta enfermedad sigue siendo desconocido. No obstante, los datos epidemiológicos sugieren que no se debe a ninguna causa infecciosa y se considera que se produce por una conversión aleatoria de la PrP<sup>C</sup> en la forma patógena, la cual se acumula produciendo la neurodegeneración (Will and Ironside, 2017).

En los animales las principales especies afectadas por estas enfermedades son los rumiantes domésticos y silvestres, así como los felinos y visones y se conocen las siguientes que figuran en la tabla 2:

Tabla 2. Enfermedades priónicas animales (*Prusiner, 1998b; Imran and Mahmood, 2011a*)

<b>Enfermedades priónicas animales</b>				
<b>Enfermedad</b>	<b>Abreviatura</b>	<b>Hospedador natural</b>	<b>Origen</b>	<b>Año de la descripción</b>
<b>Scrapie clásico</b>	-	Oveja, cabra, muflón	Adquirida	1732
<b>Encefalopatía transmisible del visón</b>	ETV	Visón	Desconocido	1947
<b>Enfermedad crónica caquetizante de los cérvidos</b>	ECC	Ciervo, reno y alce	Desconocido	1967
<b>Encefalopatía espongiforme bovina</b>	EEB	Bovino	Adquirida	1986
<b>Encefalopatía espongiforme bovina amiloidótica (tipo L)</b>	EEB-L	Bovino	Espontánea	2004
<b>Encefalopatía espongiforme bovina atípica (tipo H)</b>	EEB-H	Bovino	Espontánea	2004
<b>Encefalopatía espongiforme felina</b>	EEF	Gato, guepardo, ocelote, puma y tigre	Adquirida	1990 1992
<b>Encefalopatía de ungulados exóticos</b>	EUE	Antílope y bisonte	Adquirida	1986
<b>Encefalopatía espongiforme transmisible de primates no humanos</b>	ETT (PNH)	Lémur	Adquirida	1996
<b>Scrapie atípico</b>	Nor98	Oveja y cabra	Espontánea	1998
<b>Encefalopatía priónica de los camellos</b>	EPC	Dromedarios	Desconocido	2018

De todas las enfermedades priónicas animales conocidas es el scrapie ovino y caprino, la enfermedad considerada como prototipo por ser la enfermedad priónica más antiguamente conocida. No obstante, estas han sido descritas y mejor conocidas en otras especies de mamíferos, especialmente a partir de la crisis alimentaria provocada por la encefalopatía espongiforme bovina (EEB) en los años ochenta, lo que puso de manifiesto que el rango de especies susceptibles de desarrollar una enfermedad priónica de forma natural era mayor de lo que se creía y gracias a la intensificación de las investigaciones realizadas sobre las mismas se fueron conociendo mucho mejor sus causas, patogenia, transmisibilidad, condicionantes genéticos, incidencia y prevalencia en los distintos países del mundo y se pusieron en marcha programas específicos de vigilancia y control.

## **Las enfermedades priónicas humanas**

Aunque en el tiempo otras enfermedades priónicas humanas fueron descritas con anterioridad, merece la pena destacar por su importancia para el conocimiento de los aspectos biológicos fundamentales comunes a la mayoría de ellas al Kuru.

Esta era una curiosa enfermedad identificada en las Eastern Highlands, zonas montañosas y remotas, de lo que era entonces el Protectorado Australiano de Nueva Guinea, en la actualidad Papúa-Nueva Guinea, un estado independiente. La enfermedad fue descrita en las tribus de lengua Fore que poblaban esos territorios, y en sus vecinos y que tenían la costumbre de practicar el canibalismo ritual, consumiendo a sus parientes muertos.

El kuru se caracterizaba clínicamente por una ataxia progresiva y pérdida de coordinación y control muscular. Los afectados presentaban una postura inestable, dificultad para caminar, temblores, mioclonías, disartrias, mialgias, cefaleas, disfagia, inestabilidad emocional, depresión y falta de respuesta a los estímulos medioambientales. La muerte ocurría en un periodo de 3 a 12 meses a consecuencia de una infección o una neumonía. La etapa preclínica tiene un promedio de duración de 10-13 años y etapa clínica duraba una media de 12 meses.

El kuru alcanzó proporciones epidémicas de Papúa Nueva Guinea, y hasta el momento constituye la experiencia más extensa de una enfermedad priónica humana adquirida. Los primeros casos parecen remontarse a inicios del siglo XX; en los años cincuenta provocaba más de 200 muertes al año y era la principal causa de muerte en mujeres, niños y adolescentes de ambos sexos. La investigación epidemiológica y antropológica estableció que el kuru se transmitía en rituales de canibalismo en los que, como muestra de respeto, familiares de fallecidos y otras personas de la misma comunidad consumían tejidos de los difuntos. En las celebraciones participaban sobre todo mujeres y niños, que consumían el cerebro y los órganos internos. Se interpretó que la vía principal de transmisión era digestiva, o a través de la piel (cortes, heridas) y las mucosas. Se ha postulado que la epidemia se inició cuando se produjo un caso de ECJe en esta población. El canibalismo cesó a finales de los años cincuenta (Poser, 2002).



Los primeros estudios de la enfermedad fueron realizados en 1951-1952 por los antropólogos australianos Ronald y Catherine Berndt y en efecto fueron los primeros en describir con notable precisión una enfermedad llamada guria (posiblemente una distorsión de la palabra corea) o kuru por los nativos, que la atribuían a la brujería. En 1956, Vincent Zigas, un médico nacido en Estonia, destinado en el distrito, mencionó la existencia de la enfermedad. Este inició una investigación, a la que pronto se unió Daniel Carleton Gajdusek, pediatra y virólogo estadounidense que había tenido conocimiento de la enfermedad durante una visita que realizó a Australia. La investigación se llevó a cabo con la ayuda de los Institutos Nacionales de Salud (NIH) y el Instituto de Medicina de Estados Unidos (IMUS) y la colaboración, aunque no siempre entusiasta del gobierno australiano, teniendo que superar muchos problemas logísticos y administrativos, y la colaboración también ocasionalmente reticente de científicos australianos (Poser, 2002).

Gajdusek y Zigas publicaron el primer informe sobre el kuru el 14 de noviembre de 1957 (Gajdusek and Zigas, 1957). La conclusión era que la etiología del kuru seguía siendo oscura y ningún aspecto relacionado con la nutrición o con algún otro de la cultura Fore había revelado ninguna pista sobre los factores ambientales que intervenían en su patogenia. La peculiar distribución por sexo y edad de los casos (niños de ambos sexos, pero en los adultos casi exclusivamente mujeres), la alta prevalencia familiar en una comunidad estrechamente interrelacionada y las historias familiares en las que varios hermanos habían muerto de la enfermedad al alcanzar aproximadamente la misma edad, así como el tipo de con el tipo de cuadro clínico que presentaban, planteaba la sospecha de que intervinieran factores genéticos, probablemente en asociación con variables étnico-ambientales aún no detectadas. A pesar de la singular distribución por edad y sexo ellos consideraron que la enfermedad estaba genéticamente determinada, una hipótesis apoyada por Mc Farlane Burnet, genetista y Premio Nobel australiano. Durante los años siguientes se llevaron a cabo numerosos estudios incluyendo la inoculación de cerebros y otros tejidos de personas fallecidas a causa del kuru a varios animales de experimentación, pero también la búsqueda de toxinas y metales, que culminaron en el informe de 1964 (Gajdusek and Gibbs, 1964)

elaborado por Gajdusek y sus colaboradores, en el que admiten que han sido incapaces de reproducir la enfermedad a ningún animal, incluidos los primates.

Pero la hipótesis genética fue cuestionada por otros investigadores como Leonard Kurland neuroepidemiólogo del NIH o Richard Masland, director del Instituto Nacional de Enfermedades Neurológicas y Ceguera que en una carta escrita el 24 de diciembre de 1957 escribía "Me pregunto si hemos descartado adecuadamente la posibilidad de una infección. Estoy pensando en una enfermedad parasitaria como la toxoplasmosis, pero con algún otro agente aún no reconocido"(Farquhar and Gajdusek, 1981). La posibilidad de que el kuru se tratase de una infección había sido ya planteada por investigadores próximos a Gajdusek, pero éste no se mostró inicialmente a favor de aceptar esa hipótesis, puesto que entre otras razones no se observaban evidencias de una reacción inflamatoria aguda ni crónica en los cerebros de las personas afectadas.

Lo que se reconocería retrospectivamente como la primera pista sobre la situación nosológica del kuru fue proporcionada por el neuropatólogo del NIH Igor Klatzo que escribió a Gajdusek el 13 de septiembre de 1957 comentándole: "Me temo que no puedo darle ninguna pista útil en cuanto a la etiología de esta enfermedad. Parece ser definitivamente una nueva enfermedad sin nada similar descrito en la literatura. La más cercana en la que puedo pensar es la descrita por Jakob y Creutzfeldt. Sin embargo, en los casos descritos, la degeneración neuronal fue más intensa en la corteza cerebral y además no se menciona ningún caso de niños o adolescentes. La etiología de la enfermedad es totalmente desconocida (sólo se han descrito unos 20 casos). Dado que no se conocen trastornos hereditarios que se parezcan ni remotamente a la enfermedad del kuru, me inclino a sospechar que algún metabolito tóxico es el responsable del proceso" (Farquhar and Gajdusek, 1981) Dos años después, Klatzo et al. formalizaron esta creencia en un artículo publicado (Klatzo *et al.*, 1959).

La pista vital sobre la etiología del kuru y, en última instancia, de todas las EET, iba a proceder de una fuente inesperada y fue el resultado de unas circunstancias fortuitas. De hecho, fue William Hadlow, neuropatólogo veterinario estadounidense que en 1959 trabajaba en la Estación de Investigación Agrícola de Compton (Inglaterra) sobre el scrapie ovino. Éste casualmente tuvo conocimiento de los casos de Kuru en una exposición en el Museo Médico Wellcome de Londres, observando asombrado que las

imágenes histopatológicas del cerebro de los casos de kuru expuesta eran muy parecidas a las que él observaba en los cerebros de las ovejas afectadas de scrapie y que también lo eran las características epidemiológicas y el patrón clínico general (Hadlow, 1993). Hadlow se apresuró en enviar una carta al director de la revista Lancet el 18 de julio de 1959 con copia a Gajdusek, comunicando a ambos su hipótesis de que ambas enfermedades fueran muy similares.

Desde entonces la hipótesis infecciosa tomó de nuevo fuerza, y Gadjusek y Clarence Gibbs animados por las recomendaciones de Hadlow, tras nuevos intentos de reproducción experimental del kuru en varias especies animales, lograron por fin conseguir la reproducción de la enfermedad en chimpancés en 1966 (Gajdusek *et al.*, 1966) y en 1968 también la enfermedad de Creutzfeldt-Jakob (ECJ) (Gibbs *et al.*, 1968). Estos hallazgos fueron cruciales para el entendimiento de las enfermedades priónicas. Gajdusek recibió el Premio Nobel de Medicina en 1976. Algunos conocedores de las investigaciones realizadas para demostrar el carácter infeccioso del kuru, piensan que el Premio Nobel debería haber sido compartido por Zigas, Gibbs y Hadlow.

Figura 2: Daniel Carleton Gajdusek (segundo por la derecha), premio Nobel de Fisiología y Medicina en 1976, por sus estudios realizados sobre el kuru. Asimismo, se puede observar el mapa donde se diagnosticó el kuru



En 1921 Hans Gerhard Creutzfeldt y en 1922 Alfons Jakob describen una enfermedad neurológica en humanos que fue llamada Enfermedad de Creutzfeldt-Jakob (CJD) que fue la primera enfermedad priónica humana descrita y que puede presentarse bajo la forma familiar, esporádica e iatrogénica. En la ECJ, las PrP<sup>Sc</sup> se codifican como resultado de una amplia variedad de mutaciones en los codones 178, 200 y 210. Aunque las mutaciones en el codón 200 son características de la ECJ familiar, también se encuentran en las demás formas de la enfermedad. Se han descrito cerca de 20 mutaciones codificantes de la PRNP. Otros factores genéticos influyen en las manifestaciones fenotípicas de la enfermedad.

La ECJ de tipo esporádico clásica es una demencia multifocal rápidamente progresiva, a menudo con mioclonías. Se inicia generalmente en el grupo de edad de 45 a 75 años, con un pico entre los 60 y 65 años. Afecta con igual frecuencia a ambos sexos. En el transcurso de semanas progresa a un mutismo acinético y muerte, a menudo en 2-3 meses. Aproximadamente un 70% de los pacientes fallecen en los primeros 6 meses. Desde el inicio hasta la muerte, transcurren unos 5 meses, y el 90% de los pacientes con ECJe mueren antes de un año desde el inicio de los síntomas (Johnson and Gibbs, 1998). En cerca de un tercio de los casos existen síntomas prodrómicos: cansancio, insomnio, depresión, pérdida de peso, cefaleas, malestar general y sensaciones dolorosas poco definidas. Además de deterioro cognitivo y mioclonías, son comunes otros rasgos neurológicos adicionales, como signos extrapiramidales, ataxia cerebelosa, signos piramidales y ceguera cortical (Collinge, 2001). Además, los pacientes sufren alucinaciones y convulsiones. Contribuyen al diagnóstico el patrón característico de la resonancia magnética nuclear (RMN), la presencia de complejos de ondas agudas bifásicas o trifásicas en el electroencefalograma (EEG) en el 70% de los casos, y el test de la proteína 14-3-3 en el líquido cefalorraquídeo (LCR), aunque ninguna de estas pruebas alcanza una sensibilidad o especificidad del 100% (Steinhoff *et al.*, 2004; Tschampa *et al.*, 2005). Recientemente, se han propuesto nuevos criterios para la evaluación de la RM en el diagnóstico de la ECJe, que podrían alcanzar una sensibilidad del 98% (Zerr *et al.*, 2009). El test de la proteína 14-3-3 tiene una sensibilidad próxima al 95% (Castellani *et al.*, 2004), por lo que la presencia conjunta de un EEG típico y un test de la proteína 14-3-3 positivo es virtualmente diagnóstica de ECJe (Zerr *et al.*, 2000).

El diagnóstico definitivo se establece con la demostración de la isoforma patogénica de la PrP mediante inmunohistoquímica y por Western blot en tejido cerebral.

Además del cuadro clínico clásico de ECJ, se conocen formas de presentación atípica: de larga evolución, de presentación aguda, con ceguera cortical (Cooper *et al.*, 2005) o con un síndrome cerebeloso aislado (Brownell and Oppenheimer, 1965) o de tipo panencefalopático (Mizutani *et al.*, 1981).

Varias formas iatrogénicas aparecieron antes de conocerse la naturaleza infecciosa de la enfermedad de Creutzfeldt- Jakob, transmitidas a través de implantes de duramadre y hormona del crecimiento obtenida de hipófisis de cadáveres, la administración de gonadotropina humana, de transplantes de córnea, la utilización de electrodos intracerebrales contaminados. Los periodos de incubación han superado los 30 años en algunos casos (Brown *et al.*, 2000; Brown *et al.*, 2006).

Recientemente ha aumentado la preocupación por la transmisión de la vCJD a través de transfusiones de sangre concentrados de hematíes sin leucodepleción u otros productos sanguíneos. Hace unos años los patólogos rehusaban realizar necropsias de pacientes fallecidos a consecuencia de la enfermedad de Creutzfeldt- Jakob.

En 1996 se diagnostica por primera vez en el Reino Unido una nueva enfermedad priónica humana denominada variante de la enfermedad de Creutzfeldt-Jakob (Will *et al.*, 1996), que estaba directamente relacionada con la epidemia causada por la encefalopatía espongiforme bovina ocurrida en ese país en los años ochenta y noventa, lo que supuso una crisis alimentaria de gran magnitud a la que tuvieron que enfrentarse los países europeos en mayor o menor medida.

La enfermedad afecta a individuos jóvenes, con una media de edad de 29 años (14-74 años) en el momento del fallecimiento. La duración media de la enfermedad es de 14 meses, más prolongada que la de la ECJ esporádico. En la mayoría de los casos los síntomas iniciales son psiquiátricos, y unos seis meses después aparecen los primeros síntomas neurológicos, generalmente síntomas sensitivos dolorosos. Más tarde los

pacientes desarrollan ataxia y trastorno cognitivo. La RM cerebral muestra una imagen característica, derivada de la afección del tálamo posterior (signo del pulvinar), en más del 90% de los casos. En el EEG no se observa el patrón típico de ECJ, pero algunos casos pueden desarrollarlo al final de la evolución.

La proteína 14-3-3 es positiva en el líquido cefalorraquídeo sólo en la mitad de los casos. Todos los casos detectados hasta la fecha muestran un genotipo Metionina/Metionina en el codón 129, con la excepción de un caso, diagnosticado en un individuo Metionina/Valina (Bougard *et al.*, 2018). De acuerdo con los criterios diagnósticos de vigilancia, como en otras formas de ECJ, el diagnóstico definitivo de ECJv requiere un estudio post mortem, que permite la observación de la presencia de abundantes placas floridas de tipo kuru rodeadas de un halo espongiótico, en el córtex cerebral, sobre todo en las regiones posteriores. A estos niveles, la inmunotinción para PrP revela intensos depósitos en forma de placas floridas,

Otro rasgo distintivo de la ECJv es la acumulación de PrP<sup>Sc</sup> fuera del sistema nervioso central. Se ha detectado depósito de PrP en el nervio periférico, en los ganglios sensitivos y autonómicos y en el tejido linfoide (centros germinales de folículos linfoides). Por ello, se ha utilizado la biopsia de amígdala palatina como procedimiento diagnóstico; aunque en todos los casos de ECJv definitivo fue positiva (Hill *et al.*, 1997), pronto se desaconsejó su uso habitual como procedimiento diagnóstico (Zeidler *et al.*, 1999).

En 1928 Josef Gertsmann, realiza la primera descripción del llamado síndrome de Gerstmann–Straussler–Scheinker (GSS) (Will and Ironside, 2017). Esta es una enfermedad autosómica dominante caracterizada por ataxia cerebelar severa, paraparesis espástica y demencia de aparición tardía. En algunas familias la mioclonía no es importante. En el encéfalo se observan muchas placas de amiloide PrP<sup>Sc</sup> positivas. En algunos casos se observan ovillos neurofibrilares tipo Alzheimer. La mutación más frecuente es la del codón 102 pero se han detectado también mutaciones en otras localizaciones.

La enfermedad de Gerstmann-Sträussler-Scheinker es mucho menos frecuente que la enfermedad de Creutzfeldt-Jakob. Suele comenzar a una edad más temprana (afecta más a las personas de 40 a 50 años de edad que a las de 50 a 60 años y progresa de forma mucho más lenta (con un promedio de expectativa de vida de 5 años en vez de 6 meses). La enfermedad de Gerstmann-Sträussler-Scheinker. Es decir, ella tiene un componente genético. Habitualmente, los primeros síntomas son torpeza e inestabilidad al caminar. Los espasmos musculares ( mioclonía) son mucho menos frecuentes que en la enfermedad de Creutzfeldt-Jakob. Se dificulta el habla (disartria) y se desarrolla demencia. Se produce falta de coordinación seguida de un deterioro lento de la función mental Se producen nistagmo (movimiento rápido de los ojos en una dirección, seguido de una desviación lenta a la posición original) y sordera. Se pierde la coordinación muscular (lo que se denomina ataxia). y los músculos presentan rigidez. Por lo general, se afectan los músculos que controlan la respiración y la tos, lo que aumenta el riesgo de neumonía, que es la causa más frecuente de la muerte.

Los síntomas típicos y los antecedentes familiares de la enfermedad sugieren el diagnóstico de la enfermedad de Gerstmann-Sträussler-Scheinker, que se confirma con un estudio genético. No existe un tratamiento efectivo. El tratamiento de la enfermedad de Gerstmann-Sträussler-Scheinker se centra en el alivio de los síntomas.

En 1986, Elio Lugaresi y sus colaboradores describen el Insomnio familiar fatal (IFF), es una enfermedad priónica muy poco frecuente que altera el sueño y provoca un deterioro de la funcionalidad mental y pérdida de coordinación. Conduce a la muerte en el lapso de unos meses a unos años (Rábano, 2010).

Esta enfermedad se presenta bajo dos formas, familiar y esporádica. La primera es hereditaria y se atribuye a una mutación específica en el gen PRNP que codifica la proteína priónica celular (PrP<sup>c</sup>). La forma esporádica aparece de manera espontánea sin atribuirse a una mutación genética. Ambas formas de la enfermedad afectan predominantemente el tálamo, zona cerebral en la que se regula el sueño.

En la forma familiar, los síntomas iniciales consisten en dificultades menores para conciliar el sueño y mantenerlo y en sacudidas musculares, espasmos y rigidez

ocasionales. Durante el sueño, el paciente presenta una hipermotilidad de las extremidades inferiores. A medida que avanza la enfermedad se pierde por completo la capacidad de conciliar el sueño y la funcionalidad mental se deteriora y se produce ataxia. Se acelera la frecuencia cardíaca, aumenta la tensión arterial y se produce una sudoración profusa. En la forma esporádica, los síntomas tempranos consisten en un rápido deterioro de la función mental y falta de coordinación. Puede ocurrir que algunos pacientes no presenten problemas con el sueño, aunque lo habitual es que en mayor o menor grado si existan.

En el insomnio familiar mortal, los síntomas pueden comenzar desde poco antes de los 30 años de edad hasta poco más de los 70 años de edad (el promedio es de 40 años). La muerte generalmente se produce al cabo de 7 a 73 meses de haberse iniciado los síntomas. En la forma esporádica comienza un poco más tarde y la esperanza de vida es un poco más prolongada.

### **Las enfermedades priónicas animales**

El scrapie, denominación que procede del idioma islandés, también conocida como tembladera, que es como se la identifica en Francia, o enfermedad de prurigo lumbar, afecta a ovejas y cabras, está extendida por un gran número de países del mundo y está considerada como un modelo genuino de enfermedad priónica, además de ser la enfermedad priónica más antiguamente conocida.

De hecho, esta enfermedad fue descrita inicialmente en Inglaterra en 1732. Unos años más tarde, en 1750, la enfermedad fue también identificada en Alemania, sospechándose ya su probable naturaleza infecciosa (Leopoldt, 1750). En 1936, Cueille y Cheille (Cuille and Chelle, 1936) demostraron su transmisibilidad inoculando experimentalmente a ovejas y cabras tejido nervioso de ovejas infectadas, comprobándose el largo periodo de incubación (Cuille and Chelle, 1936, 1938a, 1938b). En 1942, Chelle describe en Francia la enfermedad en la cabra.

Más recientemente, en el año 1998, se identificó la llamada forma atípica de la enfermedad, que se denominó Nor98 y fue observada por primera vez en Noruega



en el ganado ovino (Benestad *et al.*, 2003). No obstante, tras la realización de estudios retrospectivos se comprobó que casos de esta forma atípica de la enfermedad ya se habían registrado en el Reino Unido en los años ochenta (Bruce *et al.*, 2007) y con posterioridad se ha identificado en muchos otros países del mundo. Esta nueva forma atípica del scrapie se diferencia del scrapie clásico tanto clínica como epidemiológicamente y presenta unas características bioquímicas e histopatológicas también singulares (Fast and Groschup, 2013).

El Scrapie clásico se caracteriza por una un largo periodo de incubación de duración variable y afecta a animales de entre 2 y 5 años de edad. Tras aparecer los signos clínicos, los animales afectados pueden sobrevivir entre 1 y 6 meses. Las manifestaciones clínicas de la enfermedad suelen comenzar de forma insidiosa, a menudo con sutiles cambios de comportamiento como confusión, separación del rebaño y mirada fija, evolucionando hacia una enfermedad neurológica a frecuentemente caracterizada por signos de prurito y ataxia o descoordinación de la marcha. También suelen evidenciarse otros signos clínicos como hiperestesia, temblores, bruxismo y una evoluciona rápida hacia la caquexia.

Los síntomas pueden variar en los animales afectados pero lo más frecuente suele ser el prurito que es uno de los signos más característicos y diferenciales del scrapie clásico. El prurito se reconoce porque los animales se frotan o rascan compulsivamente contra objetos fijos, se mordisquean la piel y se rascan con una extremidad trasera o con los cuernos. Ello tiene como consecuencia la pérdida de lana particularmente en la zona lateral del tórax, los flancos, las extremidades posteriores y la base de la cola. La persistencia del prurito da lugar a lesiones alopécicas cutáneas auto-infligidas por el continuo rascado. El rascado del dorso y la zona lumbar a menudo desencadena el característico “reflejo de mordisqueo”. El animal puede morir tras un prolongado periodo en el que solo se observan signos neurológicos poco evidentes o sin signos. Estos signos clínicos, individualmente, no son específicos de la enfermedad por lo que la sospecha clínica de enfermedad debe confirmarse con otras pruebas diagnósticas (Acin *et al.*, 2021).

La confirmación diagnóstica se realiza habitualmente mediante la observación de las lesiones características de la enfermedad, consistentes en la vacuolización de los citoplasmas neuronales y la espongirosis del neuropilo claramente visibles en ciertas regiones del encéfalo, particularmente el tronco del encéfalo y en concreto en el obex (Wood *et al.*, 1997), una gliosis reactiva a expensas de una reacción astrocítica, y mediante la identificación inmunohistoquímica de la proteína PrP<sup>Sc</sup> particularmente visible en las neuronas y sus prolongaciones con patrones de distribución neuroanatómica variable (Ryder *et al.*, 2001) . Es relevante destacar la posibilidad de identificar también la presencia de la proteína PrP<sup>Sc</sup> en el sistema linforreticular y en algunos otros tejidos y órganos, lo que ha sido aprovechado para realizar diagnósticos en la fase preclínica de la enfermedad, tomando como muestras la amígdala, la membrana nictitante ocular o el recto La confirmación diagnóstica también puede realizarse mediante pruebas moleculares especialmente adaptadas a la detección específica de la proteína PrP<sup>Sc</sup> en las muestras de tejido del encéfalo.

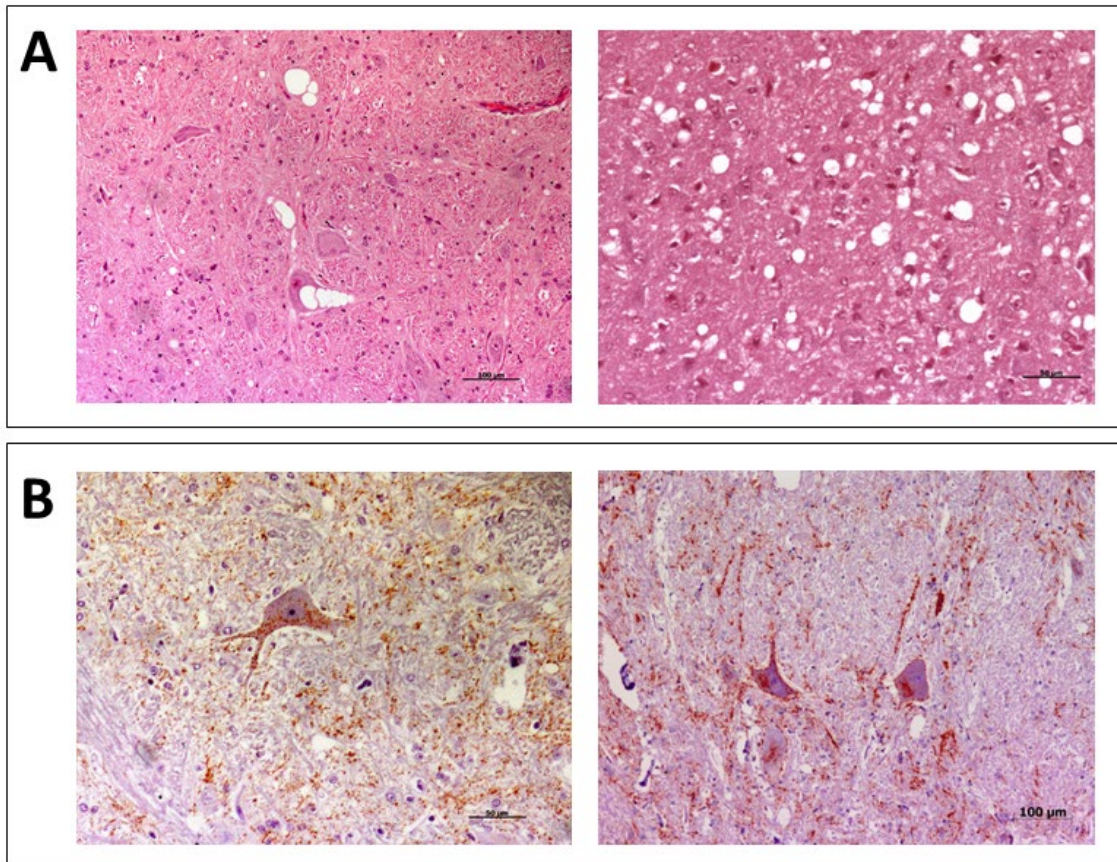


Figura 3: Lesiones neuropatológicas características de las enfermedades priónicas. (A) Vacuolización intraneuronal (izquierda) y espongiosis (derecha) observadas mediante la tinción de hematoxilina-eosina (B) Depósitos de PrP<sup>Sc</sup> visualizados mediante la técnica inmunohistoquímica.

El scrapie atípico suele aparecer en edades mayores a las del scrapie clásico y la clínica presenta diferencia al clásico, destacando la escasa presencia o ausencia del prurito. Las lesiones y los depósitos de PrP<sup>Sc</sup> son parecidas a las del scrapie clásico pero se localizan preferentemente en el cerebelo y no en el obex como ocurre en el scrapie clásico. La PrP<sup>Sc</sup> no se detecta en tejidos periféricos (Gavier-Widen *et al.*, 2001), aunque la infectividad se ha demostrado en el sistema linforeticular, nervios e incluso en músculos (Andreoletti *et al.*, 2011).

En el scrapie ovino se ha reconocido un importante componente genético que condiciona la susceptibilidad a la infección, la manifestación clínico patológica de la enfermedad y la aparición de las distintas cepas conocida. En las ovejas, se han asociado distintos genotipos de la PrP a la susceptibilidad al agente causal. Los polimorfismos en

los codones 136, 171 y 154, particularmente los dos primeros, son de especial importancia para determinar la susceptibilidad general de las ovejas al scrapie clásico, mientras que las variaciones en los codones 141 y 154 determinan la susceptibilidad de las ovejas al prurigo lumbar atípico. En las cabras, el genotipo PrP también influye en la susceptibilidad a la enfermedad. Aunque los mecanismos por los cuales los parámetros relacionados con cepa y con hospedador influyen en el fenotipo de la enfermedad todavía no se conocen del todo.

En 1947, en Estados Unidos, se detectó una rara enfermedad neurológica que afectaba a visones criados en granjas. Unos años más tarde esta afección se identificó como una enfermedad priónica, la encefalopatía transmisible del visón (ETV) (Barlow, 1972) . Posteriormente, la enfermedad se diagnosticó en diversos lugares de América y Europa (Marsh and Hadlow, 1992). Los brotes de encefalopatía transmisible del visón son muy poco frecuentes, ocurriendo el último de ellos en 1985. Se ha especulado que el origen de la enfermedad podría estar relacionado con el consumo de carne contaminada con priones, probablemente de ovejas infectadas con scrapie (Marsh and Bessen, 1993). Pero en la actualidad el origen de esta enfermedad sigue siendo desconocido.

En el año 1967 se identificó por primera vez, en un ciervo mula cautivo en Colorado, una enfermedad neurodegenerativa que fue formalmente diagnosticada como una enfermedad priónica en 1978, la denominada Enfermedad crónica caquetizante (ECC) (Williams and Young, 1980). Desde entonces esta enfermedad se propagó a otras especies de cérvidos de Estados Unidos y Canadá, alcanzando prevalencias muy altas en algunos estados (Williams, 2005). Esta enfermedad también se ha detectado en Corea del Sur y, en el año 2016, ha sido descrita por primera vez en Europa, en concreto en tres países escandinavos (Benestad *et al.*, 2016), por lo que actualmente se considera una enfermedad emergente en el continente europeo, y de hecho, la Comisión Europea ha establecido un programa de vigilancia específico en determinados países del norte de Europa. El origen de esta enfermedad se desconoce, pero el hecho de que sea la única enfermedad priónica que afecta tanto a animales

domésticos como silvestres, unido a su gran capacidad de propagación, han determinado que el ciclo de transmisión de esta enfermedad entre especies, la persistencia del agente causal en el ambiente y los factores que determinan la emergencia de nuevas cepas despertaron un gran interés en la investigación de esta enfermedad (Duque Velasquez *et al.*, 2015).

Sin embargo, las enfermedades priónicas y su posible transmisión entre especies se convirtieron en motivo de preocupación pública tras la aparición de la encefalopatía espongiforme bovina. En los años 80 se descubrió esta enfermedad en el ganado bovino del Reino Unido (Wells *et al.*, 1987), relacionándose la aparición de la enfermedad con la alimentación del vacuno con harinas de carne y hueso procedentes de ovejas infectadas con scrapie inadecuadamente procesadas (Wilesmith *et al.*, 1988; Wilesmith *et al.*, 1991) La epidemia se propagó rápidamente, afectando a miles de animales y extendiéndose a otros países (Brown *et al.*, 2001), aunque la enorme repercusión sanitaria, económica, política y mediática fue debida a la aparición de la variante de la enfermedad de Creutzfeldt-Jakob (vECJ) en la especie humana en el año 1996 y su asociación con el consumo de productos de origen bovino contaminados con priones de EEB (Will *et al.*, 1996; Bruce *et al.*, 1997).

Tras las medidas instauradas por la Comisión Europea con el fin de prevenir, controlar y erradicar la EEB se consiguió una drástica disminución de la prevalencia de la enfermedad. En esencia las medidas establecidas consistieron en 1.-La identificación y localización de los casos de EEB mediante la aplicación de un sistema de vigilancia pasiva y activa y las medidas de erradicación recomendadas, 2.- La protección preventiva de los consumidores europeos, mediante la definición de los MER (materiales específicos de riesgo) y su retirada obligatoria de la cadena alimentaria y 3.- La identificación de las harinas de carne y hueso como principales transmisoras de la enfermedad y la prohibición de su consumo y comercialización.

La vigilancia pasiva requirió de un conocimiento de la enfermedad y su presentación clínica. Es de destacar el largo periodo de incubación y el comportamiento nervioso o agresivo que exhibe el animal afectado, el cuadro depresivo, la hipersensibilidad a la luz, sonido y tacto, la presencia de temblores, posturas anómalas,

incoordinación de movimientos, caídas al suelo, dificultades para incorporarse, disminución progresiva de peso y la producción de leche. No existe un tratamiento eficaz y los animales afectados morirán irremediablemente (Organización Mundial de Sanidad Animal, 2018).

La aplicación de los tres criterios citados para la erradicación en la EEB en Europa y la mejora en los métodos de diagnóstico condujeron a una reducción drástica del número de casos de EEB en Europa y a la identificación, en la década del 2000, de dos nuevas formas de EEB en el ganado bovino, que se denominaron formas atípicas de la misma (Ducrot *et al.*, 2008). La EEB de tipo L o EEB-L se detectó por primera vez en Italia en dos animales (Casalone *et al.*, 2004). Estos bovinos presentaban diferencias significativas en la distribución de las lesiones encefálicas con respecto a los animales infectados con EEB clásica (EEB-C). Por otro lado, la EEB de tipo H (EEB-H), fue descrita por primera vez en Francia (Biacabe *et al.*, 2004). Actualmente siguen declarándose casos de EEB atípica en diversos países europeos (Organización Mundial de Sanidad Animal, 2016). Estos casos se diagnostican en el ganado bovino adulto y se desconoce su origen, aunque se ha propuesto que podrían tratarse de la forma esporádica o espontánea en estos animales (Seuberlich *et al.*, 2010).

Tras la epidemia de EEB numerosas especies desarrollaron una enfermedad priónica de forma natural. Varios animales pertenecientes a siete especies distintas de ungulados exóticos (niála, órice del Cabo, gran kudú, órice blanco, órice árabe, eland común y bisonte) padecieron una enfermedad priónica similar a la EEB. De forma paralela, la enfermedad se descubrió también en primates no humanos. Por otro lado, la encefalopatía espongiiforme felina (EEF) se observó por primera vez en gatos en 1990 y desde 1992 hasta 2005 esta enfermedad fue diagnosticada en seis especies de felinos más (guepardo, león, ocelote, puma, tigre y leopardo). Estudios epidemiológicos demostraron que todas estas especies de rumiantes, primates y felinos habían consumido piensos que contenían harinas de carne y hueso de rumiantes, carne de vacuno o bien habían estado próximos a bovinos infectados con encefalopatía espongiiforme bovina (Kirkwood and Cunningham, 1994; Sigurdson and Miller, 2003). Además, se han detectado casos naturales de EEB en pequeños rumiantes,

concretamente en dos cabras. Uno de los casos se diagnosticó en una cabra doméstica en Francia en el año 2005 (Eloit *et al.*, 2005) y, en 2011, se confirmó otro caso en el Reino Unido, en un caprino que había sido diagnosticado de scrapie en 1990 e identificado de forma retrospectiva como sospechoso de EEB (Spiropoulos *et al.*, 2011).

Finalmente, en el año 2018, se detectó en Argelia una enfermedad priónica que afecta a los dromedarios (*Camelus dromedarius*). Se considera que un 3.1% de los dromedarios que se sacrificaron en el matadero de Ouargla entre 2015 y 2016 presentaban signos clínicos compatibles con esta enfermedad priónica. El diagnóstico fue confirmado tras la observación de degeneración esponjiforme y depósito de PrP<sup>Sc</sup> en el SNC de animales afectados. Además, se ha demostrado que los priones causantes de esta enfermedad presentan características bioquímicas distintas a la EEB y el scrapie (Babelhadj *et al.*, 2018).

Así se considera que existe un cambio conformacional de la estructura terciaria de la PrP<sup>C</sup>, rica en hélices  $\alpha$ , a una isoforma aberrante PrP<sup>Sc</sup>, rica en láminas  $\beta$  (Figura 1). Se piensa que esta conversión se produce en la superficie celular o a través de distintas rutas endocíticas celulares (Fehlinger *et al.*, 2017), requiriendo ambas isoformas para su propagación (Sailer *et al.*, 1994). También se ha propuesto la existencia de productos intermedios como causantes de la toxicidad en relación con este cambio conformacional.

### III. EL AGENTE CAUSAL

Inicialmente se pensó que estas enfermedades eran causadas por virus lentos (lentivirus) teniendo en cuenta los largos periodos de incubación y el cuadro clínico crónico de las enfermedades que provocaban y a que el agente causal podía filtrarse a través de filtros específicos para agentes víricos (Wilson *et al.*, 1950). Sin embargo, el agente causal presentaba otras características únicas que no cumplían con los requerimientos mencionados.

También fue considerada la posibilidad de que el agente causal de estas enfermedades fueran un virino, formulándose la *teoría del virino*, formulada 1979 por Dickinson y Outram (Dickinson and Outram, 1979) que proponía que el agente causal

podría ser una molécula quimérica constituida por una proteína codificada por el hospedador y un pequeño ácido nucleico no codificante propio del agente infeccioso. Esta hipótesis podría explicar la variabilidad que presentaban los distintos aislados de scrapie al ser transmitidos a roedores y la aparición de mutaciones que justificaría la variación fenotípica observada en los animales.

Al no encontrar una posible causa conocida que lograra un consenso se comenzó a especular que podría tratarse de un agente que tenía la capacidad de replicarse sin la presencia de ácidos nucleicos (Alper *et al.*, 1967). Ello dio lugar a proponerse inicialmente varias hipótesis sobre su origen molecular, entre las cuales figuran estar formados por un “polisacárido replicante” (Alper *et al.*, 1967) un ácido nucleico y una proteína (Weissmann, 1991) o solamente por proteínas (Prusiner, 1982).

Stanley B. Prusiner, asumió esta hipótesis e introdujo en 1982 el término “prion” (*proteinaceous infectious particle*), para diferenciar a este nuevo agente infeccioso de otros agentes patógenos, siendo definido como una pequeña partícula proteica infecciosa que no poseía ácidos nucleicos (Prusiner, 1982).

De todas las hipótesis planteadas sobre el origen de la enfermedad, la única aceptada actualmente es la propuesta por Prusiner en 1982 (“*solamente es una proteína*”) (Fig 4), que cuenta con gran número de evidencias experimentales, aunque todavía no se ha podido cristalizar, lo que ha motivado que algunos investigadores argumenten que además de la proteína exista algo más; así, Aiken (Aiken *et al.*, 1989) y Manuelidis, 2007 (Manuelidis, 2007), entre otros, han mantenido durante años que el agente causal sería una proteína que envolvería un ADN mitocondrial.





Figura 4: Stanley B Prusiner, Premio Nobel de Fisiología y Medicina en 1997, por la formulación de la teoría prión.

La hipótesis predominante de estar constituido “solamente por una proteína”, que era capaz de reproducirse sin necesidad de material genético, fue inicialmente propuesta por Griffith en un artículo publicado en *Nature* en el año 1967 (Griffith, 1967). Pero no fue hasta 1982 cuando Stanley B. Prusiner, investigador de la Universidad de California, enunció de forma detallada esta teoría, al afirmar que el agente infeccioso responsable de estas enfermedades degenerativas del sistema nervioso central en animales y en humanos era simplemente una proteína a la cual bautizó con el nombre de prion (*Proteinaceous infectious particles*), para diferenciar a este nuevo agente infeccioso de otros agentes patógenos, siendo definido como una pequeña partícula proteica infecciosa que no poseía ácidos nucleicos, provocando con ello un debate de gran calado en la comunidad científica internacional pues contravenía con ello una creencia, hasta entonces asumida, de que todo agente responsable de enfermedades transmisibles necesita contener material genético (ADN o ARN), imprescindible para que la enfermedad prevalezca en el huésped.

Los resultados de numerosos estudios posteriores han respaldado la teoría de la proteína única, siendo la teoría aceptada en la actualidad. Incluso se ha demostrado que los priones generados *in vitro*, e incluso los priones recombinantes generados en

bacterias son capaces de producir una enfermedad priónica por sí solos (Castilla *et al.*, 2005) o en presencia de ciertos lípidos o moléculas de ARN (Wang *et al.*, 2010).

Esta partícula proteica, a diferencia de otras proteínas de peso molecular similar, era resistente a la digestión con proteinasa K, por lo que se la denominó PrP<sup>Res</sup> o PrP 27-30, ya que tras la digestión con esta enzima posee un tamaño de 27-30 kD (Bolton *et al.*, 1982).

La conversión de PrP<sup>c</sup> (proteína celular normal) en PrP<sup>Sc</sup> (isoforma anormal causante de la enfermedad) implica un cambio en la conformación de la proteína: el contenido en hélices  $\alpha$  disminuye mientras que aumenta el contenido en hoja plegada  $\beta$ , aunque ambas proteínas tienen la misma secuencia de aminoácidos. En apoyo de ello existen abundantes estudios experimentales que aseguran que la proteína celular (PrP<sup>c</sup>), que se localiza principalmente en las membranas celulares, y la proteína prion patológica (PrP<sup>Sc</sup>) tienen la misma estructura primaria (secuencia de aminoácidos) (Prusiner *et al.*, 1990). Por tanto, se acepta que esta estructura primaria de PrP<sup>c</sup> puede adoptar dos diferentes conformaciones que explican la existencia de la PrP<sup>c</sup> y la PrP<sup>Sc</sup>. Cuando las dos estructuras secundarias se comparan por técnicas espectroscópicas, FTIR (*Fourier transformer infrared*) y RMN (resonancia magnética nuclear) (Pan *et al.*, 1993; Zhang *et al.*, 1995) muestran que la proteína celular posee un 40% de estructura en  $\alpha$ -hélice y apenas un 3% de hoja plegada en  $\beta$ , mientras que la isoforma patológica contiene un 30% de  $\alpha$ -hélice y un 40% de hoja plegada en  $\beta$ .

Estudios comparativos de ambas proteínas con marcadores metabólicos demuestran que el cambio de conformación es un proceso postraduccional, que conlleva un cambio drástico en las propiedades de la proteína, como una elevada resistencia a los procesos degradativos y una acumulación progresiva en los tejidos del huésped (Pan *et al.*, 1993). Así, mientras que la proteína celular normal (PrP<sup>c</sup>) es soluble en detergentes suaves no desnaturizantes y se digiere fácilmente con proteasas (proteínasa K), la isoforma patológica (PrP<sup>Sc</sup>), es resistente a los detergentes y sólo es parcialmente digerida por proteasas, produciendo la isoforma conocida como PrP<sup>Sc</sup> 27-30, llamada así debido a que deriva de la PrP<sup>Sc</sup> y que su tamaño es de 27-30 kDa (Prusiner, 1998a).

El gen que codifica a la proteína celular PrP<sup>c</sup>, llamado gen *PRNP*, fue identificado posteriormente en el genoma del hospedador, descubriéndose, asimismo, que la PrP<sup>Res</sup> era una fracción procedente de una molécula mayor, que se denominó PrP<sup>Sc</sup> (Oesch *et al.*, 1985), por lo que la proteína PrP<sup>Sc</sup> se estableció como el agente causal de este grupo de enfermedades, llamadas desde entonces enfermedades priónicas.

La proteína prion celular o PrP<sup>c</sup> se expresa fundamentalmente en el tejido nervioso, en las neuronas y en las células de la glía (Moser *et al.*, 1995; Weissmann *et al.*, 1998) y en el sistema nervioso periférico, hallándose en los ganglios nerviosos de la médula espinal, en los axones sensitivos y motores y en las células de Schwann, mientras que existen niveles sensiblemente más bajos o ausentes en otros tejidos, como en el sistema linforreticular, particularmente en linfocitos y células dendríticas foliculares y órganos como el corazón, el páncreas, el intestino, el hígado, los riñones, el pulmón y el útero.

El gen *PRNP* que codifica a la glicoproteína de membrana PrP<sup>c</sup> está localizado en el cromosoma 20 en humanos, 2 en el ratón y 13 en rumiantes (Sparkes *et al.*, 1986), se ha identificado en más de 15 especies de mamíferos y posee una secuencia genética altamente conservada en los vertebrados. En casi todos ellos el gen está compuesto por dos exones, uno de los cuales no se traduce, y se encuentran separados por un intrón de aproximadamente 10 kb. Solamente tiene un marco de lectura (ORF) que, en el hombre, hámster, ratón, rata y en la oveja han sido secuenciados. La proteína que codifica contiene aproximadamente 250 aminoácidos. En ratones, ovejas y ratas, el gen que codifica la PrP tiene tres exones siendo el exón 3 muy semejante al exón 2 del hámster (Westaway *et al.*, 1994).

Al inicio de la biosíntesis de la PrP<sup>c</sup> el gen *PRNP* se transcribe en el núcleo y el mRNA correspondiente comienza a traducirse en los ribosomas hasta alcanzar un péptido señal de 22 aminoácidos. Éste se traslada al retículo endoplásmico rugoso (RER) donde se sintetiza el resto de una proteína de 253 aminoácidos (254 en algunas especies). En el RER se produce la formación de un puente disulfuro entre los residuos de cisteína 179 y 214 y además puede producirse la adición de N- glicanos a los residuos

aminoacídicos 181 y/o 197, que originará las tres glicoformas en las que puede presentarse esta proteína: la forma no glicosilada, la monoglicosilada y la diglicosilada (Monari *et al.*, 1994).

Una vez terminada la síntesis, la proteína sufre un proceso de maduración complejo antes de convertirse en la proteína celular normal. La maduración de dicha proteína, que ya comienza en el retículo endoplásmico rugoso, finaliza en el aparato de Golgi donde se produce la unión de residuos ácidos (Mays and Soto, 2016) y posteriormente la PrP<sup>c</sup> madura se traslada a la membrana celular, localizándose generalmente en la capa lipídica, desde la que transita entre la superficie y el interior celular por medio de endosomas.

El descubrimiento de la proteína prion supuso un gran avance para caracterizar las causas de este grupo de enfermedades, al proporcionar un marcador molecular específico de las mismas. Así, aceptando como válida la teoría de Prusiner, por la que la PrP<sup>Sc</sup> es una variante conformacional de la PrP<sup>c</sup>, los diferentes estudios de conversión postulan un modelo de propagación del prion que involucra una interacción proteína-proteína, entre la PrP<sup>c</sup> del huésped y la PrP<sup>Sc</sup> externa, que actúa promoviendo la conversión de PrP<sup>c</sup> a PrP<sup>Sc</sup> en un proceso autocatalítico, que a su vez ocurre de una manera muy eficiente al interaccionar proteínas con la misma estructura primaria (Weber *et al.*, 2002).

Sin embargo, el mecanismo preciso de formación de la PrP<sup>Sc</sup> todavía se desconoce. Algunos estudios especulan que esta proteína tiene una capacidad intrínseca para promover su propio cambio conformacional, mientras otros postulan que es necesaria una asociación de esta proteína con un agente infeccioso (proteína X) para su propagación (Prusiner, 1998b, 1998a).

Aunque se ha avanzado mucho en el conocimiento del papel de la proteína prion en las enfermedades priónicas, la función biológica de la PrP<sup>c</sup> no es del todo conocida. Se ha sugerido que debe jugar un importante papel en el mantenimiento y/o regulación de las funciones neuronales, así como su posible papel en la excitabilidad neuronal mediante su interacción con neurotransmisores. Algunos estudios demuestran su

capacidad para unir cobre a la PrP<sup>C</sup> por lo que se ha propuesto que desempeña un papel en la regulación de la concentración del cobre presináptico y en la transmisión sináptica. También ha sido relacionada con la señalización en la superficie celular o con la adhesión celular, debido a su unión a la membrana plasmática, la participación en la respuesta inmune regulando las funciones de los mastocitos y los linfocitos T, el mantenimiento de la homeostasis mitocondrial y la regulación de los niveles de  $\beta$ -amiloide y tau (Castle and Gill, 2017).

### **Conversión de la PrP<sup>C</sup> en PrP<sup>Sc</sup>**

La propagación de los priones en un individuo depende de la conversión de la PrP<sup>C</sup> en la isoforma patógena PrP<sup>Sc</sup>. Todavía no se conocen íntegramente los mecanismos implicados en esa conversión y se han propuesto dos modelos diferentes para intentar explicar el proceso (Figura 5):

-Modelo de plegamiento asistido por molde: Este modelo, originalmente propuesto por Prusiner, considera que el punto crítico en el proceso de conversión es la formación de un heterodímero entre la PrP<sup>C</sup> y la PrP<sup>Sc</sup>, actuando ésta última como un molde que induce la transformación de la primera. Estas nuevas moléculas de PrP<sup>Sc</sup> inducirían un proceso de retroalimentación, replicándose mientras exista PrP<sup>C</sup> en el medio que actúe como sustrato. Finalmente, las moléculas de PrP<sup>Sc</sup> se agregarían y formarían fibrillas de amiloide, aunque es preciso indicar que estas no son esenciales para la replicación de los priones (Prusiner, 1991).

-Modelo de nucleación sembrada o de nucleación-polimerización: Este modelo plantea que la PrP<sup>C</sup> y la PrP<sup>Sc</sup> se encuentran en un estado de equilibrio termodinámico que en condiciones fisiológicas está desplazado hacia la PrP<sup>C</sup>. Según este modelo, varias moléculas de PrP<sup>Sc</sup> se unirían para formar un núcleo o semilla al cual se irían uniendo progresivamente nuevas moléculas de PrP<sup>Sc</sup>, formándose unos agregados de tipo amiloide. La fragmentación de estos agregados aumentaría el número de núcleos o semillas que, a su vez, pueden reclutar nuevas moléculas de PrP<sup>Sc</sup> y producir un cambio masivo sobre las moléculas de PrP<sup>C</sup>, resultando en la replicación del prión y confiriéndole su capacidad infecciosa (Jarrett and Lansbury, 1993; Glatzel and Aguzzi, 2001). Existen evidencias experimentales que apoyan esta hipótesis, ya que se ha demostrado que la PrP<sup>C</sup> puede convertirse en PrP<sup>Sc</sup> cuando es incubada con PrP<sup>Sc</sup>

procedente de animales infectados (Caughey, 2001). Asimismo, la técnica de la amplificación cíclica de proteínas mal plegadas (*protein misfolding cyclic amplification*, PMCA), que fue desarrollada posteriormente, se basa en este modelo. Esta técnica, a través de rondas sucesivas de sonicación e incubación, es capaz de amplificar la PrP<sup>Sc</sup> de forma indefinida cuando un homogeneizado de encéfalo no infectado, que actuaría como sustrato, se incuba con pequeñas cantidades de homogeneizado procedente de un animal infectado (Castilla *et al.*, 2005).

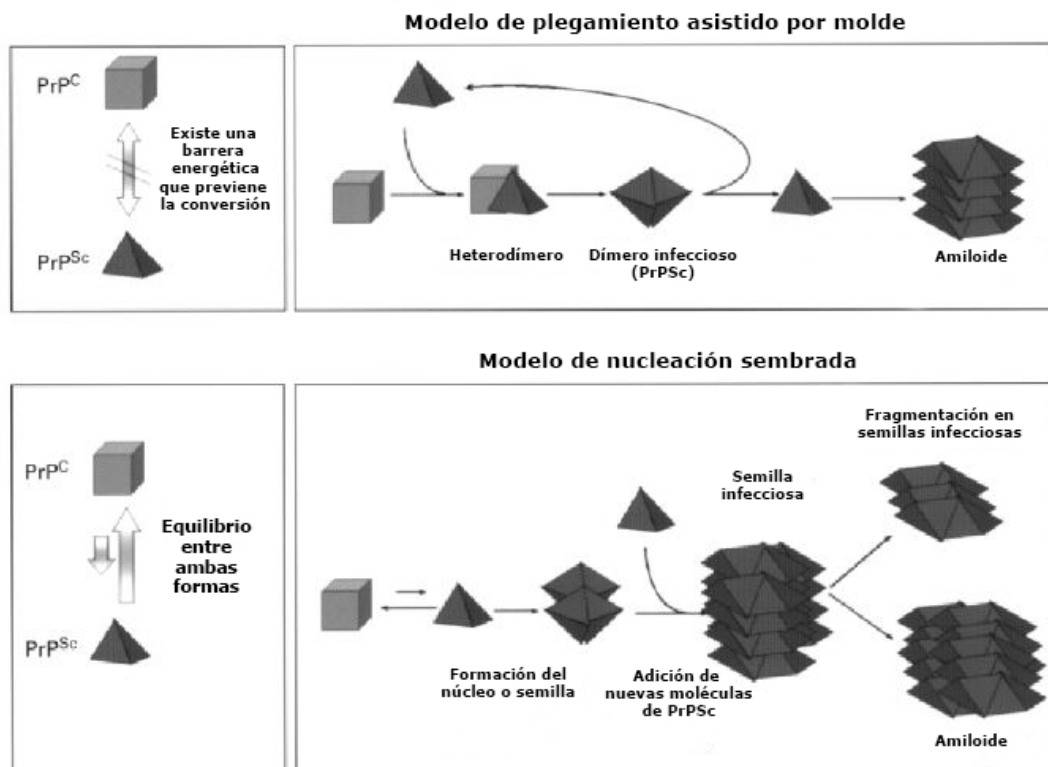


Figura 5: Modelos explicativos de la conversión de la PrP<sup>c</sup> en la isoforma patógena PrP<sup>Sc</sup>. Adaptado de Aguzzi and Heppner, 2000.

### Las cepas priónicas

La existencia de cepas en las enfermedades priónicas ha sido una cuestión controvertida puesto que cuestiona el concepto de la proteína única y ha sido utilizado como un argumento en su contra ya que el concepto clásico de cepa implica la existencia de material genético en el agente infeccioso (Chesebro, 1998).

No obstante, el término “cepa priónica” fue establecido como analogía de otros agentes infecciosos, ya que los individuos afectados por una enfermedad priónica dan lugar al desarrollo de distintas presentaciones desde el punto de vista clínico y lesional, propiedades que se mantienen en pases sucesivos en estudios experimentales. Actualmente está ampliamente aceptado la existencia de cepas que se atribuyen a diferencias en la estructura de la proteína prion, que adoptan conformaciones distintas que pueden ser estables y propagarse eficientemente (Bartz *et al.*, 2000; Peretz *et al.*, 2001).

La diferenciación de las distintas cepas de priones se establece en base a sus características fenotípicas. Esa caracterización (tipificación) de las cepas priónicas se realiza mediante pases seriados en animales de laboratorio, particularmente en ratones. Tras la estabilización de la cepa en ellos la caracterización se realiza valorando cuatro parámetros: el periodo de incubación, los signos clínicos, las lesiones histopatológicas producidas y el patrón inmunohistoquímico de los depósitos de PrP<sup>Sc</sup> (Fraser and Dickinson, 1968; DeArmond and Prusiner, 1993).

La evaluación de las lesiones histopatológicas se realiza mediante un protocolo semicuantitativo que se halla bien estandarizado en ratones y que permite evaluar el perfil lesional espongiiforme en nueve áreas encefálicas distintas (Fraser and Dickinson, 1968). El grado de acumulación de PrP<sup>Sc</sup> se valora mediante la técnica de inmunohistoquímica según la morfología, localización y magnitud de cada uno de los patrones de depósito (Gonzalez *et al.*, 2012) y ha sido clave para la identificación del origen de distintas cepas priónicas.

El genotipo del gen *PRNP* del hospedador también juega un papel importante en el cuadro neuropatológico, especialmente en relación a la distribución y la morfología de los depósitos de PrP<sup>Sc</sup> en el encéfalo, como se ha comprobado en el scrapie ovino en el que la distribución de la PrP<sup>Sc</sup> dependía de la interacción la cepa y factores genéticos del hospedador (Gonzalez *et al.*, 2012).

Las cepas presentan también características bioquímicas específicas que se utilizan para su identificación, como el patrón de glicosilación de la PrP<sup>Sc</sup> y su movilidad electroforética tras la digestión con PK, constituyendo en la actualidad uno de los principales métodos de caracterización de cepas priónicas.

La inoculación de material infeccioso en ratones ha permitido la identificación fenotípica de más de 20 cepas, en su mayoría procedentes de scrapie ovino y caprino, EEB y de eECJ y GSS de origen humano. En el caso del scrapie murino, las que se utilizan actualmente proceden de la cepa de scrapie ovino SSBP/1 (*scrapie subpassaged brain pool*). Y la cepa ME7. Además existen otras como las cepas 301C, 301V y Fukuoka, originadas las dos primeras tras la inoculación de ratones con EEB y la última con eECJ (Block and Bartz, 2022).

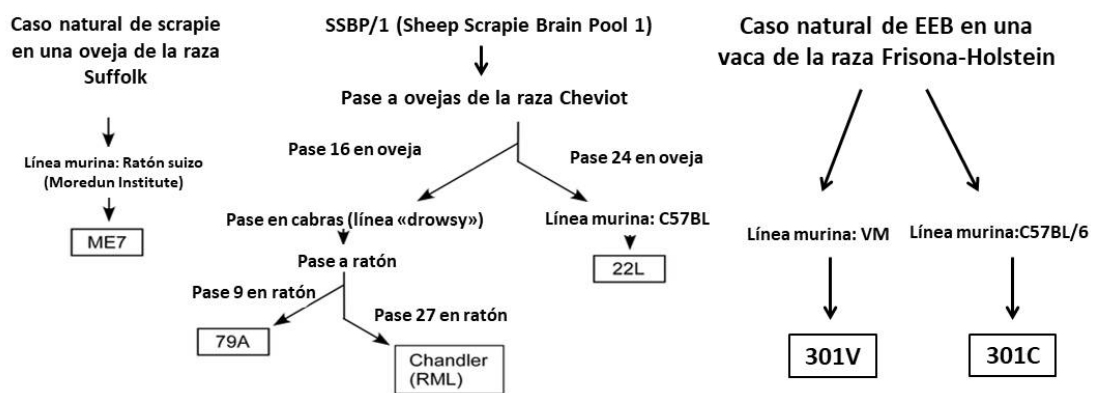


Figura 6: Esquema en el que se representa la generación de algunas de las cepas priónicas murinas más utilizadas en investigación.

Sin embargo, aunque se han conseguido aislar numerosas cepas en ratones, la identificación de cepas de scrapie en los ovinos y caprinos sigue siendo una cuestión complicada y controvertida ya que el genotipo del gen *PRNP*, tanto del donante como del receptor, puede tener un efecto significativo en el fenotipo resultante (Ligios *et al.*, 2002; Spiropoulos *et al.*, 2007). De hecho, en la actualidad se considera que existen al menos tres cepas de scrapie ovino: la ya mencionada SSBP/1, la cepa CH1641, de características bioquímicas similares a la EEB y la cepa Nor98, responsable del scrapie atípico.

En la encefalopatía espongiiforme bovina se han identificado tres cepas, una forma clásica (EEB-C) y dos formas atípicas (EEB-L y EEB-H). Los animales afectados por



EEB-L presentan placas de amiloide en el encéfalo y muestran un patrón de glicosilación distinto al de la EEB-C, con una banda no glicosilada de menor peso molecular (Casalone *et al.*, 2004). La cepa EEB-H presenta por el contrario una banda no glicosilada de mayor peso molecular que la de la EEB-C (Biacabe *et al.*, 2004). Al ser la EEB-C una enfermedad zoonótica y haberse detectado casos en pequeños rumiantes (Eloit *et al.*, 2005; Spiropoulos *et al.*, 2011), se han desarrollado métodos para diferenciar esta cepa del scrapie, entre ellos los que se basan en el uso de anticuerpos, como el 6H4 y el P4.

Un protocolo muy similar, que utiliza el anticuerpo N-terminal 12B2, se emplea para discriminar entre distintas cepas priónicas humanas, ya que este anticuerpo apenas detecta las cepas humanas asociadas al patrón de PrP<sup>Sc</sup> tipo 2 de la ECJ (Notari *et al.*, 2007). Este anticuerpo no detecta la PrP<sup>Sc</sup> de las formas MM2-cortical, MM2-talámica, VV2 ni vECJ (Parchi *et al.*, 1996), siendo útil para diferenciar la vECJ de la mayoría de los casos de eECJ, que presentan un patrón de glicosilación de tipo 1 (Parchi *et al.*, 1999).

En el caso de la enfermedad crónica caquetizante de los cervidos (ECC) también se han identificado distintas cepas, aunque su tipificación es más compleja. Tras su transmisión experimental en ratones se definieron inicialmente dos tipos, las denominadas CWD1 y CWD2 (del *chronic wasting disease*). Más tarde se aislaron otras dos cepas, procedentes de ciervos de cola blanca de distintos genotipos, Wisc-1 y H95+. La cepa H95 se propaga en ratones *wild type* y en transgénicos, considerándose una cepa emergente (Duque Velasquez *et al.*, 2015).

#### **IV. PATOGENIA Y TRANSMISIÓN**

En el caso de las enfermedades priónicas de tipo infeccioso, tanto animales como humanas, la puerta de entrada del agente etiológico es la vía oral, por lo que la vía alimentaria se considera una de las que desempeñan un papel relevante. Así, en el caso de las animales, como el scrapie y la encefalopatía espongiforme bovina, se acepta que se produce preferentemente a través de la ingesta de placentas contaminadas de ovejas o cabras infectadas y en vacuno por el consumo de piensos o leches maternizadas contaminados con la proteína prion patológica (Wells *et al.*, 2005).

También se contemplan otras vías en el caso de la enfermedad de Scrapie (la presencia de pequeñas heridas en la piel, por ejemplo), que también podrían contribuir a la entrada de la PrP<sup>Sc</sup> en animales de las especies ovina y caprina cuando están en contacto con otros animales infectados o simplemente por la contaminación presente en el medio en rebaños afectados de la enfermedad. Asimismo, esa vía de entrada de la infección se ha descrito en las infecciones humanas por el agente causal de la encefalopatía espongiforme bovina y de tejidos humanos de la enfermedad de Creutzfeldt-Jacob.

Sin embargo, en estudios experimentales se han utilizado otras vías alternativas y efectivas, como la vía intracerebral, la intraperitoneal, la intravenosa, la intraocular y la conjuntival y a través de escarificaciones en la piel (Acin *et al.*, 2021). Las puertas de entrada del agente tras la ingestión de material contaminado pueden ser distintas, aunque siempre implican al sistema inmunitario. Tanto en el scrapie como en la encefalopatía espongiforme bovina la proteína patológica (PrP<sup>Sc</sup>) penetra en el organismo principalmente a través del tejido linfoide asociado al intestino (GALT) sobre todo a nivel del íleon, ya que éste alberga la placa de Peyer ileal, que actúa como tejido linfoide primario y que involuciona con la edad. Por ello, parece que existe mayor susceptibilidad a contraer la enfermedad a edades tempranas (Aguzzi and Heikenwalder, 2006).

En el mecanismo de incorporación de la proteína PrP<sup>Sc</sup> al tejido subyacente desempeñan un papel importante las células M, que se localizan en el epitelio de recubrimiento intestinal adyacente a las placas de Peyer. Las células M son enterocitos modificados capaces de captar proteínas sin su posterior degradación a fin de presentarlas como antígenos al sistema linforreticular. Así, la proteína PrP<sup>Sc</sup> es transferida a las células de dicho sistema, donde se acumula y se replica en células macrofágicas y en células dendríticas foliculares. Estos tipos celulares, junto con los linfocitos B, desempeñan un papel crucial en la patogenia de las enfermedades priónicas (Acín *et al.*, 2021).

Estudios efectuados en ratones transgénicos demostraron que, en ausencia de linfocitos B, los ratones eran resistentes a la infección por PrP<sup>Sc</sup>. Más tarde se demostró que la ausencia de linfocitos B impedía que maduraran las células dendríticas foliculares, evitando así que estas acumularan la proteína prion (Klein *et al.*, 1997). Asimismo, otros autores sostienen que la expresión de PrP<sup>C</sup> en los linfocitos B no es necesaria para que se produzca neuroinvasión. Los folículos linfoides, estructuras en las que se encuentran las células dendríticas foliculares, son muy eficaces para la replicación de la PrP<sup>Sc</sup>. De hecho, se ha demostrado que la presencia de folículos en localizaciones no habituales, como sucede en los casos de inflamación crónica, permite la acumulación de PrP<sup>Sc</sup>. Por ello, por ejemplo, en las mamitis crónicas ovinas, que cursan con la formación de folículos linfoides, pueda excretarse PrP<sup>Sc</sup> a través de la leche (por ejemplo, la coinfección del scrapie con lentivirus de los pequeños rumiantes) o, en el caso de nefritis crónicas, por la orina (Aguzzi and Heikenwalder, 2006). La tonsila palatina se considera otra puerta de entrada del agente causal, en la que el tejido linfoide se intercala con el epitelio escamoso del paladar. El objetivo del tejido linfoide en esta localización y en condiciones normales es la identificación de antígenos que penetren en el organismo por vía oral.

Tras un tiempo de permanencia variable en el tejido linfoide, el agente se dirige al sistema nervioso central-por dos rutas principales: una directa, a través del sistema nervioso periférico, y otra indirecta, que implica la participación del sistema linforreticular (linfonodos, bazo y amígdalas) y del sistema nervioso periférico. En el caso del Scrapie se ha observado una amplia participación del sistema linforreticular, mientras que en la EEB esa participación es mínima (van Keulen *et al.*, 2000; van Keulen *et al.*, 2008). En el sistema linforreticular, la participación más relevante es la del bazo, aunque depende de la vía de inoculación (Acín *et al.*, 2021). Una vez que la PrP<sup>Sc</sup> está presente en el bazo, su concentración aumenta hasta estabilizarse, previamente a la invasión del sistema nervioso central (Hill and Collinge, 2003). De hecho, en la enfermedad del scrapie algunos autores señalan que el diagnóstico de la enfermedad, tomando como muestras objeto de estudio tanto la médula oblongada como el sistema linforreticular (linfonodo retrofaríngeo, tonsila palatina, biopsia de tercer párpado, por el tejido linfoide asociado a la membrana nictitante, o de mucosa-rectal), permite

diagnosticar también gran parte de los casos preclínicos, debido a la temprana distribución de la proteína prion en el tejido linforreticular (Monleon *et al.*, 2005; Vargas *et al.*, 2006). No obstante, la replicación de la proteína prion en el sistema linforreticular no es requisito indispensable en todos los casos. De hecho, la participación del citado sistema puede verse influida por factores endógenos o exógenos al individuo (por ejemplo, dosis infectivas elevadas) (Andreoletti *et al.*, 2000). Así, en animales de experimentación se ha descrito neuroinvasión del agente priónico en ausencia de sistema linforreticular realizándose el proceso directamente por transporte axonal (Bartz *et al.*, 2005).

En el caso de los pequeños rumiantes, la ruta de neuroinvasión de la proteína prión varía sustancialmente dependiendo del agente infeccioso implicado, de la especie del huésped y de la susceptibilidad genética propia del individuo. Así, factores como el genotipo del huésped pueden hacerla variar considerablemente. En ovinos que portan los genotipos más resistentes al codón 136 del gen PRNP (por ejemplo, ARR), la implicación del sistema linforreticular en la replicación de la proteína prión es muy pequeña, y la neuroinvasión se produce sin que el sistema linforreticular acumule PrP<sup>Sc</sup> (Jeffrey *et al.*, 2002).

En la encefalopatía esponjiforme bovina, la replicación del prion se restringe al sistema nervioso central (Buschmann and Groschup, 2005) siendo mínima su replicación en el tejido linforreticular. Es importante destacar que el tejido linfoide intestinal se extiende proximal y distalmente a lo largo del tracto gastrointestinal. En el sistema linforreticular, la proteína PrP<sup>Sc</sup> se distribuye por toda su extensión (sobre todo en la especie ovina, y dependiendo también de genotipos específicos) y se transfiere al sistema nervioso entérico (Beekes and McBride, 2000), que se considera el punto de entrada del agente causal del scrapie en el sistema nervioso, ya que se ha detectado PrP<sup>Sc</sup> en dicho sistema durante las primeras fases de la infección. No se conoce con precisión el mecanismo de transferencia del agente causal desde el sistema linforreticular al sistema nervioso central, pero diversos estudios sugieren que se produce desde las células dendríticas foliculares hasta las fibras nerviosas que inervan los folículos linfoides, siendo mayor la velocidad de neuroinvasión cuanto menor es la

distancia entre estas células y las terminaciones nerviosas (Heggebo *et al.*, 2003). La difusión del agente puede ser pasiva, desde las células degeneradas que lo liberan hasta las terminaciones nerviosas, o mediante el transporte de células móviles, como los macrófagos o las células dendríticas (Aguzzi, 2001).

Inicialmente se pueden observar depósitos de PrP<sup>Sc</sup> en los ganglios de los plexos que se encuentran en el íleon, que se van distribuyendo progresivamente a lo largo de todo el sistema nervioso entérico, presentando un patrón de diseminación similar al del sistema linforreticular (Heggebo *et al.*, 2003). Desde el sistema nervioso entérico, utilizando estructuras nerviosas del sistema nervioso autónomo, y en concreto del sistema parasimpático, la PrP<sup>Sc</sup> podría llegar al sistema nervioso central por dos vías: a través de la médula espinal a nivel torácico (columna intermediolateral, segmentos T5-L1), mediante el nervio esplácnico y los linfonodos mesentéricos craneal y celíaco, o a través de la médula oblongada, en el núcleo motor dorsal del nervio vago. Estos hallazgos han sido descritos en trabajos realizados sobre la distribución tisular de la PrP<sup>Sc</sup> mediante técnicas inmunohistoquímicas en modelos experimentales murinos (Beekes and McBride, 2000).

No obstante, los primeros lugares del sistema nervioso central donde se acumula la PrP<sup>Sc</sup>, tanto en casos naturales de scrapie como de encefalopatía espongiforme bovina como en diversos modelos experimentales, son la médula oblongada y la médula espinal torácica (Jeffrey *et al.*, 2001). Una vez alcanzado el sistema nervioso central, el agente se disemina de forma ascendente y descendente a través del mismo (Kimberlin and Walker, 1980). Asimismo, desde la descripción de los primeros casos de Scrapie atípico, se sabe que en animales que presentan esta variante de la enfermedad, el depósito de PrP<sup>Sc</sup> no se realiza principalmente en la médula oblongada, sino que su mayor concentración se localiza en el cerebelo (Benestad *et al.*, 2003).

Sin embargo, no se puede descartar que el proceso de neuroinvasión ocurra en parte por la fracción de PrP<sup>Sc</sup> que circula por la sangre, y que el agente acceda al encéfalo a través de ella. En 2002, se publicaron trabajos que describen la transmisión del scrapie mediante transfusiones sanguíneas, lo que reforzó la teoría de que la diseminación de

esta proteína se produjese también por la vía hematógica (Hunter *et al.*, 2002). Por ello, esta vía de distribución del prion puede representar una ruta alternativa de neuroinvasión a la del sistema nervioso entérico/sistema nervioso autónomo, que se apoya en la descripción de la presencia de depósitos de PrP<sup>Sc</sup> en los órganos circunventriculares del cerebro, en los que la barrera hematoencefálica no existe (Siso *et al.*, 2009). Otra vía de diseminación descrita ha sido la linfática, ya que se ha detectado PrP<sup>Sc</sup> en los senos subcapsulares de los linfonodos (Ersdal *et al.*, 2003). En la figura 7 se representan las principales rutas de neuroinvasión.

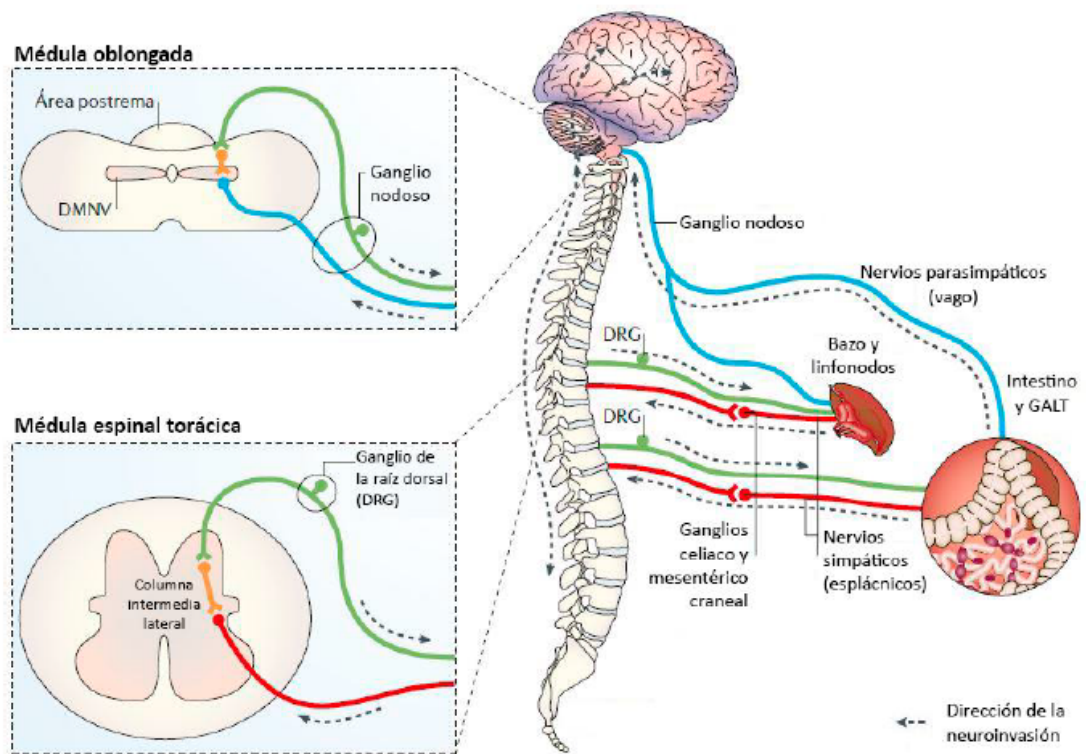


Figura 7. Vías de neuroinvasión. Adaptado de Mabbott and MacPherson, 2006.

Actualmente, todavía no se conocen por completo las vías naturales de transmisión de este grupo de enfermedades. Se acepta que la transmisión horizontal se produce sobre todo mediante la excreción alimentaria y la ingestión oral, pero los largos periodos de incubación que caracterizan a estas enfermedades hacen que sea muy difícil relacionar los casos clínicos con sus fuentes de infección originales.

Los estudios epidemiológicos realizados sugieren que la transmisión natural del scrapie clásico ocurre principalmente por vía horizontal, ya sea por contacto directo entre animales o, indirectamente, mediante la contaminación del ambiente (Hoinville, 1996).

Se estima que las principales fuentes de contaminación ambiental en la enfermedad del scrapie son la placenta y las canales de animales infectados. En el scrapie ovino se reconoce la transmisión materna en condiciones naturales, aunque resulta difícil de evaluar, dado el posible contagio lateral entre animales de todas las edades. Existe un relativo desconocimiento respecto a la vía de infección de una oveja afectada de scrapie hacia su descendencia y si la infección ocurre *in utero*, en el periodo postnatal o en ambos momentos. La transmisión vertical estricta, aquella que se produce *in utero*, nunca ha sido demostrada la presencia de PrP<sup>Sc</sup> e infectividad en la placenta, incluso en estados preclínicos de la enfermedad, sugiere que la transmisión tendría lugar desde las madres infectadas de scrapie a su descendencia y a otros animales en el momento del parto a través de la placenta. (Acín et al., 2021)

No obstante, se ha observado que no todos los animales infectados acumulan PrP<sup>Sc</sup> en la placenta y que el mismo animal no acumula PrP<sup>Sc</sup> en todas las gestaciones. Dicha acumulación parece depender del genotipo del feto ya que no se han detectado depósitos de PrP<sup>Sc</sup> en placentas de ovejas infectadas de Scrapie cuyos fetos presentan un genotipo resistente al scrapie clásico. En las ovejas ARR/VRQ afectadas de Scrapie no se acumula PrP<sup>Sc</sup> en sus placentas, incluso cuando el genotipo fetal es VRQ/VRQ (considerado el más susceptible). Esto podría estar asociado a la falta de PrP<sup>Sc</sup> en el tejido linfoide en animales infectados con genotipo ARR/VRQ y, en consecuencia, a una ineficiente diseminación de PrP<sup>Sc</sup> en la placenta (Lacroux *et al.*, 2007). Sin embargo, la acumulación de PrP<sup>Sc</sup> en la placenta no sólo depende del genotipo de la madre y del feto, sino también de la posición del feto en el útero. La proteína patológica puede estar presente en cotiledones de fetos con genotipos resistentes a scrapie cuando se produce un parto múltiple, en que los fetos (con genotipos resistente y susceptible) están compartiendo el mismo cuerno uterino. Esto se podría explicar por la existencia de anastomosis sanguíneas entre cotiledones de los diferentes fetos (Alverson *et al.*, 2006).

La duración de la exposición de los corderos a las placentas tras la época de partos afecta a la transmisión a la descendencia. Así, los corderos que se separan inmediatamente después del parto de sus madres infectadas de scrapie y del rebaño presentan menos incidencia de la enfermedad en la edad adulta que aquellos que se separan más tarde o que los que no son segregados.

La progenie de ovejas que desarrollan scrapie presenta más probabilidad de contraer la enfermedad que la procedente de ovejas aparentemente no afectadas, debido tanto a la influencia de la genética como a la transmisión de la enfermedad. No obstante, aunque de forma excepcional, existen animales nacidos de ambos padres infectados de scrapie que no desarrollan la enfermedad. Cuando sólo uno de los padres está afectado, sobre todo si es el macho, el riesgo para la descendencia se reduce. En consecuencia, se acepta que la transmisión materna es mucho más importante que la paterna, aunque esta diferencia es menor si la progenie es separada tras el parto, protegiéndose de este modo de una posterior infección horizontal (Hoinville, 1996).

En el ganado vacuno, todas las evidencias indican que en condiciones naturales el agente de la encefalopatía espongiforme bovina no se propaga horizontalmente en el entorno mediante excreciones y/o secreciones, ni verticalmente a través de transmisión materna (Wrathall *et al.*, 2002). Así, se acepta que la epidemia de esta enfermedad fue debida a la intervención humana, al utilizarse canales de animales infectados con priones para la producción de harinas de carne y hueso como fuente de alimentación del ganado vacuno. La retirada de estas harinas para la alimentación animal ha tenido un claro efecto sobre la incidencia de la EEB, que se ha reducido de forma drástica.

La transmisión materna y/o vertical en la encefalopatía espongiforme bovina, desde la madre al ternero, parece ser muy rara o incluso inexistente en estadios tempranos de incubación de la enfermedad, pero el riesgo aumenta dependiendo del periodo transcurrido entre el nacimiento del ternero y el comienzo de los signos clínicos en la madre. Así, se considera que, en una vaca afectada de encefalopatía espongiforme bovina que tenga el parto hasta 6 meses antes o después de la aparición de los signos clínicos, la probabilidad de que su ternero adquiera la enfermedad aumenta



considerablemente (Wilesmith *et al.*, 1997). Sin embargo, no se sabe si la transmisión puede ocurrir por vía transplacentaria durante la gestación o tempranamente en el periodo postnatal a través de secreciones o excreciones maternas (Wrathall *et al.*, 2008).

Se han sugerido otras posibles vías de entrada de la PrPsc, como la mucosa olfatoria en humanos (Zanusso *et al.*, 2003) o las heridas en la lengua en un modelo de enfermedad transmisible del visón (ETV) en hámsteres (Bartz *et al.*, 2005).

Los estudios realizados sobre la transmisión del Scrapie y la encefalopatía espongiforme bovina son los que han precisado qué órganos y tejidos pueden ser considerados peligrosos para el consumo humano, siendo calificados como material específico de riesgo (MER). En España, el RD 3454 del año 2000 que establece el programa integral coordinado de vigilancia de las encefalopatías espongiformes transmisibles regula su retirada, tratamiento y control documental. No obstante, es el Real Decreto 1911 del año 2000 y sus posteriores modificaciones el que define concretamente qué materiales deben ser retirados de la cadena alimentaria como medida de protección del consumidor.

De esta forma, quedan definidos en función de la especie los siguientes tejidos y órganos: Se consideraron materiales específicos de riesgo en los bovinos los siguientes tejidos el cráneo, excluida la mandíbula e incluidos el encéfalo y los ojos, y la médula espinal de los bovinos de más de 12 meses. Asimismo, la columna vertebral, excluidas las vértebras de la cola, las apófisis espinosas y transversas de las vértebras cervicales, torácicas y lumbares, y la cresta sacra media y las alas del sacro, pero incluidos los ganglios de la raíz dorsal, de los animales mayores de 30 meses. También las amígdalas, los intestinos, desde el duodeno hasta el recto, y el mesenterio de los bovinos de todas las edades. En ovinos y caprinos se consideraron MER el cráneo, incluidos el encéfalo y los ojos, las amígdalas y la médula espinal de los ovinos y caprinos de más de 12 meses o en cuya encía haya hecho erupción un incisivo definitivo, así como el bazo y el íleon de los ovinos y caprinos de todas las edades.

La neurodegeneración que acontece en las enfermedades priónicas incluye un gran número de hechos relevantes que se desarrollan en el sistema nervioso central secuencial o simultáneamente, entre los que destacan el acúmulo de agregados proteicos, la degeneración espongiiforme, las alteraciones sinápticas, la neuroinflamación y la muerte neuronal (Soto and Satani, 2011).

Los mecanismos moleculares que participan en la neurodegeneración no se conocen por completo, aunque no hay dudas sobre el hecho de que la formación y la acumulación progresiva de la PrP<sup>Sc</sup> en el encéfalo es el hecho desencadenante principal de la enfermedad priónica, aunque no se conoce con precisión el mecanismo patogénico mediante el que la proteína PrP<sup>Sc</sup> la causa.

Aunque se ha pensado que las enfermedades priónicas podrían originarse como consecuencia de la pérdida de una función fisiológica crítica de la PrP<sup>C</sup> que provocaría la neurodegeneración, en la actualidad se piensa que sería más probablemente debida a una actividad tóxica por parte de la propia PrP<sup>Sc</sup>, lo que se ha comprobado en cultivos neuronales (Soto, 2003). De forma similar a lo que ocurre en otras enfermedades neurodegenerativas como la enfermedad de Alzheimer, Párkinson, esclerosis lateral amiotrófica o enfermedad de Huntington, que también están causadas por la acumulación de proteínas malplegadas en el encéfalo (Soto and Satani, 2011).

Las células poseen la capacidad de regular la cantidad y la localización de proteínas con objeto de evitar su acúmulo que afectaría a la función celular normal. Eso se lleva a cabo procediendo a degradar proteínas dañadas, malplegadas o no necesarias lo que requiere la acción coordinada de las chaperonas y de los sistemas proteolíticos (Andre and Tabrizi, 2012). El plegamiento de las proteínas en la célula ocurre principalmente en el citosol y en el retículo endoplásmico (RE), proceso que es más complejo en este último orgánulo ya que en él las proteínas son modificadas tras la traducción, que es lo que ocurre en la PrP<sup>C</sup>, mediante la adición de N-glicanos o la formación de puentes disulfuro (Schroder and Kaufman, 2005).

Entre los varios mecanismos neuronales propuestos como factores críticos determinantes destacarían el posible papel que desempeñaría el estrés del retículo

endoplásmico (RE) y la posible inhibición de la degradación proteica mediada por el sistema ubiquitin-proteasómico (UPS).

En el retículo endoplásmico existen tres grupos de proteínas encargadas del plegamiento proteico: las lectinas, las foldasas y las chaperonas moleculares. Las lectinas colaboran en el control de la calidad y la degradación de glicoproteínas y las foldasas catalizan ciertos procesos básicos de plegamiento, destacando entre ellas las peptidil-prolil cis-trans isomerasas (PPIs) y las proteína disulfuro-isomerasas (PDIs).

En las enfermedades priónicas se ha demostrado que las proteínas de la familia PDI se sobreexpresan en el encéfalo de pacientes afectados por vCJD y sCJD (Torres *et al.*, 2015) y en roedores infectados con distintas cepas priónicas, hecho que comienza en estadios iniciales de la enfermedad y se incrementa de forma continuada hasta el estadio terminal, lo que indicaría, conociendo las funciones de estas proteínas, que sería un intento de corregir el plegamiento anómalo de la PrP<sup>Sc</sup> e incrementar su eliminación. Por lo que se piensa que esas proteínas desempeñan un papel importante, comportándose como un factor protector en estadios iniciales, eliminando las proteínas malplegadas, mientras que en estadios terminales induce la apoptosis celular (Wang *et al.*, 2012).

Las chaperonas moleculares son un conjunto de proteínas cuyas principales funciones son favorecer el plegamiento de las proteínas recién formadas, favorecer su tránsito entre compartimentos celulares y ayudar a su correcto plegamiento si éstas sufren un proceso de desnaturalización (Koga *et al.*, 2011). Se ha sugerido que la chaperona molecular BiP (proteína de unión a inmunoglobulina), desempeña un papel clave en el plegamiento y maduración de la PrP<sup>C</sup>, colaborando en la degradación de las formas anormales de la PrP, eliminándolas si su reparación no es posible (Wong and Cuervo, 2010). Las dos principales vías de eliminación de proteínas y orgánulos en las células eucariotas son el sistema ubiquitin-proteasómico y la degradación lisosómica través de la autofagia (Gomes *et al.*, 2006).

Aunque no se conoce con total seguridad, se ha sugerido que en las enfermedades priónicas, la perturbación en la homeostasis del retículo endoplásmico inducida por la acumulación de PrP<sup>Sc</sup> puede conducir a la neurodegeneración y a la muerte neuronal. Cuando la homeostasis de este orgánulo se altera por la acumulación continuada de proteínas mal plegadas en su interior, produciéndose el llamado "estrés del retículo endoplásmico", se inicia una respuesta denominada respuesta a proteínas mal plegadas (*unfolding protein response*), en la cual se produce una sobreexpresión de chaperonas moleculares y foldasas, como la BiP y la PDI, para tratar de recuperar el equilibrio (Haefliger *et al.*, 2011).

La respuesta a proteínas mal plegadas tiene como finalidad mejorar el plegamiento de proteínas en el retículo endoplásmico, disminuir la tasa de producción de proteínas y su translocación en el interior de este orgánulo y aumentar la eliminación de proteínas mal plegadas a través de la vía de degradación asociada al retículo endoplásmico. Esta vía de degradación marca estas proteínas dañadas para ser eliminadas mediante el sistema ubiquitin-proteasómico, que es el responsable clave de la eliminación de proteínas anómalas (Zheng *et al.*, 2009).

El sistema ubiquitin-proteasómico está formado por el proteasoma, una compleja red de enzimas y ubiquitina, una pequeña proteína de 8.5 kDa. El proteasoma es un complejo proteico que se encuentra en el núcleo y el citoplasma de las células eucariotas. Las enzimas marcan con ubiquitina las proteínas que requieren ser destruidas, que son posteriormente reconocidas y degradadas por el proteasoma. Si este sistema no logra el objetivo de recuperar la homeostasis celular, existe otra vía alternativa para la eliminación de proteínas que es la autofagia a través de los lisosomas (Zheng *et al.*, 2009). Sin embargo, si el estrés del retículo endoplásmico persiste debido a la acumulación de proteínas y los sistemas de degradación citados no consiguen recuperar el equilibrio, la célula entra en fase de apoptosis, mediada a través de las caspasas. En la figura 8, se representan gráficamente estos mecanismos,

Un variado grupo de enfermedades neurodegenerativas se caracterizan por la presencia de depósitos intracelulares de proteínas mal conformadas. Se cree que las

alteraciones en el funcionamiento del sistema ubiquitin-proteasómico pueden contribuir a la aparición de estos procesos, ya que los agregados de proteínas parecen resistir la degradación proteasómica. Así, el deterioro de la función del referido sistema se ha asociado con la posible causa de la enfermedad de Alzheimer, de Párkinson, de la esclerosis lateral amiotrófica y de la enfermedad de Huntington (Mays and Soto, 2016).

En las enfermedades priónicas se ha demostrado el estrés del retículo endoplásmico que da lugar a la sobreexpresión de foldasas y chaperonas. Esto se ha observado en pacientes humanos, (Torres *et al.*, 2015) en casos de encefalopatía espongiiforme bovina (Tang *et al.*, 2010) y en modelos experimentales inoculados (Hetz *et al.*, 2005; Wang *et al.*, 2012).

Se ha demostrado en cultivos celulares que la proteína PrP<sup>Sc</sup> es capaz de inhibir las subunidades proteolíticas  $\beta$  del proteasoma, que son los sitios activos de las proteasas (Kristiansen *et al.*, 2007). El papel del sistema ubiquitin-proteasómico en la patogenia de las EETs también ha sido estudiado *in vivo* y se ha demostrado que parece existir una alteración del citado sistema en las áreas encefálicas con mayor acumulación de PrP<sup>Sc</sup> en el estadio terminal de la enfermedad (Otero *et al.*, 2021).

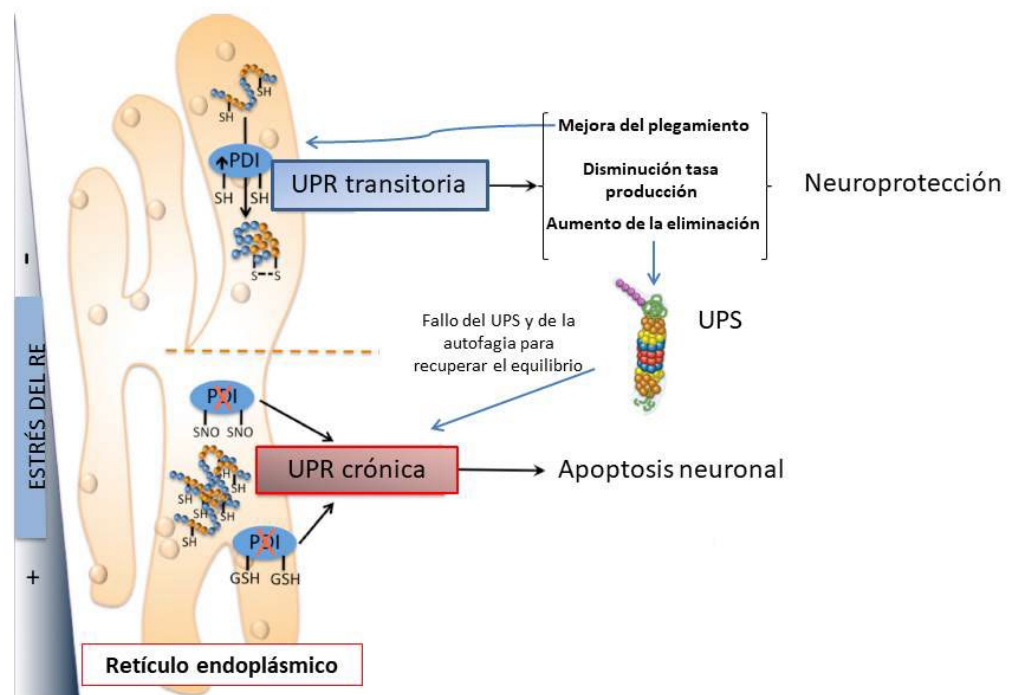


Figura 8: Representación esquemática de los mecanismos activados por el estrés del retículo endoplásmico (RE). Cuando se produce una acumulación de proteínas mal plegadas en el lumen del RE se produce una activación transitoria de la respuesta a proteínas mal plegadas (UPR), que conduce a una mejora del plegamiento proteico mediante la sobreexpresión de ciertas proteínas, entre ellas la PDI. También se reduce temporalmente la producción de proteínas en el RE y aumenta la tasa de eliminación proteica, lo cual se realiza a través del sistema ubiquitin-proteasómico (UPS), el mecanismo de eliminación de la vía de degradación asociada al RE. Cuando la acumulación de proteínas mal plegadas y, por tanto, el estrés del RE persiste, se produce una S-nitrosilación de la PDI, haciendo que pierda su función. Esto, junto con el fracaso del UPS y de la autofagia para recuperar la proteostasis, conduce a una UPR crónica, lo cual finalmente lleva a la activación de las caspasas y a la muerte celular. Modificación de Grek and Townsend, 2014 y Ben-Nissan and Sharon, 2014.

## V. LA BARRERA DE TRANSMISIÓN

La transmisión de la proteína prion patológica entre miembros de la misma especie suele ser eficiente, provocando en los individuos afectados síntomas clínicos, características neuropatológicas y periodos de incubación muy similares a los del individuo que ha realizado la transmisión. No obstante, la transmisión entre especies de la PrP<sup>Sc</sup> está condicionada por lo que se denomina "barrera de transmisión" o "barrera de especie" que se traduce en una resistencia a la transmisión de priones de una especie a otra en un primer pase y que fue descrita por vez primera en el scrapie (Pattison, 1965). Esta barrera se caracteriza por inducir en la especie a la que se ha transmitido una cepa priónica periodos de incubación muy prolongados en el primer pase que pueden incluso sobrepasar la esperanza de vida del nuevo huésped.

Sin embargo, cuando el agente es transmitido mediante varios pases en la nueva especie, puede el agente causal puede adaptación a ella, reduciéndose los periodos de incubación cuando la cepa alcanza la estabilidad en el nuevo huésped (Priola, 1999).

Se asumió inicialmente que los condicionantes más relevantes de la barrera interespecie eran las diferencias entre las estructuras primarias de la PrP<sup>Sc</sup> de la especie donante y la PrP<sup>C</sup> de la especie hospedadora (Prusiner *et al.*, 1990; Bartz *et al.*, 1994). Pero también otro determinante destacado es la cepa priónica transmitida por lo que se planteó que, la barrera dependía en buena parte de la conformación específica de cepa de la PrP<sup>Sc</sup> (Baskakov, 2014) incluso para cepas procedentes de la misma especie. Por ello, comenzó a utilizarse el término genérico de "barrera de transmisión" para hacer referencia al conjunto formado por la barrera de especie y la barrera de cepa (Supattapone *et al.*, 1999; Hill *et al.*, 2000). De hecho, algunos investigadores han llegado a plantear que la barrera de transmisión está condicionada principalmente por las características de la cepa transmitida, en lugar de por las diferencias aminoacídicas entre las secuencias de la PrP del individuo huésped y el que hace de transmisor (Scott *et al.*, 2005; Torres *et al.*, 2014).

Las nuevas técnicas utilizadas para valorar la capacidad de propagación de la PrP<sup>Sc</sup> permiten asumir que incluso las especies más resistentes no lo son totalmente, sugiriendo que la barrera de transmisión frente a los priones no es absoluta. Algunas

cepas priónicas, como la cepa clásica de la encefalopatía espongiforme bovina, mantienen sus propiedades bioquímicas y neuropatológicas al transmitirse a una nueva especie, incluso tras varios países (Torres *et al.*, 2014) lo que es particularmente llamativo en la variante de la enfermedad de Creutzfeldt Jakob que, a pesar de ser una enfermedad priónica humana, tiene propiedades biológicas y bioquímicas y patológicas idénticas a las de la enfermedad bovina de la que procede (Will *et al.*, 1996; Bruce *et al.*, 1997).

Por último, la transmisión de las cepas priónicas entre especies distintas puede dar lugar a la generación de nuevas cepas. Un ejemplo conocido son las cepas *hyper* y *drowsy*, que en el hámster causan dos síndromes completamente diferentes en cuanto al periodo de incubación, signos clínicos y perfil lesional. (Bessen and Marsh, 1992).

## **Factores determinantes de la barrera de transmisión**

### **Genotipo del gen PRNP**

Como se ha mencionado, inicialmente se consideró que la barrera de transmisión estaba determinada únicamente por el grado de similitud entre las secuencias de la PrP de la especie donante y la receptora. Se ha comprobado que cambios mínimos en la secuencia de la PrP<sup>C</sup> de una especie pueden tener un gran impacto en la barrera de transmisión frente a una cepa específica.

Se han descrito numerosos polimorfismos del gen *PRNP* en las distintas especies. Los polimorfismos pueden clasificarse en mutaciones puntuales, inserciones y deleciones. Las mutaciones puntuales producen un cambio de un nucleótido en un codón y, por lo tanto, dan lugar a un cambio aminoacídico en la proteína que generalmente se genera, en la zona estructurada de esta, en la región C-terminal. Las inserciones y deleciones de nucleótidos, por otro lado, tienen lugar en la región de octapéptidos, produciendo un cambio en la región no estructurada de la PrP<sup>C</sup>, en el extremo N-terminal (Goldmann, 2008).

Los polimorfismos del gen *PRNP* ocurren de forma natural en numerosas especies y su influencia, en la transmisión de los priones en la misma especie como entre especies diferentes, ha sido muy estudiada. Las distintas razas ovinas presentan distintas



susceptibilidades a la enfermedad de scrapie, desempeñando un papel muy relevante los polimorfismos de los codones 136, 154 y 171 del gen *PRNP* ovino. El codón 136 puede codificar los aminoácidos valina (V), alanina (A) o treonina ii; el codón 154 codifica arginina (R), histidina (H) o leucina (L) y el 171 puede codificar arginina, histidina, glutamina (Q) o lisina (K). Las ovejas que expresan los alelos VRQ o ARQ presentan una gran vulnerabilidad al scrapie clásico, mientras que la expresión del alelo ARR otorga resistencia. Además, el haplotipo ARR posee un efecto dominante, y tanto los animales homocigotos como heterocigotos presentan un menor riesgo a padecer esta enfermedad priónica (Acin *et al.*, 2021).

También se han reconocido numerosos polimorfismos en los cérvidos en relación con la susceptibilidad o resistencia a la enfermedad crónica caquetizante. Así, un polimorfismo en el codón 132 del gen *PRNP* produce un cambio de metionina (M) a leucina, cambio que es conocido como protector frente a la referida enfermedad en el alce de las Montañas Rocosas (*Cervus elaphus nelsoni*) (O'Rourke *et al.*, 1999). En el ciervo de cola blanca (*Odocoileus virginianus*) los dos polimorfismos más relacionados con la resistencia a la enfermedad es el cambio de glutamina por histidina y de glicina (G) por serina (S) en los codones 95 y 96 del gen *PRNP*. La incidencia de la enfermedad es mucho menor en los ciervos que expresan al menos una copia de estos alelos (Johnson *et al.*, 2006). En el ciervo mula (*Odocoileus hemionus*) el cambio de serina (S) por fenilalanina (F) también ha sido asociado con la resistencia a esta enfermedad (Jewell *et al.*, 2005; Wolfe *et al.*, 2014).

También tiene un efecto similar sobre la susceptibilidad a las enfermedades priónicas el polimorfismo en el residuo 129 (M o V) de la PrP humana. Se ha demostrado que la homocigosis del codón 129 es un factor predisponente para el desarrollo de las formas esporádicas y adquiridas de la enfermedad de Creutzfeldt- Jakob, así como también lo era para el kuru, siendo la incidencia de estas enfermedades mucho menor en los heterocigotos (Brandel *et al.*, 2003).. El efecto de este polimorfismo parece ser aún mayor en la variante de la enfermedad de Creutzfeldt-Jakob, ya que todos los casos confirmados de esta enfermedad, eran individuos homocigotos para metionina en el codón 129 (Will *et al.*, 2000), con la excepción en un caso subclínico observado en un heterocigoto (Bishop *et al.*, 2013). Este hecho se correlaciona con los resultados

obtenidos en transmisiones experimentales de encefalopatía espongiforme bovina a ratones transgénicos en el que la expresión de valina en el codón 129 actúa como una barrera de transmisión para la enfermedad bovina (Fernandez-Borges *et al.*, 2017). Por último, el polimorfismo humano G127V es una variante observada en los individuos que no se infectaron durante la epidemia de kuru, considerando que se trataba de un factor genético de resistencia (Mead *et al.*, 2009). Este polimorfismo proporciona una gran resistencia frente a las enfermedades priónicas humanas (Asante *et al.*, 2015).

### **La cepa priónica**

La barrera de transmisión también está muy influenciada por la cepa priónica transmitida. Un ejemplo claro es la capacidad del agente de la encefalopatía espongiforme bovina para transmitirse fácilmente a un gran número de especies sin sufrir grandes alteraciones en sus propiedades bioquímicas o neuropatológicas (Collinge *et al.*, 1996; Torres *et al.*, 2014). Por el contrario, se observó que existía una fuerte barrera de transmisión frente a otras cepas priónicas no relacionadas con la EEB que presentaban una secuencia aminoacídica idéntica a ésta (Torres *et al.*, 2014). Por tanto, está demostrado que las diferencias entre las secuencias de aminoácidos de la PrP<sup>Sc</sup> del inóculo y la PrP<sup>C</sup> del huésped son insuficientes para explicar el fenómeno de la barrera de transmisión. Asimismo, algunas cepas de scrapie se transmiten eficientemente a ratones transgénicos que expresan la PrP<sup>C</sup> bovina, sin que los periodos de supervivencia se reduzcan significativamente en pases subsiguientes (Scott *et al.*, 2005).

De este modo, actualmente se considera que tanto la cepa priónica como la secuencia de la PrP<sup>C</sup> del hospedador son los dos principales determinantes de la barrera de transmisión (Collinge, 2001).

### **La ruta de infección**

La vía por la que los priones entran al organismo del hospedador es un factor que puede afectar a la magnitud de la barrera de transmisión. Las infecciones naturales generalmente se producen por vía oral, si bien la vía más eficiente de transmisión es la inoculación intracerebral (Kimberlin and Walker, 1988). Asimismo, tras una inoculación intracerebral el título infeccioso que se alcanza en el encéfalo es mucho más alto que el alcanzado tras una inoculación parenteral (Kimberlin and Walker, 1978).

No obstante, González y colaboradores observaron que las ovejas inoculadas con scrapie por distintas vías presentan un perfil de depósito de PrP<sup>Sc</sup> idéntico, tanto en el encéfalo como en otros tejidos, por lo que se ha concluido que la ruta de entrada del prion no influye en la patogenia de la enfermedad cuando animales del mismo genotipo son inoculados con la misma cepa priónica (Gonzalez *et al.*, 2014).

Otros estudios señalan que el efecto de la ruta de infección se da en la duración del periodo de replicación del prion en el encéfalo. Tras la inoculación de hámsteres por distintas vías con un inóculo de scrapie se observó que el periodo de replicación de la PrP<sup>Sc</sup> más corto se observaba en los animales inoculados por vía intraperitoneal, seguido de los animales inoculados por vía intracerebral y, finalmente, los inoculados por vía intraocular. Este efecto se atribuyó a las diferentes eficiencias con las que una cepa priónica determinada alcanza las áreas del encéfalo por las que tiene mayor tropismo. Esta eficiencia puede variar en función de los circuitos neuronales por las que la PrP<sup>Sc</sup> alcanza el encéfalo y, por tanto, puede variar en función de la vía de inoculación (Kimberlin and Walker, 1986).

#### **Otros factores implicados: La glicosilación de la PrP<sup>c</sup>**

La PrP<sup>c</sup> puede estar presente en el organismo bajo tres glicofomas distintas, la diglicosilada, la monoglicosilada y la no glicosilada. La glicosilación de la PrP<sup>c</sup> afecta a los patrones de depósito de la PrP<sup>Sc</sup> por lo que se ha pensado que los niveles de glicosilación de la PrP<sup>c</sup> podrían estar relacionados con su capacidad de conversión en la forma patógena PrP<sup>Sc</sup> (DeArmond *et al.*, 1997; Rudd *et al.*, 1999).

También se observó que cuando la PrP<sup>c</sup> y la PrP<sup>Sc</sup> proceden de especies distintas la glicosilación de la PrP<sup>c</sup> determina la cantidad de PrP<sup>c</sup> que puede unirse a la forma patógena, mientras que el papel de la secuencia aminoacídica estaría relacionado con la cantidad de PrP<sup>Sc</sup> que puede generarse tras la unión de ambas proteínas (Priola and Lawson, 2001).

En un estudio posterior se demostró la importancia de este factor en la barrera de especie. Se observó que al eliminar uno de los sitios de glicosilación de la PrP<sup>c</sup> murina los ratones eran casi completamente resistentes a la inoculación con cepas priónicas humanas. Sin embargo, cuando ambos sitios de glicosilación eran eliminados se

infectaban fácilmente con eECJ. Estos resultados mostraron la gran importancia que puede tener la glicosilación de la proteína prion en la barrera de transmisión (Wiseman *et al.*, 2015).

## **VI. Susceptibilidad y resistencia de las distintas especies a las enfermedades priónicas**

La aparición de la teoría de solo proteína supuso un avance significativo en la investigación de las enfermedades priónicas. Sin embargo, hizo más difícil explicar el concepto de cepas priónicas y la transmisibilidad entre especies. A medida que nuevas EET se iban descubriendo, la lista de especies susceptibles a estas enfermedades fue en aumento. Con el fin de comprender la transmisibilidad de estas enfermedades se realizaron abundantes infecciones experimentales (Chianini *et al.*, 2013). En 1976 se observó que el conejo era resistente a la inoculación con scrapie (Barlow and Rennie, 1976). Gibbs y Gadjusek, por su parte, describieron la distinta susceptibilidad que presentaban diferentes especies a los agentes priónicos (Gibbs and Gajdusek, 1973).

La aparición de la EEB (Wells *et al.*, 1987) fue un hecho clave que contribuyó a descubrir el potencial zoonótico de las EET (Bruce *et al.*, 1997) y a conocer mejor el rango de especies susceptibles. Muchas especies en las que no se habían reportado casos previos de enfermedad priónica se vieron afectadas tras esta epidemia. Por otro lado, se comprobó la resistencia de otras especies a la infección natural. Por ejemplo, si bien se detectó EEB en el ganado caprino (Eloit *et al.*, 2005; Spiropoulos *et al.*, 2011), no se reportaron casos en cerdos, a pesar de que estuvieron igualmente expuestos al agente de la EEB (Chianini *et al.*, 2013).

### **Mamíferos resistentes o poco susceptibles a las enfermedades priónicas**

Entre los mamíferos existen especies que han sido descritas como resistentes o muy poco susceptibles a las enfermedades priónicas. Estas especies incluyen a los lepóridos (Vorberg *et al.*, 2003), los équidos (Khan *et al.*, 2010) y los cánidos (Polymenidou *et al.*, 2008).

La susceptibilidad del conejo a las enfermedades priónicas se ha investigado durante muchos años, siendo, de entre las consideradas especies resistentes, la más estudiada. Numerosos investigadores fracasaron al intentar transmitir una EET a esta especie (Gibbs and Gajdusek, 1973; Barlow and Rennie, 1976). Por ello, los lepóridos fueron considerados especies resistentes a las enfermedades priónicas durante décadas (Fernandez-Funez *et al.*, 2011; Zhang, 2011). Tras el desarrollo de técnicas como la PMCA se demostró que los conejos no son completamente resistentes a la infección por priones, ya que pueden infectarse al ser inoculados con PrP<sup>Sc</sup> de conejo generada por PMCA (Chianini *et al.*, 2012). No obstante, son pobremente susceptibles.

Asimismo, también se ha conseguido reproducir una EET en ratones transgénicos que expresan la PrP<sup>C</sup> del caballo (TgEq) inoculados con scrapie. Sin embargo, la inoculación de esta PrP<sup>Sc</sup> equina no consiguió transmitir la enfermedad a otros ratones TgEq, pero se transmitió eficientemente a ratones que expresaban la PrP<sup>C</sup> ovina. Por ello, se considera que los équidos son muy resistentes a las EET y que presentan una susceptibilidad muy particular (Bian *et al.*, 2017).

Por último, se encuentran los cánidos, los cuales se consideran el grupo de mamíferos más resistente a las EET. Numerosos estudios, en los que se ha evaluado la barrera de especie canina a los priones tanto *in vitro* como *in vivo*, han demostrado la enorme dificultad que supone malplegar la PrP<sup>C</sup> del perro (Vidal *et al.*, 2013; Otero *et al.*, 2017; Otero *et al.*, 2019) .

### **Otras especies resistentes a las enfermedades priónica: las aves**

Las aves también estuvieron expuestas a los priones durante la epidemia de EEB, pues consumieron piensos que contenían harinas de carne de rumiantes contaminadas. Sin embargo, nunca se han detectado casos de enfermedad priónica aviar, con la excepción de unos casos sospechosos en avestruces de dos zoos de Alemania que presentaban sintomatología nerviosa. La causa de neurodegeneración en estos animales nunca pudo esclarecerse (Schoon *et al.*, 1991). Un estudio de transmisión de distintas cepas priones a pollos no consiguió reproducir la enfermedad en esta especie (Moore *et al.*, 2011)

## **Mamíferos susceptibles a la transmisión experimental de las enfermedades priónicas:**

### **Modelos experimentales**

En apartados anteriores se han descrito las especies animales que pueden verse infectarse naturalmente por agentes priónicos, las cuales se recogen en la tabla 2. Sin embargo, se ha demostrado la vulnerabilidad a las enfermedades priónicas de muchas otras especies de mamíferos de forma experimental.

Tras la primera transmisión experimental de una enfermedad priónica, realizada en los años 30, (Cuille and Chelle, 1936, 1938b) se realizaron numerosos estudios que demostraron la transmisibilidad de las EET humanas a los primates no humanos (Gajdusek *et al.*, 1966; Gajdusek *et al.*, 1968; Gibbs *et al.*, 1968). El hámster, un animal susceptible a la inoculación experimental de priones, ha sido un modelo experimental muy utilizado y clave para entender la patogenia de las enfermedades priónicas (Jendroska *et al.*, 1991).

No obstante, los ratones transgénicos han sido los modelos de mayor importancia en la investigación de las EET. El mayor avance en este ámbito se consiguió en 1992 con la creación del ratón *knock-out* para el gen *PRNP* (*Prnp<sup>0/0</sup>*) (Bueler *et al.*, 1992). Estos animales fueron la base para la creación de un gran número de líneas de ratones transgénicos (Weissmann and Bueler, 2004; Brandner and Jaunmuktane, 2017). Además, el modelo *Prnp<sup>0/0</sup>* demostró un hecho relevante, que la expresión de la PrP<sup>c</sup> es necesaria para que los priones se transmitan a un individuo (Sailer *et al.*, 1994).

Son muchas las especies en las que se han conseguido reproducir experimentalmente las enfermedades priónicas humanas y animales. Entre ellas figuran los hurones (Bartz *et al.*, 1998), mofetas, mapaches (Eckroade *et al.*, 1973) y cerdos, que son especies en las que el agente causal de la Encefalopatía espongiforme bovina se transmite eficientemente (Hedman *et al.*, 2016). Aunque el cerdo se considera una especie muy resistente a las enfermedades priónicas, ya que sólo desarrolla enfermedad al ser inoculado por el agente de la EEB y exclusivamente si la inoculación se realiza por vía intracerebral, ya que no se ha conseguido transmitir ninguna cepa priónica a esta especie tras la infección oral (Espinosa *et al.*, 2020).

## VII. CONSIDERACIONES FINALES

Para finalizar esta exposición creo que merece la pena hacer un breve balance de lo que han supuesto las enfermedades priónicas, tanto desde el punto de vista científico, como sanitario y social.

Lo primero que hay que resaltar es que no cabe duda que este grupo de enfermedades humanas y animales han supuesto un auténtico cambio de paradigma en lo que se refiere a la consideración del tipo de agentes responsables de enfermedades infecciosas. Antes de la identificación de este nuevo agente causal, no se concebía que una infección pudiera ser provocada por un agente patógeno que no estuviera constituido por ARN o ADN, ya que ello implicaba no poder reproducirse y por lo tanto propagarse, como lo hacen los virus, bacterias, protozoos o parásitos. Y esa verdad incuestionable fue puesta en tela de juicio con la formulación realizada por Stanley Prusiner y sus predecesores de la teoría prion, que establecía que el agente causal de ese amplio grupo de enfermedades era una simple proteína propia desprovista de material genético.

Ello creo que debe ser un motivo de reflexión a los investigadores que tenemos como objetivo la creación de conocimiento de que la ciencia no puede tener barreras ni fronteras incuestionables y que los científicos, tenemos que analizar la realidad con espíritu crítico y objetivo para, usando el método científico, hacer avanzar el conocimiento.

La segunda constatación del valor que ha supuesto la investigación realizada en el ámbito de las enfermedades priónicas es que, de forma indirecta, se ha logrado hacer avanzar el conocimiento sobre otras enfermedades neurodegenerativas de una enorme importancia sanitaria y social, como son la Enfermedad de Alzheimer, la enfermedad de Parkinson, la esclerosis lateral amiotrófica, la demencia frontotemporal lobar o la enfermedad de Huntington, todas ellas conocidas por ello con la denominación común de “prion-like diseases”. Y en efecto, se ha comprobado que el mecanismo patogénico que tiene lugar en esas enfermedades es similar al de las enfermedades priónicas, es decir el depósito progresivo en el encéfalo de proteínas anómalas, en su mayoría mal plegadas, que acaban deteriorando el mecanismo fisiológico de funcionamiento normal de las neuronas y sus conexiones y finalmente su muerte.

Una tercera consecuencia de las enfermedades priónicas es que una de ellas, la encefalopatía espongiforme bovina, provocó una gran crisis alimentaria en Europa, que tuvo unos efectos devastadores tanto en el ámbito ganadero, con graves pérdidas

económicas, y desde que se demostró que el agente causal de la enfermedad bovina era transmisible a la especie humana, en la que causaba la llamada nueva variante de la Enfermedad de Creutzfeldt-Jakob, con consecuencias fatales para las personas afectadas, sus repercusiones para el consumo, sanitarias, mediáticas y políticas fueron de una enorme magnitud. Tanto fue así que obligó a las autoridades de la Comisión Europea y de los países miembros a realizar una reflexión sobre el estado global de la seguridad de los alimentos fruto de la cual fue la publicación de un documento titulado “Seguridad de los alimentos desde la granja a la mesa” cuya aplicación legislativa, a través del llamado “Paquete de higiene alimentaria” supuso una mejora sustancial de los sistemas de control alimentario europeos y que, en definitiva, ha situado a la Unión Europea como el territorio con el más alto nivel de seguridad alimentaria del mundo.

Por último, considero que las enfermedades priónicas han sido un buen ejemplo de colaboración positiva entre los ámbitos de la medicina humana y veterinaria, y especialmente un estímulo a la actividad científica conjunta con una vocación internacional, de la que las dos profesiones se han beneficiado mutuamente. Podríamos decir que ha sido un buen ejemplo de desarrollo del nuevo concepto que acerca a las dos profesiones conocido como “One world, one health” que traducido a nuestro idioma significa “Un mundo una sola salud”, aproximación sanitaria clave y necesaria para afrontar los nuevos desafíos de salud global.

No obstante, como constatación final se ha de reconocer que a pesar de los grandes esfuerzos investigadores realizados a nivel internacional todavía no se ha alcanzado el objetivo principal que sería lograr una prevención y/o tratamientos eficaces que lograsen prevenir o contener el avance de las enfermedades causadas por priones y evitar la muerte de las personas afectadas.



## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Acin, C., Bolea, R., Monzon, M., Monleon, E., Moreno, B., Filali, H., Marin, B., Sola, D., Betancor, M., Guijarro, I. M., Garcia, M., Vargas, A., and Badiola, J. J. (2021). Classical and atypical scrapie in sheep and goats. Review on the etiology, genetic factors, pathogenesis, diagnosis, and control measures of both diseases. *Animals (Basel)*, *11*(3).
- Aguzzi, A. (2001). Peripheral prion pursuit. *J Clin Invest*, *108*(5), 661-662.
- Aguzzi, A., Baumann, F., and Bremer, J. (2008). The prion's elusive reason for being. *Annu Rev Neurosci*, *31*, 439-477.
- Aguzzi, A., and Heikenwalder, M. (2006). Pathogenesis of prion diseases: Current status and future outlook. *Nat Rev Microbiol*, *4*(10), 765-775.
- Aguzzi, A., and Heppner, F. L. (2000). Pathogenesis of prion diseases: A progress report. *Cell Death Differ*, *7*(10), 889-902.
- Aiken, J. M., Williamson, J. L., and Marsh, R. F. (1989). Evidence of mitochondrial involvement in scrapie infection. *J Virol*, *63*(4), 1686-1694.
- Alper, T., Cramp, W. A., Haig, D. A., and Clarke, M. C. (1967). Does the agent of scrapie replicate without nucleic acid? *Nature*, *214*(5090), 764-766.
- Alverson, J., O'Rourke, K. I., and Baszler, T. V. (2006). Prpsc accumulation in fetal cotyledons of scrapie-resistant lambs is influenced by fetus location in the uterus. *J Gen Virol*, *87*(Pt 4), 1035-1041.
- Andre, R., and Tabrizi, S. J. (2012). Misfolded prp and a novel mechanism of proteasome inhibition. *Prion*, *6*(1), 32-36.
- Andreoletti, O., Berthon, P., Marc, D., Sarradin, P., Grosclaude, J., van Keulen, L., Schelcher, F., Elsen, J. M., and Lantier, F. (2000). Early accumulation of prp(sc) in gut-associated lymphoid and nervous tissues of susceptible sheep from a romanov flock with natural scrapie. *J Gen Virol*, *81*(Pt 12), 3115-3126.
- Andreoletti, O., Orge, L., Benestad, S. L., Beringue, V., Litaise, C., Simon, S., Le Dur, A., Laude, H., Simmons, H., Lugan, S., Corbiere, F., Costes, P., Morel, N., Schelcher, F., and Lacroux, C. (2011). Atypical/nor98 scrapie infectivity in sheep peripheral tissues. *PLoS Pathog*, *7*(2), e1001285.
- Asante, E. A., Smidak, M., Grimshaw, A., Houghton, R., Tomlinson, A., Jeelani, A., Jakubcova, T., Hamdan, S., Richard-Londt, A., Linehan, J. M., Brandner, S., Alpers, M., Whitfield, J., Mead, S., Wadsworth, J. D., and Collinge, J. (2015). A naturally occurring variant of the human prion protein completely prevents prion disease. *Nature*, *522*(7557), 478-481.
- Babelhadj, B., Di Bari, M. A., Pirisinu, L., Chiappini, B., Gaouar, S. B. S., Riccardi, G., Marcon, S., Agrimi, U., Nonno, R., and Vaccari, G. (2018). Prion disease in dromedary camels, algeria. *Emerg Infect Dis*, *24*(6), 1029-1036.
- Barlow, R. M. (1972). Transmissible mink encephalopathy: Pathogenesis and nature of the aetiological agent. *J Clin Pathol Suppl (R Coll Pathol)*, *6*, 102-109.
- Barlow, R. M., and Rennie, J. C. (1976). The fate of me7 scrapie infection in rats, guinea-pigs and rabbits. *Res Vet Sci*, *21*(1), 110-111.
- Bartz, J. C., Bessen, R. A., McKenzie, D., Marsh, R. F., and Aiken, J. M. (2000). Adaptation and selection of prion protein strain conformations following interspecies transmission of transmissible mink encephalopathy. *J Virol*, *74*(12), 5542-5547.
- Bartz, J. C., Dejoia, C., Tucker, T., Kincaid, A. E., and Bessen, R. A. (2005). Extraneural prion neuroinvasion without lymphoreticular system infection. *J Virol*, *79*(18), 11858-11863.
- Bartz, J. C., Marsh, R. F., McKenzie, D. I., and Aiken, J. M. (1998). The host range of chronic wasting disease is altered on passage in ferrets. *Virology*, *251*(2), 297-301.

- Bartz, J. C., McKenzie, D. I., Bessen, R. A., Marsh, R. F., and Aiken, J. M. (1994). Transmissible mink encephalopathy species barrier effect between ferret and mink: Prp gene and protein analysis. *J Gen Virol*, 75 ( Pt 11), 2947-2953.
- Baskakov, I. V. (2014). The many shades of prion strain adaptation. *Prion*, 8(2).
- Beekes, M., and McBride, P. A. (2000). Early accumulation of pathological prp in the enteric nervous system and gut-associated lymphoid tissue of hamsters orally infected with scrapie. *Neurosci Lett*, 278(3), 181-184.
- Bell, J. E., and Ironside, J. W. (1993). Neuropathology of spongiform encephalopathies in humans. *Br Med Bull*, 49(4), 738-777.
- Ben-Nissan, G., and Sharon, M. (2014). Regulating the 20s proteasome ubiquitin-independent degradation pathway. *Biomolecules*, 4(3), 862-884.
- Benestad, S. L., Mitchell, G., Simmons, M., Ytrehus, B., and Vikoren, T. (2016). First case of chronic wasting disease in europe in a norwegian free-ranging reindeer. *Vet Res*, 47(1), 88.
- Benestad, S. L., Sarradin, P., Thu, B., Schonheit, J., Tranulis, M. A., and Bratberg, B. (2003). Cases of scrapie with unusual features in norway and designation of a new type, nor98. *Vet Rec*, 153(7), 202-208.
- Bessen, R. A., and Marsh, R. F. (1992). Identification of two biologically distinct strains of transmissible mink encephalopathy in hamsters. *J Gen Virol*, 73 ( Pt 2), 329-334.
- Biacabe, A. G., Laplanche, J. L., Ryder, S., and Baron, T. (2004). Distinct molecular phenotypes in bovine prion diseases. *EMBO Rep*, 5(1), 110-115.
- Bian, J., Khaychuk, V., Angers, R. C., Fernandez-Borges, N., Vidal, E., Meyerett-Reid, C., Kim, S., Calvi, C. L., Bartz, J. C., Hoover, E. A., Agrimi, U., Richt, J. A., Castilla, J., and Telling, G. C. (2017). Prion replication without host adaptation during interspecies transmissions. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 114(5), 1141-1146.
- Bishop, M. T., Diack, A. B., Ritchie, D. L., Ironside, J. W., Will, R. G., and Manson, J. C. (2013). Prion infectivity in the spleen of a prnp heterozygous individual with subclinical variant creutzfeldt-jakob disease. *Brain*, 136(Pt 4), 1139-1145.
- Block, A. J., and Bartz, J. C. (2022). Prion strains: Shining new light on old concepts. *Cell Tissue Res*.
- Bolton, D. C., McKinley, M. P., and Prusiner, S. B. (1982). Identification of a protein that purifies with the scrapie prion. *Science*, 218(4579), 1309-1311.
- Bougard, D., Belondrade, M., Mayran, C., Bruyere-Ostells, L., Lehmann, S., Fournier-Wirth, C., Knight, R. S., Will, R. G., and Green, A. J. E. (2018). Diagnosis of methionine/valine variant creutzfeldt-jakob disease by protein misfolding cyclic amplification. *Emerg Infect Dis*, 24(7), 1364-1366.
- Brandel, J. P., Preece, M., Brown, P., Croes, E., Laplanche, J. L., Agid, Y., Will, R., and Alperovitch, A. (2003). Distribution of codon 129 genotype in human growth hormone-treated cjd patients in france and the uk. *Lancet*, 362(9378), 128-130.
- Brandner, S., and Jaunmuktane, Z. (2017). Prion disease: Experimental models and reality. *Acta Neuropathol*, 133(2), 197-222.
- Brandner, S., Raeber, A., Sailer, A., Blattler, T., Fischer, M., Weissmann, C., and Aguzzi, A. (1996). Normal host prion protein (prpc) is required for scrapie spread within the central nervous system. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 93(23), 13148-13151.
- Brown, P., Brandel, J. P., Preece, M., and Sato, T. (2006). Iatrogenic creutzfeldt-jakob disease: The waning of an era. *Neurology*, 67(3), 389-393.
- Brown, P., Preece, M., Brandel, J. P., Sato, T., McShane, L., Zerr, I., Fletcher, A., Will, R. G., Pocchiarri, M., Cashman, N. R., d'Aignaux, J. H., Cervenakova, L., Fradkin, J., Schonberger, L. B., and Collins, S. J. (2000). Iatrogenic creutzfeldt-jakob disease at the millennium. *Neurology*, 55(8), 1075-1081.

- Brown, P., Will, R. G., Bradley, R., Asher, D. M., and Detwiler, L. (2001). Bovine spongiform encephalopathy and variant creutzfeldt-jakob disease: Background, evolution, and current concerns. *Emerg Infect Dis*, 7(1), 6-16.
- Brownell, B., and Oppenheimer, D. R. (1965). An ataxic form of subacute presenile polioencephalopathy (creutzfeldt-jakob disease). *J Neurol Neurosurg Psychiatry*, 28, 350-361.
- Bruce, M. E., Nonno, R., Foster, J., Goldmann, W., Di Bari, M., Esposito, E., Benestad, S. L., Hunter, N., and Agrimi, U. (2007). Nor98-like sheep scrapie in the united kingdom in 1989. *Vet Rec*, 160(19), 665-666.
- Bruce, M. E., Will, R. G., Ironside, J. W., McConnell, I., Drummond, D., Suttie, A., McCardle, L., Chree, A., Hope, J., Birkett, C., Cousens, S., Fraser, H., and Bostock, C. J. (1997). Transmissions to mice indicate that 'new variant' cjd is caused by the bse agent. *Nature*, 389(6650), 498-501.
- Bueler, H., Fischer, M., Lang, Y., Bluethmann, H., Lipp, H. P., DeArmond, S. J., Prusiner, S. B., Aguet, M., and Weissmann, C. (1992). Normal development and behaviour of mice lacking the neuronal cell-surface prp protein. *Nature*, 356(6370), 577-582.
- Buschmann, A., and Groschup, M. H. (2005). Highly bovine spongiform encephalopathy-sensitive transgenic mice confirm the essential restriction of infectivity to the nervous system in clinically diseased cattle. *J Infect Dis*, 192(5), 934-942.
- Casalone, C., Zanusso, G., Acutis, P., Ferrari, S., Capucci, L., Tagliavini, F., Monaco, S., and Caramelli, M. (2004). Identification of a second bovine amyloidotic spongiform encephalopathy: Molecular similarities with sporadic creutzfeldt-jakob disease. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 101(9), 3065-3070.
- Castellani, R. J., Colucci, M., Xie, Z., Zou, W., Li, C., Parchi, P., Capellari, S., Pastore, M., Rahbar, M. H., Chen, S. G., and Gambetti, P. (2004). Sensitivity of 14-3-3 protein test varies in subtypes of sporadic creutzfeldt-jakob disease. *Neurology*, 63(3), 436-442.
- Castilla, J., Saa, P., Hetz, C., and Soto, C. (2005). In vitro generation of infectious scrapie prions. *Cell*, 121(2), 195-206.
- Castle, A. R., and Gill, A. C. (2017). Physiological functions of the cellular prion protein. *Front Mol Biosci*, 4, 19.
- Caughey, B. (2001). Interactions between prion protein isoforms: The kiss of death? *Trends Biochem Sci*, 26(4), 235-242.
- Collinge, J. (2001). Prion diseases of humans and animals: Their causes and molecular basis. *Annu Rev Neurosci*, 24, 519-550.
- Collinge, J., Sidle, K. C., Meads, J., Ironside, J., and Hill, A. F. (1996). Molecular analysis of prion strain variation and the aetiology of 'new variant' cjd. *Nature*, 383(6602), 685-690.
- Cooper, S. A., Murray, K. L., Heath, C. A., Will, R. G., and Knight, R. S. (2005). Isolated visual symptoms at onset in sporadic creutzfeldt-jakob disease: The clinical phenotype of the "heidenhain variant". *Br J Ophthalmol*, 89(10), 1341-1342.
- Creutzfeldt, H. G. (1920). Über eine eigenartige herdförmige erkrankung des zentralnervensystems (vorläufige mitteilung). *Zeitschrift für die gesamte Neurologie und Psychiatrie*, 57(1), 1-18.
- Cuille, J., and Chelle, P. L. (1936). Pathologie animale – la maladie dite tremblante du mouton est-elle inoculable ? *Comptes rendus hebdomadaires des seances de l'Academie des Sciences*(203), 1552-1554.
- Cuille, J., and Chelle, P. L. (1938a). La tremblante du mouton est-elle determinee par un virus filtrable? *Comptes rendus hebdomadaires des sciences de l'Academie des Sciences*(206), 1687-1688.
- Cuille, J., and Chelle, P. L. (1938b). Le tremblante du mouton est bien inoculable. *Comptes rendus hebdomadaires des sciences de l'Academie des Sciences*(206), 78-79.
- Chesebro, B. (1998). Bse and prions: Uncertainties about the agent. *Science*, 279(5347), 42-43.

- Chianini, F., Fernandez-Borges, N., Erana, H., Pang, Y., Vidal, E., Eaton, S. L., Finlayson, J., Dagleish, M. P., and Castilla, J. (2013). Prion-resistant or prion-susceptible species, this is the question. *Virulence*, 4(4), 333-334.
- Chianini, F., Fernandez-Borges, N., Vidal, E., Gibbard, L., Pintado, B., de Castro, J., Priola, S. A., Hamilton, S., Eaton, S. L., Finlayson, J., Pang, Y., Steele, P., Reid, H. W., Dagleish, M. P., and Castilla, J. (2012). Rabbits are not resistant to prion infection. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 109(13), 5080-5085.
- DeArmond, S. J., and Prusiner, S. B. (1993). The neurochemistry of prion diseases. *J Neurochem*, 61(5), 1589-1601.
- DeArmond, S. J., Sanchez, H., Yehiely, F., Qiu, Y., Ninchak-Casey, A., Daggett, V., Camerino, A. P., Cayetano, J., Rogers, M., Groth, D., Torchia, M., Tremblay, P., Scott, M. R., Cohen, F. E., and Prusiner, S. B. (1997). Selective neuronal targeting in prion disease. *Neuron*, 19(6), 1337-1348.
- Dickinson, A. G., and Outram, G. (1979). The scrapie replication-site hypothesis and its implications for pathogenesis. In S. B. Prusiner & W. J. Hadlow (Eds.), *Slow transmissible diseases of the nervous system* (Vol. 2, pp. 13-31): Academic Press.
- Ducrot, C., Arnold, M., de Koeijer, A., Heim, D., and Calavas, D. (2008). Review on the epidemiology and dynamics of bse epidemics. *Vet Res*, 39(4), 15.
- Duque Velasquez, C., Kim, C., Herbst, A., Daude, N., Garza, M. C., Wille, H., Aiken, J., and McKenzie, D. (2015). Deer prion proteins modulate the emergence and adaptation of chronic wasting disease strains. *J Virol*, 89(24), 12362-12373.
- Eckroade, R. J., Zurhein, G. M., and Hanson, R. P. (1973). Transmissible mink encephalopathy in carnivores: Clinical, light and electron microscopic studies in raccons, skunks and ferrets. *J Wildl Dis*, 9(3), 229-240.
- Eloit, M., Adjou, K., Couplier, M., Fontaine, J. J., Hamel, R., Lilin, T., Messiaen, S., Andreoletti, O., Baron, T., Bencsik, A., Biacabe, A. G., Beringue, V., Laude, H., Le Dur, A., Vilotte, J. L., Comoy, E., Deslys, J. P., Grassi, J., Simon, S., Lantier, F., and Sarradin, P. (2005). Bse agent signatures in a goat. *Vet Rec*, 156(16), 523-524.
- Ersdal, C., Ulvund, M. J., Benestad, S. L., and Tranulis, M. A. (2003). Accumulation of pathogenic prion protein (prpsc) in nervous and lymphoid tissues of sheep with subclinical scrapie. *Vet Pathol*, 40(2), 164-174.
- Espinosa, J. C., Marin-Moreno, A., Aguilar-Calvo, P., Benestad, S. L., Andreoletti, O., and Torres, J. M. (2020). Porcine prion protein as a paradigm of limited susceptibility to prion strain propagation. *J Infect Dis*.
- Farquhar, J., and Gajdusek, D. (1981). Kuru: Early letters and field notes in the collection of d. Carleton gajdusek (Vol. 155). New York: Raven Press.
- Fast, C., and Groschup, M. H. (2013). Classical and atypical scrapie in sheep and goats *Prions and diseases* (pp. 15-44): Springer.
- Fehlinger, A., Wolf, H., Hossinger, A., Duernberger, Y., Pleschka, C., Riemschoss, K., Liu, S., Bester, R., Paulsen, L., Priola, S. A., Groschup, M. H., Schatzl, H. M., and Vorberg, I. M. (2017). Prion strains depend on different endocytic routes for productive infection. *Sci Rep*, 7(1), 6923.
- Fernandez-Borges, N., Espinosa, J. C., Marin-Moreno, A., Aguilar-Calvo, P., Asante, E. A., Kitamoto, T., Mohri, S., Andreoletti, O., and Torres, J. M. (2017). Protective effect of val129-prp against bovine spongiform encephalopathy but not variant creutzfeldt-jakob disease. *Emerg Infect Dis*, 23(9), 1522-1530.
- Fernandez-Funez, P., Zhang, Y., Sanchez-Garcia, J., Jensen, K., Zou, W. Q., and Rincon-Limas, D. E. (2011). Pulling rabbits to reveal the secrets of the prion protein. *Commun Integr Biol*, 4(3), 262-266.
- Fraser, H. (1993). Diversity in the neuropathology of scrapie-like diseases in animals. *Br Med Bull*, 49(4), 792-809.

- Fraser, H., and Dickinson, A. G. (1968). The sequential development of the brain lesion of scrapie in three strains of mice. *J Comp Pathol*, 78(3), 301-311.
- Gajdusek, D. C., and Gibbs, C. J. (1964). Attempts to demonstrate a transmissible agent in kuru, amyotrophic lateral sclerosis, and other sub-acute and chronic nervous system degenerations of man. *Nature*, 204, 257-259.
- Gajdusek, D. C., Gibbs, C. J., and Alpers, M. (1966). Experimental transmission of a kuru-like syndrome to chimpanzees. *Nature*, 209(5025), 794-796.
- Gajdusek, D. C., Gibbs, C. J., Jr., Asher, D. M., and David, E. (1968). Transmission of experimental kuru to the spider monkey (*ateles geoffreyi*). *Science*, 162(3854), 693-694.
- Gajdusek, D. C., and Zigas, V. (1957). Degenerative disease of the central nervous system in new guinea; the endemic occurrence of kuru in the native population. *N Engl J Med*, 257(20), 974-978.
- Garces, M., Guijarro, M. I., Vargas, A., Badiola, J. J., and Monzon, M. (2019). Neuroglial patterns are shared by cerebella from prion and prion-like disorder affected patients. *Mech Ageing Dev*, 184, 111176.
- Gavier-Widen, D., Wells, G. A., Simmons, M. M., Wilesmith, J. W., and Ryan, J. (2001). Histological observations on the brains of symptomless 7-year-old cattle. *J Comp Pathol*, 124(1), 52-59.
- Gibbs, C. J., Jr., and Gajdusek, D. C. (1973). Experimental subacute spongiform virus encephalopathies in primates and other laboratory animals. *Science*, 182(4107), 67-68.
- Gibbs, C. J., Jr., Gajdusek, D. C., Asher, D. M., Alpers, M. P., Beck, E., Daniel, P. M., and Matthews, W. B. (1968). Creutzfeldt-jakob disease (spongiform encephalopathy): Transmission to the chimpanzee. *Science*, 161(3839), 388-389.
- Glatzel, M., and Aguzzi, A. (2001). The shifting biology of prions. *Brain Res Brain Res Rev*, 36(2-3), 241-248.
- Goldmann, W. (2008). Prp genetics in ruminant transmissible spongiform encephalopathies. *Vet Res*, 39(4), 30.
- Gomes, A. V., Zong, C., and Ping, P. (2006). Protein degradation by the 26s proteasome system in the normal and stressed myocardium. *Antioxid Redox Signal*, 8(9-10), 1677-1691.
- Gonzalez, L., Jeffrey, M., Dagleish, M. P., Goldmann, W., Siso, S., Eaton, S. L., Martin, S., Finlayson, J., Stewart, P., Steele, P., Pang, Y., Hamilton, S., Reid, H. W., and Chianini, F. (2012). Susceptibility to scrapie and disease phenotype in sheep: Cross-prnp genotype experimental transmissions with natural sources. *Vet Res*, 43, 55.
- Gonzalez, L., Pitarch, J. L., Martin, S., Thurston, L., Moore, J., Acin, C., and Jeffrey, M. (2014). Identical pathogenesis and neuropathological phenotype of scrapie in valine, arginine, glutamine/valine, arginine, glutamine sheep infected experimentally by the oral and conjunctival routes. *J Comp Pathol*, 150(1), 47-56.
- Grek, C., and Townsend, D. M. (2014). Protein disulfide isomerase superfamily in disease and the regulation of apoptosis. *Endoplasmic Reticulum Stress Dis*, 1(1), 4-17.
- Griffith, J. S. (1967). Self-replication and scrapie. *Nature*, 215(5105), 1043-1044.
- Hadlow, W. (1993). Prion diseases of humans and animals.
- Haefliger, S., Klebig, C., Schaubitzer, K., Schardt, J., Timchenko, N., Mueller, B. U., and Pabst, T. (2011). Protein disulfide isomerase blocks cebpa translation and is up-regulated during the unfolded protein response in aml. *Blood*, 117(22), 5931-5940.
- Hedman, C., Bolea, R., Marin, B., Cobriere, F., Filali, H., Vazquez, F., Pitarch, J. L., Vargas, A., Acin, C., Moreno, B., Pumarola, M., Androletti, O., and Badiola, J. J. (2016). Transmission of sheep-bovine spongiform encephalopathy to pigs. *Vet Res*, 47, 14.
- Heggebo, R., Gonzalez, L., Press, C. M., Gunnes, G., Espenes, A., and Jeffrey, M. (2003). Disease-associated prp in the enteric nervous system of scrapie-affected suffolk sheep. *J Gen Virol*, 84(Pt 5), 1327-1338.

- Hetz, C., Russelakis-Carneiro, M., Walchli, S., Carboni, S., Vial-Knecht, E., Maundrell, K., Castilla, J., and Soto, C. (2005). The disulfide isomerase grp58 is a protective factor against prion neurotoxicity. *J Neurosci*, 25(11), 2793-2802.
- Hill, A. F., and Collinge, J. (2003). Subclinical prion infection. *Trends Microbiol*, 11(12), 578-584.
- Hill, A. F., Joiner, S., Linehan, J., Desbruslais, M., Lantos, P. L., and Collinge, J. (2000). Species-barrier-independent prion replication in apparently resistant species. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 97(18), 10248-10253.
- Hill, A. F., Zeidler, M., Ironside, J., and Collinge, J. (1997). Diagnosis of new variant creutzfeldt-jakob disease by tonsil biopsy. *Lancet*, 349(9045), 99-100.
- Hoinville, L. J. (1996). A review of the epidemiology of scrapie in sheep. *Rev Sci Tech*, 15(3), 827-852.
- Hunter, N., Foster, J., Chong, A., McCutcheon, S., Parnham, D., Eaton, S., MacKenzie, C., and Houston, F. (2002). Transmission of prion diseases by blood transfusion. *J Gen Virol*, 83(Pt 11), 2897-2905.
- Imran, M., and Mahmood, S. (2011a). An overview of animal prion diseases. *Virol J*, 8, 493.
- Imran, M., and Mahmood, S. (2011b). An overview of human prion diseases. *Virol J*, 8, 559.
- Jakob, A. (1921). Über eine der multiplen sklerose klinisch nahestehende erkrankung des zentralnervensystems (spastische pseudosklerose) mit bemerkenswertem anatomischem befunde. Mitteilung eines vierten falles. *Med Klin (Munich)*(17), 372-376.
- Jarrett, J. T., and Lansbury, P. T., Jr. (1993). Seeding "one-dimensional crystallization" of amyloid: A pathogenic mechanism in alzheimer's disease and scrapie? *Cell*, 73(6), 1055-1058.
- Jeffrey, M., Begara-McGorum, I., Clark, S., Martin, S., Clark, J., Chaplin, M., and Gonzalez, L. (2002). Occurrence and distribution of infection-specific prp in tissues of clinical scrapie cases and cull sheep from scrapie-affected farms in shetland. *J Comp Pathol*, 127(4), 264-273.
- Jeffrey, M., Martin, S., Thomson, J. R., Dingwall, W. S., Begara-McGorum, I., and Gonzalez, L. (2001). Onset and distribution of tissue prp accumulation in scrapie-affected suffolk sheep as demonstrated by sequential necropsies and tonsillar biopsies. *J Comp Pathol*, 125(1), 48-57.
- Jendroska, K., Heinzl, F. P., Torchia, M., Stowring, L., Kretzschmar, H. A., Kon, A., Stern, A., Prusiner, S. B., and DeArmond, S. J. (1991). Proteinase-resistant prion protein accumulation in syrian hamster brain correlates with regional pathology and scrapie infectivity. *Neurology*, 41(9), 1482-1490.
- Jewell, J. E., Conner, M. M., Wolfe, L. L., Miller, M. W., and Williams, E. S. (2005). Low frequency of prp genotype 225sf among free-ranging mule deer (*odocoileus hemionus*) with chronic wasting disease. *J Gen Virol*, 86(Pt 8), 2127-2134.
- Johnson, C., Johnson, J., Vanderloo, J. P., Keane, D., Aiken, J. M., and McKenzie, D. (2006). Prion protein polymorphisms in white-tailed deer influence susceptibility to chronic wasting disease. *J Gen Virol*, 87(Pt 7), 2109-2114.
- Johnson, R. T., and Gibbs, C. J., Jr. (1998). Creutzfeldt-jakob disease and related transmissible spongiform encephalopathies. *N Engl J Med*, 339(27), 1994-2004.
- Khan, M. Q., Sweeting, B., Mulligan, V. K., Arslan, P. E., Cashman, N. R., Pai, E. F., and Chakrabartty, A. (2010). Prion disease susceptibility is affected by beta-structure folding propensity and local side-chain interactions in prp. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 107(46), 19808-19813.
- Kimberlin, R. H., and Walker, C. A. (1978). Pathogenesis of mouse scrapie: Effect of route of inoculation on infectivity titres and dose-response curves. *J Comp Pathol*, 88(1), 39-47.
- Kimberlin, R. H., and Walker, C. A. (1980). Pathogenesis of mouse scrapie: Evidence for neural spread of infection to the cns. *J Gen Virol*, 51(Pt 1), 183-187.

- Kimberlin, R. H., and Walker, C. A. (1986). Pathogenesis of scrapie (strain 263k) in hamsters infected intracerebrally, intraperitoneally or intraocularly. *J Gen Virol*, 67 ( Pt 2), 255-263.
- Kimberlin, R. H., and Walker, C. A. (1988). Pathogenesis of experimental scrapie. *Ciba Found Symp*, 135, 37-62.
- Kirkwood, J. K., and Cunningham, A. A. (1994). Epidemiological observations on spongiform encephalopathies in captive wild animals in the british isles. *Vet Rec*, 135(13), 296-303.
- Klatzo, I., Gajdusek, D. C., and Zigas, V. (1959). Pathology of kuru. *Lab Invest*, 8(4), 799-847.
- Klein, M. A., Frigg, R., Flechsig, E., Raeber, A. J., Kalinke, U., Bluethmann, H., Bootz, F., Suter, M., Zinkernagel, R. M., and Aguzzi, A. (1997). A crucial role for b cells in neuroinvasive scrapie. *Nature*, 390(6661), 687-690.
- Koga, H., Kaushik, S., and Cuervo, A. M. (2011). Protein homeostasis and aging: The importance of exquisite quality control. *Ageing Res Rev*, 10(2), 205-215.
- Kristiansen, M., Deriziotis, P., Dimcheff, D. E., Jackson, G. S., Ovaa, H., Naumann, H., Clarke, A. R., van Leeuwen, F. W., Menendez-Benito, V., Dantuma, N. P., Portis, J. L., Collinge, J., and Tabrizi, S. J. (2007). Disease-associated prion protein oligomers inhibit the 26S proteasome. *Mol Cell*, 26(2), 175-188.
- Lacroux, C., Corbiere, F., Tabouret, G., Lugan, S., Costes, P., Mathey, J., Delmas, J. M., Weisbecker, J. L., Foucras, G., Cassard, H., Elsen, J. M., Schelcher, F., and Andreatti, O. (2007). Dynamics and genetics of prpsc placental accumulation in sheep. *J Gen Virol*, 88(Pt 3), 1056-1061.
- Leopoldt, J. G. (1750). *Nützliche und auf die erfahrung gegründete einleitung zu der land-wirthschaft [useful and experience-based introduction to farming]* (Vol. 5). Sorau, Germany: Johann Gottlieb Rothen.
- Ligos, C., Jeffrey, M., Ryder, S. J., Bellworthy, S. J., and Simmons, M. M. (2002). Distinction of scrapie phenotypes in sheep by lesion profiling. *J Comp Pathol*, 127(1), 45-57.
- Mabbott, N. A., and Bruce, M. E. (2001). The immunobiology of tse diseases. *J Gen Virol*, 82(Pt 10), 2307-2318.
- Mabbott, N. A., and MacPherson, G. G. (2006). Prions and their lethal journey to the brain. *Nat Rev Microbiol*, 4(3), 201-211.
- Manuelidis, L. (2007). A 25 nm virion is the likely cause of transmissible spongiform encephalopathies. *J Cell Biochem*, 100(4), 897-915.
- Marsh, R. F., and Bessen, R. A. (1993). Epidemiologic and experimental studies on transmissible mink encephalopathy. *Dev Biol Stand*, 80, 111-118.
- Marsh, R. F., and Hadlow, W. J. (1992). Transmissible mink encephalopathy. *Rev Sci Tech*, 11(2), 539-550.
- Mays, C. E., and Soto, C. (2016). The stress of prion disease. *Brain Res*, 1648(Pt B), 553-560.
- Mead, S., Whitfield, J., Poulter, M., Shah, P., Uphill, J., Campbell, T., Al-Dujaily, H., Hummerich, H., Beck, J., Mein, C. A., Verzilli, C., Whittaker, J., Alpers, M. P., and Collinge, J. (2009). A novel protective prion protein variant that colocalizes with kuru exposure. *N Engl J Med*, 361(21), 2056-2065.
- Mizutani, T., Okumura, A., Oda, M., and Shiraki, H. (1981). Panencephalopathic type of creutzfeldt-jakob disease: Primary involvement of the cerebral white matter. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*, 44(2), 103-115.
- Monari, L., Chen, S. G., Brown, P., Parchi, P., Petersen, R. B., Mikol, J., Gray, F., Cortelli, P., Montagna, P., Ghetti, B., and et al. (1994). Fatal familial insomnia and familial creutzfeldt-jakob disease: Different prion proteins determined by a DNA polymorphism. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 91(7), 2839-2842.
- Monleon, E., Monzon, M., Hortells, P., Bolea, R., Acin, C., Vargas, F., and Badiola, J. J. (2005). Approaches to scrapie diagnosis by applying immunohistochemistry and rapid tests on central nervous and lymphoreticular systems. *J Virol Methods*, 125(2), 165-171.

- Moore, J., Hawkins, S. A., Austin, A. R., Konold, T., Green, R. B., Blamire, I. W., Dexter, I., Stack, M. J., Chaplin, M. J., Langeveld, J. P., Simmons, M. M., Spencer, Y. I., Webb, P. R., Dawson, M., and Wells, G. A. (2011). Studies of the transmissibility of the agent of bovine spongiform encephalopathy to the domestic chicken. *BMC Res Notes*, *4*, 501.
- Notari, S., Capellari, S., Langeveld, J., Giese, A., Strammiello, R., Gambetti, P., Kretzschmar, H. A., and Parchi, P. (2007). A refined method for molecular typing reveals that co-occurrence of prp(sc) types in creutzfeldt-jakob disease is not the rule. *Lab Invest*, *87*(11), 1103-1112.
- O'Rourke, K. I., Besser, T. E., Miller, M. W., Cline, T. F., Spraker, T. R., Jenny, A. L., Wild, M. A., Zebarth, G. L., and Williams, E. S. (1999). Prp genotypes of captive and free-ranging rocky mountain elk (*cervus elaphus nelsoni*) with chronic wasting disease. *J Gen Virol*, *80* ( Pt 10), 2765-2769.
- Oesch, B., Westaway, D., Walchli, M., McKinley, M. P., Kent, S. B., Aebersold, R., Barry, R. A., Tempst, P., Teplow, D. B., Hood, L. E., and et al. (1985). A cellular gene encodes scrapie prp 27-30 protein. *Cell*, *40*(4), 735-746.
- Organización Mundial de Sanidad Animal. (2016). Número de casos de encefalopatía espongiforme bovina (eeb) en bovinos de cría, señalados en el mundo, con excepción del reino unido. Oie, París. Disponible en: <http://www.Oie.Int/es/sanidad-animal-en-el-mundo/situacion-de-la-eeb-en-el-mundo-y-tasa-de-incidencia-anual/00-13-numero-de-casos-en-el-mundo-con-excepcion-del-reino-unido/>. Retrieved 06/09/2017
- Otero, A., Betancor, M., Erana, H., Fernandez Borges, N., Lucas, J. J., Badiola, J. J., Castilla, J., and Bolea, R. (2021). Prion-associated neurodegeneration causes both endoplasmic reticulum stress and proteasome impairment in a murine model of spontaneous disease. *Int J Mol Sci*, *22*(1).
- Otero, A., Bolea, R., Hedman, C., Fernandez-Borges, N., Marin, B., Lopez-Perez, O., Barrio, T., Erana, H., Sanchez-Martin, M. A., Monzon, M., Badiola, J. J., and Castilla, J. (2017). An amino acid substitution found in animals with low susceptibility to prion diseases confers a protective dominant-negative effect in prion-infected transgenic mice. *Mol Neurobiol*.
- Otero, A., Hedman, C., Fernandez-Borges, N., Erana, H., Marin, B., Monzon, M., Sanchez-Martin, M. A., Nonno, R., Badiola, J. J., Bolea, R., and Castilla, J. (2019). A single amino acid substitution, found in mammals with low susceptibility to prion diseases, delays propagation of two prion strains in highly susceptible transgenic mouse models. *Mol Neurobiol*.
- Pan, K. M., Baldwin, M., Nguyen, J., Gasset, M., Serban, A., Groth, D., Mehlhorn, I., Huang, Z., Fletterick, R. J., Cohen, F. E., and et al. (1993). Conversion of alpha-helices into beta-sheets features in the formation of the scrapie prion proteins. *Proc Natl Acad Sci U S A*, *90*(23), 10962-10966.
- Parchi, P., Castellani, R., Capellari, S., Ghetti, B., Young, K., Chen, S. G., Farlow, M., Dickson, D. W., Sima, A. A., Trojanowski, J. Q., Petersen, R. B., and Gambetti, P. (1996). Molecular basis of phenotypic variability in sporadic creutzfeldt-jakob disease. *Ann Neurol*, *39*(6), 767-778.
- Parchi, P., Giese, A., Capellari, S., Brown, P., Schulz-Schaeffer, W., Windl, O., Zerr, I., Budka, H., Kopp, N., Piccardo, P., Poser, S., Rojiani, A., Streichemberger, N., Julien, J., Vital, C., Ghetti, B., Gambetti, P., and Kretzschmar, H. (1999). Classification of sporadic creutzfeldt-jakob disease based on molecular and phenotypic analysis of 300 subjects. *Ann Neurol*, *46*(2), 224-233.
- Pattison, I. H. (1965). Experiments with scrapie with special reference to the nature of the agent and the pathology of the disease. In C. J. Gajdusek, J. Gibbs & M. P. Alpers (Eds.), *Slow, latent and temperate virus infections. Nindb monograph 2*. Washington, D.C.: U.S. Government Printing Office.



- Peretz, D., Scott, M. R., Groth, D., Williamson, R. A., Burton, D. R., Cohen, F. E., and Prusiner, S. B. (2001). Strain-specified relative conformational stability of the scrapie prion protein. *Protein Sci*, 10(4), 854-863.
- Polymenidou, M., Trusheim, H., Stallmach, L., Moos, R., Julius, C., Miele, G., Lenz-Bauer, C., and Aguzzi, A. (2008). Canine mdck cell lines are refractory to infection with human and mouse prions. *Vaccine*, 26(21), 2601-2614.
- Poser, C. M. (2002). Notes on the history of the prion diseases. Part ii. *Clin Neurol Neurosurg*, 104(2), 77-86.
- Priola, S. A. (1999). Prion protein and species barriers in the transmissible spongiform encephalopathies. *Biomed Pharmacother*, 53(1), 27-33.
- Priola, S. A., and Lawson, V. A. (2001). Glycosylation influences cross-species formation of protease-resistant prion protein. *EMBO J*, 20(23), 6692-6699.
- Prusiner, S. B. (1982). Novel proteinaceous infectious particles cause scrapie. *Science*, 216(4542), 136-144.
- Prusiner, S. B. (1991). Molecular biology of prion diseases. *Science*, 252(5012), 1515-1522.
- Prusiner, S. B. (1998a). The prion diseases. *Brain Pathol*, 8(3), 499-513.
- Prusiner, S. B. (1998b). Prions. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 95(23), 13363-13383.
- Prusiner, S. B. (2013). Biology and genetics of prions causing neurodegeneration. *Annu Rev Genet*, 47, 601-623.
- Prusiner, S. B., Scott, M., Foster, D., Pan, K. M., Groth, D., Mirenda, C., Torchia, M., Yang, S. L., Serban, D., Carlson, G. A., and et al. (1990). Transgenic studies implicate interactions between homologous prp isoforms in scrapie prion replication. *Cell*, 63(4), 673-686.
- Rábano, A. (2010). Encefalopatías espongiformes transmisibles en la especie humana. In J. P. Badiola, M (Ed.), *Encefalopatías espongiformes transmisibles*: Mayo Ediciones.
- Rudd, P. M., Endo, T., Colominas, C., Groth, D., Wheeler, S. F., Harvey, D. J., Wormald, M. R., Serban, H., Prusiner, S. B., Kobata, A., and Dwek, R. A. (1999). Glycosylation differences between the normal and pathogenic prion protein isoforms. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 96(23), 13044-13049.
- Ryder, S. J., Spencer, Y. I., Bellerby, P. J., and March, S. A. (2001). Immunohistochemical detection of prp in the medulla oblongata of sheep: The spectrum of staining in normal and scrapie-affected sheep. *Vet Rec*, 148(1), 7-13.
- Sailer, A., Bueler, H., Fischer, M., Aguzzi, A., and Weissmann, C. (1994). No propagation of prions in mice devoid of prp. *Cell*, 77(7), 967-968.
- Scott, M., Peretz, D., Nguyen, H. O., Dearmond, S. J., and Prusiner, S. B. (2005). Transmission barriers for bovine, ovine, and human prions in transgenic mice. *J Virol*, 79(9), 5259-5271.
- Schoon, H. A., Brunckhorst, D., and Pohlenz, J. (1991). [spongiform encephalopathy in a red-necked ostrich (*struthio camelus*)]. *Tierarztl Prax*, 19(3), 263-265.
- Schroder, M., and Kaufman, R. J. (2005). The mammalian unfolded protein response. *Annu Rev Biochem*, 74, 739-789.
- Seuberlich, T., Heim, D., and Zurbriggen, A. (2010). Atypical transmissible spongiform encephalopathies in ruminants: A challenge for disease surveillance and control. *J Vet Diagn Invest*, 22(6), 823-842.
- Sigurdson, C. J., and Miller, M. W. (2003). Other animal prion diseases. *Br Med Bull*, 66, 199-212.
- Siso, S., Jeffrey, M., and Gonzalez, L. (2009). Neuroinvasion in sheep transmissible spongiform encephalopathies: The role of the haematogenous route. *Neuropathol Appl Neurobiol*, 35(3), 232-246.
- Soto, C. (2003). Unfolding the role of protein misfolding in neurodegenerative diseases. *Nat Rev Neurosci*, 4(1), 49-60.
- Soto, C., and Satani, N. (2011). The intricate mechanisms of neurodegeneration in prion diseases. *Trends Mol Med*, 17(1), 14-24.

- Sparkes, R. S., Simon, M., Cohn, V. H., Fournier, R. E., Lem, J., Klisak, I., Heinzmann, C., Blatt, C., Lucero, M., Mohandas, T., and et al. (1986). Assignment of the human and mouse prion protein genes to homologous chromosomes. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 83(19), 7358-7362.
- Spiropoulos, J., Casalone, C., Caramelli, M., and Simmons, M. M. (2007). Immunohistochemistry for prpsc in natural scrapie reveals patterns which are associated with the prp genotype. *Neuropathol Appl Neurobiol*, 33(4), 398-409.
- Spiropoulos, J., Lockey, R., Sallis, R. E., Terry, L. A., Thorne, L., Holder, T. M., Beck, K. E., and Simmons, M. M. (2011). Isolation of prion with bse properties from farmed goat. *Emerg Infect Dis*, 17(12), 2253-2261.
- Steinhoff, B. J., Zerr, I., Glatting, M., Schulz-Schaeffer, W., Poser, S., and Kretzschmar, H. A. (2004). Diagnostic value of periodic complexes in creutzfeldt-jakob disease. *Ann Neurol*, 56(5), 702-708.
- Supattapone, S., Bosque, P., Muramoto, T., Wille, H., Aagaard, C., Peretz, D., Nguyen, H. O., Heinrich, C., Torchia, M., Safar, J., Cohen, F. E., DeArmond, S. J., Prusiner, S. B., and Scott, M. (1999). Prion protein of 106 residues creates an artificial transmission barrier for prion replication in transgenic mice. *Cell*, 96(6), 869-878.
- Tang, Y., Xiang, W., Terry, L., Kretzschmar, H. A., and Windl, O. (2010). Transcriptional analysis implicates endoplasmic reticulum stress in bovine spongiform encephalopathy. *PLoS One*, 5(12), e14207.
- Torres, J. M., Espinosa, J. C., Aguilar-Calvo, P., Herva, M. E., Relano-Gines, A., Villa-Diaz, A., Morales, M., Parra, B., Alamillo, E., Brun, A., Castilla, J., Molina, S., Hawkins, S. A., and Andreoletti, O. (2014). Elements modulating the prion species barrier and its passage consequences. *PLoS One*, 9(3), e89722.
- Torres, M., Medinas, D. B., Matamala, J. M., Woehlbier, U., Cornejo, V. H., Solda, T., Andreu, C., Rozas, P., Matus, S., Munoz, N., Vergara, C., Cartier, L., Soto, C., Molinari, M., and Hetz, C. (2015). The protein-disulfide isomerase erp57 regulates the steady-state levels of the prion protein. *J Biol Chem*, 290(39), 23631-23645.
- Tschampa, H. J., Kallenberg, K., Urbach, H., Meissner, B., Nicolay, C., Kretzschmar, H. A., Knauth, M., and Zerr, I. (2005). Mri in the diagnosis of sporadic creutzfeldt-jakob disease: A study on inter-observer agreement. *Brain*, 128(Pt 9), 2026-2033.
- van Keulen, L. J., Schreuder, B. E., Vromans, M. E., Langeveld, J. P., and Smits, M. A. (2000). Pathogenesis of natural scrapie in sheep. *Arch Virol Suppl*(16), 57-71.
- van Keulen, L. J., Vromans, M. E., Dolstra, C. H., Bossers, A., and van Zijderveld, F. G. (2008). Pathogenesis of bovine spongiform encephalopathy in sheep. *Arch Virol*, 153(3), 445-453.
- Vargas, F., Lujan, L., Bolea, R., Monleon, E., Martin-Burriel, I., Fernandez, A., De Blas, I., and Badiola, J. J. (2006). Detection and clinical evolution of scrapie in sheep by 3rd eyelid biopsy. *J Vet Intern Med*, 20(1), 187-193.
- Vidal, E., Fernandez-Borges, N., Pintado, B., Ordonez, M., Marquez, M., Fondevila, D., Torres, J. M., Pumarola, M., and Castilla, J. (2013). Bovine spongiform encephalopathy induces misfolding of alleged prion-resistant species cellular prion protein without altering its pathobiological features. *J Neurosci*, 33(18), 7778-7786.
- Vorberg, I., Groschup, M. H., Pfaff, E., and Priola, S. A. (2003). Multiple amino acid residues within the rabbit prion protein inhibit formation of its abnormal isoform. *J Virol*, 77(3), 2003-2009.
- Wadsworth, J. D., and Collinge, J. (2011). Molecular pathology of human prion disease. *Acta Neuropathol*, 121(1), 69-77.
- Wang, F., Wang, X., Yuan, C. G., and Ma, J. (2010). Generating a prion with bacterially expressed recombinant prion protein. *Science*, 327(5969), 1132-1135.
- Wang, S. B., Shi, Q., Xu, Y., Xie, W. L., Zhang, J., Tian, C., Guo, Y., Wang, K., Zhang, B. Y., Chen, C., Gao, C., and Dong, X. P. (2012). Protein disulfide isomerase regulates endoplasmic

- reticulum stress and the apoptotic process during prion infection and prp mutant-induced cytotoxicity. *PLoS One*, 7(6), e38221.
- Weber, S., Dorman, D. C., Lash, L. H., Erikson, K., Vrana, K. E., and Aschner, M. (2002). Effects of manganese (mn) on the developing rat brain: Oxidative-stress related endpoints. *Neurotoxicology*, 23(2), 169-175.
- Weissmann, C. (1991). A 'unified theory' of prion propagation. *Nature*, 352(6337), 679-683.
- Weissmann, C., and Bueler, H. (2004). A mouse to remember. *Cell*, 116(2 Suppl), S111-113, 112 p following S113.
- Wells, G. A., Scott, A. C., Johnson, C. T., Gunning, R. F., Hancock, R. D., Jeffrey, M., Dawson, M., and Bradley, R. (1987). A novel progressive spongiform encephalopathy in cattle. *Vet Rec*, 121(18), 419-420.
- Wells, G. A., Spiropoulos, J., Hawkins, S. A., and Ryder, S. J. (2005). Pathogenesis of experimental bovine spongiform encephalopathy: Preclinical infectivity in tonsil and observations on the distribution of lingual tonsil in slaughtered cattle. *Vet Rec*, 156(13), 401-407.
- Westaway, D., Cooper, C., Turner, S., Da Costa, M., Carlson, G. A., and Prusiner, S. B. (1994). Structure and polymorphism of the mouse prion protein gene. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 91(14), 6418-6422.
- Wilesmith, J. W., Ryan, J. B., and Atkinson, M. J. (1991). Bovine spongiform encephalopathy: Epidemiological studies on the origin. *Vet Rec*, 128(9), 199-203.
- Wilesmith, J. W., Wells, G. A., Cranwell, M. P., and Ryan, J. B. (1988). Bovine spongiform encephalopathy: Epidemiological studies. *Vet Rec*, 123(25), 638-644.
- Wilesmith, J. W., Wells, G. A., Ryan, J. B., Gavier-Widen, D., and Simmons, M. M. (1997). A cohort study to examine maternally-associated risk factors for bovine spongiform encephalopathy. *Vet Rec*, 141(10), 239-243.
- Wilson, D. R., Anderson, R. D., and Smith, W. (1950). Studies in scrapie. *J Comp Pathol*, 60(4), 267-282.
- Will, R. G., and Ironside, J. W. (2017). Sporadic and infectious human prion diseases. *Cold Spring Harb Perspect Med*, 7(1).
- Will, R. G., Ironside, J. W., Zeidler, M., Cousens, S. N., Estibeiro, K., Alperovitch, A., Poser, S., Pocchiari, M., Hofman, A., and Smith, P. G. (1996). A new variant of creutzfeldt-jakob disease in the uk. *Lancet*, 347(9006), 921-925.
- Will, R. G., Zeidler, M., Stewart, G. E., Macleod, M. A., Ironside, J. W., Cousens, S. N., Mackenzie, J., Estibeiro, K., Green, A. J., and Knight, R. S. (2000). Diagnosis of new variant creutzfeldt-jakob disease. *Ann Neurol*, 47(5), 575-582.
- Williams, E. S. (2005). Chronic wasting disease. *Vet Pathol*, 42(5), 530-549.
- Williams, E. S., and Young, S. (1980). Chronic wasting disease of captive mule deer: A spongiform encephalopathy. *J Wildl Dis*, 16(1), 89-98.
- Wiseman, F. K., Cancellotti, E., Piccardo, P., Iremonger, K., Boyle, A., Brown, D., Ironside, J. W., Manson, J. C., and Diack, A. B. (2015). The glycosylation status of prpc is a key factor in determining transmissible spongiform encephalopathy transmission between species. *J Virol*, 89(9), 4738-4747.
- Wolfe, L. L., Fox, K. A., and Miller, M. W. (2014). "Atypical" chronic wasting disease in prnp genotype 225ff mule deer. *J Wildl Dis*, 50(3), 660-665.
- Wong, E., and Cuervo, A. M. (2010). Integration of clearance mechanisms: The proteasome and autophagy. *Cold Spring Harb Perspect Biol*, 2(12), a006734.
- Wood, J. L., McGill, I. S., Done, S. H., and Bradley, R. (1997). Neuropathology of scrapie: A study of the distribution patterns of brain lesions in 222 cases of natural scrapie in sheep, 1982-1991. *Vet Rec*, 140(7), 167-174.
- Wrathall, A. E., Brown, K. F., Sayers, A. R., Wells, G. A., Simmons, M. M., Farrelly, S. S., Bellerby, P., Squirrell, J., Spencer, Y. I., Wells, M., Stack, M. J., Bastiman, B., Pullar, D., Scatcherd, J., Heasman, L., Parker, J., Hannam, D. A., Helliwell, D. W., Chree, A., and Fraser, H.

- (2002). Studies of embryo transfer from cattle clinically affected by bovine spongiform encephalopathy (bse). *Vet Rec*, 150(12), 365-378.
- Wrathall, A. E., Holyoak, G. R., Parsonson, I. M., and Simmons, H. A. (2008). Risks of transmitting ruminant spongiform encephalopathies (prion diseases) by semen and embryo transfer techniques. *Theriogenology*, 70(5), 725-745.
- Zanusso, G., Ferrari, S., Cardone, F., Zampieri, P., Gelati, M., Fiorini, M., Farinazzo, A., Gardiman, M., Cavallaro, T., Bentivoglio, M., Righetti, P. G., Pocchiari, M., Rizzuto, N., and Monaco, S. (2003). Detection of pathologic prion protein in the olfactory epithelium in sporadic creutzfeldt-jakob disease. *N Engl J Med*, 348(8), 711-719.
- Zeidler, M., Knight, R., Stewart, G., Ironside, J. W., Will, R. G., Green, A. J., and Pocchiari, M. (1999). Diagnosis of creutzfeldt-jakob disease. Routine tonsil biopsy for diagnosis of new variant creutzfeldt-jakob disease is not justified. *BMJ*, 318(7182), 538.
- Zerr, I., Kallenberg, K., Summers, D. M., Romero, C., Taratuto, A., Heinemann, U., Breithaupt, M., Vargas, D., Meissner, B., Ladogana, A., Schuur, M., Haik, S., Collins, S. J., Jansen, G. H., Stokin, G. B., Pimentel, J., Hewer, E., Collie, D., Smith, P., Roberts, H., Brandel, J. P., van Duijn, C., Pocchiari, M., Begue, C., Cras, P., Will, R. G., and Sanchez-Juan, P. (2009). Updated clinical diagnostic criteria for sporadic creutzfeldt-jakob disease. *Brain*, 132(Pt 10), 2659-2668.
- Zerr, I., Pocchiari, M., Collins, S., Brandel, J. P., de Pedro Cuesta, J., Knight, R. S., Bernheimer, H., Cardone, F., Delasnerie-Laupretre, N., Cuadrado Corrales, N., Ladogana, A., Bodemer, M., Fletcher, A., Awan, T., Ruiz Bremon, A., Budka, H., Laplanche, J. L., Will, R. G., and Poser, S. (2000). Analysis of eeg and csf 14-3-3 proteins as aids to the diagnosis of creutzfeldt-jakob disease. *Neurology*, 55(6), 811-815.
- Zhang, H., Kaneko, K., Nguyen, J. T., Livshits, T. L., Baldwin, M. A., Cohen, F. E., James, T. L., and Prusiner, S. B. (1995). Conformational transitions in peptides containing two putative alpha-helices of the prion protein. *J Mol Biol*, 250(4), 514-526.
- Zhang, J. (2011). Comparison studies of the structural stability of rabbit prion protein with human and mouse prion proteins. *J Theor Biol*, 269(1), 88-95.
- Zheng, Q., Li, J., and Wang, X. (2009). Interplay between the ubiquitin-proteasome system and autophagy in proteinopathies. *Int J Physiol Pathophysiol Pharmacol*, 1(2), 127-142.

## VII. AGRADECIMIENTOS

Deseo en primer lugar expresar mi agradecimiento más sincero al Rector Magnífico de nuestra Universidad, Prof. Dr. D. José Antonio Mayoral Murillo por haberme confiado la responsabilidad y el honor de pronunciar la Lección Inaugural del curso académico 2022-2023. Espero no defraudar su confianza y en todo caso apelo a su benevolencia.

Asimismo, permítanme agradecer a mi esposa, recientemente fallecida, con la que he compartido felizmente toda una vida y una buena parte de mi actividad universitaria, por todo el apoyo personal que siempre recibí de ella. Juntos creamos una familia con tres hijas, Jara, Laura y Rocío y cinco nietos, Irene, Pablo, Naia, Jon y Alicia, de la que me siento profundamente orgulloso.

Deseo también expresar mi agradecimiento por las valiosas enseñanzas y consejos recibidos del que fue mi maestro en la Universidad Complutense, en la que inicié mi andadura Universitaria, el Prof. Dr. Eduardo Gallego García, sucesor de una línea de profesores e investigadores de la Escuela de Santiago Ramón y Cajal, entre la que destacó su padre el Prof. Abelardo Gallego Canel, estrecho colaborador del gran histólogo español Pío del Río Hortega.

No quiero olvidarme de agradecer también las enseñanzas recibidas en mis estancias en la Escuela Superior de Veterinaria de Hannover (Alemania) a la que debo una buena parte mi formación como patólogo veterinario bajo la tutela de los Profesores Leo Clemens Schulz y Gerhard Trautwein y la experiencia investigadora vivida en el National Animal Disease Center de Iowa (EEUU) junto al Prof. Norman Cheville.

Pero sobre todo quiero agradecer sinceramente a todas las personas con las que se inició la línea de investigación en enfermedades priónicas en los años ochenta de la pasada centuria, entre las que destacan las doctoras Eva Monleón, Marta Mozón, Rosa Bolea y Cristina Acín y la colaboración adicional de Inmaculada Martín y Bernardino

Moreno. Juntos, como Centro Nacional y Autonómico de Referencia de las Encefalopatías Espongiformes Transmisibles, trabajamos intensamente para cumplir las misiones que nos encomendó el Ministerio de Agricultura del Gobierno de España y el Departamento de Agricultura del Gobierno de Aragón, instituciones a las que también deseo agradecer su confianza en nuestro grupo.

La posterior creación del Centro de Encefalopatías y Enfermedades Transmisibles Emergentes de la Universidad de Zaragoza y el privilegio de contar con una instalación de alta seguridad biológica, permitió incrementar notablemente nuestra actividad investigadora, lo que ha permitido publicar cerca de un centenar de artículos de investigación sobre enfermedades priónicas y realizar veinte tesis doctorales. Por ello, quiero agradecer la confianza y el trabajo realizado, aparte de las investigadoras antes citadas, por Francisco Vargas, Paloma Hortels, Eider Salazar, Rocío Sarasa, María del Carmen Garza, Hicham Filali, Rodrigo Hernández, William Jirón, Jessica Sheleby, Carlos Hedman, José Luis Pitarch, Heken Raksa, Alicia Otero, Oscar Loperz, Moisés Gracés, Tomás Barrio, Isabel Guijarro, Mirta García, Marina Betancor, Diego Sola, Sonia Pérez y Jenny Lozada. Asimismo, es muy de agradecer el trabajo técnico y administrativo llevado a cabo por Belén Marín, África Arbizu, Sandra Felices y Daniel Romanos. Gracias a todos por confiarnos vuestra colaboración en la consecución de los objetivos del Centro y por haber aportado vuestras valiosas ideas e iniciativas.

Deseo también agradecer a la Organización Mundial de Sanidad Animal (OIE) el privilegio y la confianza demostrados en nuestro grupo al ser nombrados Laboratorio Internacional de Referencia de la organización y en mi caso experto reconocido por ella en el ámbito de las enfermedades priónicas animales, y en particular en la encefalopatía espongiforme bovina y el scrapie.

Finalmente, y quizás lo más importante, deseo expresar mi más profundo y sincero agradecimiento a la Universidad de Zaragoza por la generosidad que ha demostrado conmigo, al permitirme investigar y formar investigadores, y sobre todo el privilegio de haber participado en la enseñanza de cuarenta y seis generaciones de estudiantes de la Facultad de Veterinaria, que es de lo que me siento más orgulloso

## ÍNDICE

I.	INTRODUCCIÓN.....	2
II.	ENFERMEDADES PRIÓNICAS HUMANAS Y ANIMALES.....	4
	Las enfermedades priónicas humanas.....	8
	Las enfermedades priónicas animales.....	16
III.	EL AGENTE CAUSAL.....	23
	Conversión de la PrP <sup>c</sup> en PrP <sup>Sc</sup> .....	28
	Las cepas priónicas.....	30
IV.	PATOGENIA Y TRANSMISIÓN.....	33
V.	LA BARRERA DE TRANSMISIÓN.....	46
	Factores determinantes.....	47
	Genotipo del gen PRNP.....	47
	La cepa priónica.....	49
	La ruta de infección.....	50
	Otros factores implicados: La glicosilación de la PrP <sup>c</sup> .....	50
VI.	SUSCEPTIBILIDAD Y RESISTENCIA DE LAS DISTINTAS ESPECIES A LAS ENFERMEDADES PRIÓNICAS.....	51
	Mamíferos resistentes o poco susceptibles.....	52
	Otras especies resistentes: las aves.....	52
VII.	Consideraciones finales.....	54
VIII.	REFERENCIA BIBLIOGRÁFICAS.....	56
IX.	AGRADECIMIENTOS.....	69