

LAS ENFERMEDADES PRIÓNICAS.
ATRAVESANDO LAS FRONTERAS
DEL CONOCIMIENTO

Juan José Badiola Díez



STVDIVM
GENERALE
CAESARAV-
GVSTANAE
CIVITATIS



Prensas de la Universidad
Universidad Zaragoza

LAS ENFERMEDADES PRIÓNICAS.
ATRAVESANDO LAS FRONTERAS
DEL CONOCIMIENTO

LAS ENFERMEDADES PRIÓNICAS.
ATRAVESANDO LAS FRONTERAS
DEL CONOCIMIENTO

Juan José Badiola Díez

PRENSAS DE LA UNIVERSIDAD DE ZARAGOZA

© Juan José Badiola Díez

© De la presente edición, Prensas de la Universidad de Zaragoza
(Vicerrectorado de Cultura y Proyección Social)

1.ª edición, 2022

Prensas de la Universidad de Zaragoza

Edificio de Ciencias Geológicas

c/ Pedro Cerbuna, 12 • 50009 Zaragoza, España

Tel.: 976 761 330

puz@unizar.es <http://puz.unizar.es>

Impreso en España

Imprime: Servicio de Publicaciones. Universidad de Zaragoza

INTRODUCCIÓN

Las enfermedades priónicas, también denominadas encefalopatías espongiformes transmisibles (EET), son enfermedades neurodegenerativas crónicas transmisibles, con largos periodos de incubación y que tienen un curso invariablemente fatal. Presentan una baja incidencia y una distribución universal, afectando 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 ellas están causadas por una isoforma producida por la conversión postraduccional de la proteína prion celular (PrP^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 PrP^{Sc} o PrP^{res} . Este cambio conformacional le otorga a la proteína PrP^{Sc} una gran resistencia a los procesos de esterilización físicos y químicos, una tendencia a la agregación, su insolubilidad en detergentes no iónicos y una resistencia parcial a la digestión con proteasas. Se considera que los priones son partículas proteináceas desprovistas de ácido nucleico que pueden

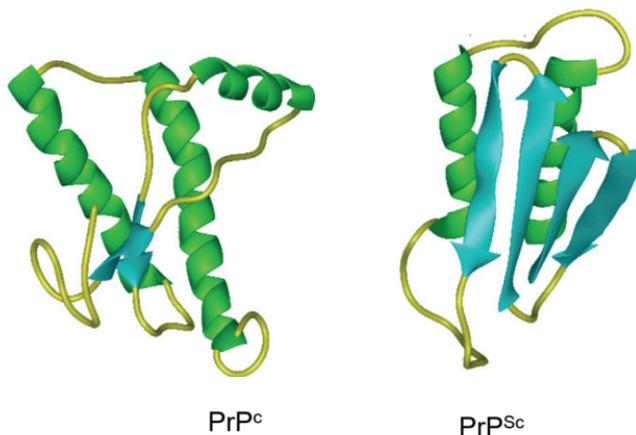


FIGURA 1. Imagen obtenida por análisis de cristalografía electrónica de la estructura de PrP^c y su isoforma patológica PrP^{Sc}.

agregarse, así como reclutar y convertir la PrP^c fisiológica en su isoforma patológica (Prusiner, 1982, 1998b).

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

Además de la acumulación de PrP^{Sc}, este grupo de enfermedades comparten otras características anatomopatológicas como la degeneración espongiiforme (Prusiner, 1998), pérdida neuronal y gliosis (incluyendo astrocitosis y microgliosis) (DeArmond and Prusiner, 1993; Wadsworth and Collinge, 2011).

Independientemente de su origen y naturaleza, 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 estas enfermedades han sido identificadas diferentes cepas y fenotipos del agente etiológico.

Aunque existen muchos aspectos desconocidos sobre la patogenia de las encefalopatías espongiiformes transmisibles, se ha demostrado que la presencia de la PrP^c en el encéfalo es fundamental no solo para la generación de la PrP^{Sc}, 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 estas enfermedades. 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, la 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 abe-

rrantes tales como β -amiloide, α -sinucleína, TDP-43 o huntingtina (Aguzzi *et al.*, 2008; Prusiner, 2013). Además, 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.

I. 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 y causar una enfermedad fatal, cuyo hallazgo se ha hecho merecedor de la concesión de dos premios Nobel.

Las historias de las encefalopatías espongiformes 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 que se indican en la tabla 1.

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

<i>Enfermedad</i>	<i>Abreviatura</i>	<i>Hospedador natural</i>	<i>Origen</i>	<i>Año de la descripción</i>
Enfermedad de Creutzfeldt-Jakob esporádica	ECJe	Humano	Esporádica	1920
Enfermedad de Creutzfeldt-Jakob genética o familiar	ECJf	Humano	Genética	1924
Enfermedad de Gerstmann-Stäussler-Scheinker	GSS	Humano	Genética	1936
Kuru		Humano	Adquirida	1953
Enfermedad de Creutzfeldt-Jakob iatrogenética	ECJi	Humano	Adquirida	1974
Insomnio familiar fatal	IFF	Humano	Genética	1986
Variante de la enfermedad de Creutzfeldt-Jakob	vECJ	Humano	Adquirida	1996
Insomnio fatal esporádico	IFE	Humano	Esporádica	1999
Prionopatía de sensibilidad variable a las proteasas	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-Jakob (ECJe), el insomnio fatal esporádico (IFE) y la prionopatía de sensibilidad variable a las proteasas (PrPSVP) (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 (ECJf), el insomnio familiar fatal (IFF) y la enfermedad de Gerstmann-Sträussler-Scheinker (GSS).

Por último, las EET humanas adquiridas, 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 (ECJe), representando un 85 % de los casos de EET diagnosticados en el ser humano. Identificada por primera vez en los años veinte (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^c en la forma patógena, la cual se acumula produciendo la neurodegeneración (Will and Ironside, 2017).

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

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 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.

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

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

Las enfermedades priónicas humanas

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

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, 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. La etapa preclínica tenía un promedio de duración de 10-13 años y la etapa clínica duraba una media de 12 meses.

El kuru alcanzó proporciones epidémicas en 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 doscientas muertes al año y era la principal causa de fallecimiento en mujeres, niños y adolescentes de ambos sexos. La investigación epidemiológica y antropológica estableció que el kuru se transmitía en rituales de caniba-



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

lismo 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 se realizaron 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, destinado en el distrito, mencionó la existencia de la enfermedad. Zigas 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). La colaboración del Gobierno australiano no fue siempre entusiasta, teniendo que superar muchos problemas logísticos y administrativos, y también la participación de los científicos australianos fue en ocasiones reticente (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 cuadro clínico que presentaban, planteaba la sospecha de que intervinieran factores genéticos, probablemente en asociación con va-

riables 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 McFarlane 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 elaborado por Gajdusek y sus colaboradores (Gajdusek and Gibbs, 1964), en el que admitían que habían sido incapaces de reproducir la enfermedad en 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 fechada 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 fuese una infección había sido ya planteada por investigadores próximos a Gajdusek, pero este no se mostró inicialmente a favor de aceptar dicha 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: «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 (solo se han descrito unos veinte 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 encefalopatías espongiiformes transmisibles iba a proceder de una fuente inesperada y fue el resultado de unas circunstancias fortuitas. De hecho, se debe a William Hadlow, neuropatólogo veterinario estadounidense, que en 1959 trabajaba en la Estación de Investigación Agrícola de Compton (Inglaterra) sobre el scrapie ovino. Este 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 expuestas 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 las dos enfermedades fueran muy similares.

Desde entonces la hipótesis infecciosa tomó de nuevo fuerza, y Gajdusek 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 concededores 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.

En 1921 Hans Gerhard Creutzfeldt (Creutzfeldt, 1920) y en 1922 Alfons Jakob (Jakob, 1921) describen una enfermedad neurológica en humanos que fue llamada enfermedad de Creutzfeldt-Jakob (EJC), que fue la primera enfermedad priónica humana descrita y que puede presentarse bajo la forma familiar, esporádica e iatrogénica. En la ECJ, las PrP^{Sc} 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 veinte 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 cinco 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 patógena de la proteína prion (PrP^{Sc}) 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 trasplantes de córnea y la utilización de electrodos intracerebrales contaminados. Los periodos de incubación han superado los treinta 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 de concentrados de hematíes sin leucodepleción u otros productos sanguíneos, por lo que, por miedo a contagiarse, hace unos años algunos 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 esporádica. 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 solo 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 vECJ 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^{Sc} revela intensos depósitos en forma de placas floridas.

Otro rasgo distintivo de la vECJ es la acumulación de PrP^{Sc} 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 vECJ definitiva fue positiva (Hill *et al.*, 1997), pronto se desaconsejó su uso habitual como procedimiento diagnóstico (Zeidler *et al.*, 1999).

En 1928 Josef Gertsman realiza la primera descripción del llamado síndrome de Gerstmann-Sträussler-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^{Sc} 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 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 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 y 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 (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 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 Gerst-

mann-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^c). 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 sí existan.

En el insomnio familiar fatal los síntomas pueden comenzar desde poco antes de los 30 años de edad hasta poco más de los 70 (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 algo 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, se halla 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 antigua 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, Cuille y Chelle (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 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 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 evolución 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 autoinfligidas 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 espongiosis del neuropilo (figura 3) 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^{Sc} especialmente visible en las neuronas y sus prolongaciones (figura 3) con patrones de distribución neuroanatómica variable (Ryder *et al.*, 2001). Es relevante destacar la posibilidad de identificar también la presencia de la proteína PrP^{Sc} 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^{Sc} en las muestras de tejido del encéfalo.

El scrapie atípico suele aparecer en edades mayores a las del scrapie clásico y la clínica no es la misma que la del scrapie clásico, destacando la escasa presencia o ausencia del prurito. Las lesiones y los depósitos de PrP^{Sc} 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^{Sc} no se detecta en tejidos periféricos (Gavier-Widen *et al.*, 2001), aunque la infectividad se ha demostrado en el sistema linforreticular, nervios e incluso en músculos (Andreoletti *et al.*, 2011).

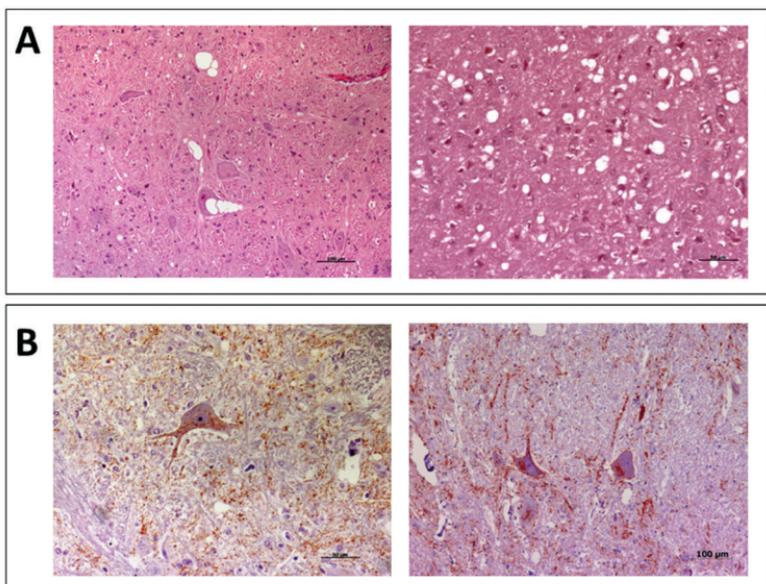


FIGURA 3. Lesiones neuropatológicas características de las enfermedades priónicas. (A) Vacuolización intraneuronal (izquierda) y espongirosis (derecha) observadas mediante la tinción de hematoxilina-eosina. (B) Depósitos de PrP^{Sc} visualizados mediante la técnica inmunohistoquímica.

En el scrapie ovino se ha reconocido un importante componente genético que condiciona la susceptibilidad a la infección, la manifestación clinicopatológica de la enfermedad y la aparición de las distintas cepas conocidas. 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). La 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 la enfermedad entre especies, la persistencia del agente causal en el ambiente y los factores que determinan la emergencia de nuevas cepas despierten un gran interés en la investigación (Duque Velasquez *et al.*, 2015).

Las enfermedades priónicas y su posible transmisión entre especies se convirtieron en motivo de preocupación pública tras la aparición de la Encefalopatía espongiforme bovina (EEB). En los años ochenta 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), como España, diagnosticada por nosotros a finales del año 2000 (Badiola *et al.* 2002), 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 recomenda-

das, 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 mueren irremediabilmente a los pocos meses del comienzo de los signos clínicos (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* (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 bovi-

no adulto y se desconoce su origen, aunque se ha propuesto que podría 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 (niala, 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 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 presentaba signos clínicos compatibles con

esta enfermedad priónica. El diagnóstico fue confirmado tras la observación de degeneración espongiiforme y depósito de PrP^{Sc} 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 al scrapie (Babelhadj *et al.*, 2018).

II. 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 los requerimientos precisos.

También fue considerada la posibilidad de que el agente causal de estas enfermedades fuera un virino, formulándose la *teoría del virino* 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 que figuraban que estuvieran 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 última 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 posee ácidos nucleicos (Prusiner, 1982).

Pero, aunque no ha faltado el debate científico sobre la cuestión, lo cierto es que 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») (figura 4), que cuenta con gran número de evidencias experimentales, aunque todavía no se ha podido cristalizar, lo que ha motivado que algunos investigadores sigan argumentando que además de la proteína existe algo más; así, Aiken (Aiken *et al.*, 1989) y Manuelidis (2007), entre otros, han mantenido durante años que el agente causal sería una proteína que envolvería un ADN mitocondrial.

La hipótesis predominante de estar constituido «solamente por una proteína», que es capaz de reproducirse sin necesidad de material genético, fue inicialmente propuesta por Griffith en un artículo publicado en *Nature* en 1967 (Griffith, 1967). Pero no fue hasta 1982 cuando Stanley B. Prusiner, investigador de la Universidad de California, enunció de forma detallada dicha teoría, al afirmar que el agente infeccioso responsable de estas enfermedades degenerativas del sistema nervioso central en animales y en humanos era simplemente



FIGURA 4. Stanley B. Prusiner, premio Nobel de Fisiología y Medicina en 1997 por la formulación de la teoría prion.

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 posee 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 una enfermedad transmisible 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, se comprobó que era resistente a la digestión con proteinasa K, por lo que se la denominó PrP^{Res} 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^c (proteína celular normal) en PrP^{Sc} (isoforma anormal causante de la enfermedad) implica un cambio en la conformación de la proteína: el contenido en hélices α disminuye mientras que aumenta el contenido en hoja plegada β , aunque ambas proteínas tienen la misma secuencia de aminoácidos. En apoyo de ello existen abundantes estudios experimentales que aseguran que la proteína celular (PrP^c), que se localiza principalmente en las membranas celulares, y la proteína prion patológica (PrP^{Sc}) tienen la misma estructura primaria (secuencia de aminoácidos) (Prusiner *et al.*, 1990). Por tanto, se acepta que esta estructura primaria de PrP^c puede adoptar dos diferentes conformaciones que explican la existencia de la PrP^c y la PrP^{Sc}. 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 α -hélice y apenas un 3 % de hoja plegada en β , mientras que la isoforma patológica contiene un 30 % de α -hélice y un 40 % de hoja plegada en β .

Estudios comparativos de ambas proteínas con marcadores metabólicos demuestran que el cambio de conformación es un proceso postraducciona l que conlleva un cambio drástico en las propiedades de la proteína, como una elevada resistencia a los procesos degradativos y una

tendencia a la acumulación progresiva en los tejidos del huésped (Pan *et al.*, 1993). Así, mientras que la proteína celular normal (PrP^c) es soluble en detergentes suaves no desnaturizantes y se digiere fácilmente con proteasas (proteínasa K), la isoforma patológica (PrP^{Sc}) es resistente a los detergentes y solo es parcialmente digerida por proteasas, produciendo la isoforma conocida como PrP^{Sc} 27-30, llamada así debido a que deriva de la PrP^{Sc} y que su tamaño es de 27-30 kDa (Prusiner, 1998a).

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

La proteína prion celular o PrP^c 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^c está localizado en el cromosoma 20 en humanos, en el 2 en el ratón y en el 13 en rumiantes (Sparkes *et al.*, 1986), se ha identificado en más de quince 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, que se encuentran separados por un intrón de aproximadamente 10 kb. Solamente tiene un marco de lectura (ORF) que en el hombre, el hámster, el ratón, la rata y 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^c 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. Este 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 glicofomas 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 acídicos (Mays and Soto, 2016) y posteriormente la PrP^c 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 ellas. Así, aceptando como válida la teoría de Prusiner, por la que la PrP^{Sc} es una variante conformacional de la PrP^c, los diferentes estudios de conversión postulan un modelo de propagación del prion que involucra una interacción proteína-proteína, entre la PrP^c del huésped y la PrP^{Sc} externa, que actúa promoviendo la conversión de PrP^c a PrP^{Sc} 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^{Sc} 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^c 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^c, 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 ho-

meostasis mitocondrial y la regulación de los niveles de β -amiloide y tau (Castle and Gill, 2017).

Conversión de la PrP^c en PrP^{Sc}

La propagación de los priones en un individuo depende de la conversión de la PrP^c en la isoforma patógena PrP^{Sc}. 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^c y la PrP^{Sc}, actuando esta última como un molde que induce la transformación de la primera. Estas nuevas moléculas de PrP^{Sc} inducirían un proceso de retroalimentación, replicándose mientras exista PrP^c en el medio que actúe como sustrato. Finalmente, las moléculas de PrP^{Sc} 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^c y la PrP^{Sc} se encuentran en un estado de equilibrio termodinámico que en condiciones fisiológicas está desplazado hacia la PrP^c. Según dicho modelo, varias moléculas de PrP^{Sc} se unirían para formar un núcleo o semilla al cual se irían uniendo progresivamente nuevas moléculas de PrP^{Sc}, 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^{Sc} y producir un cambio masivo

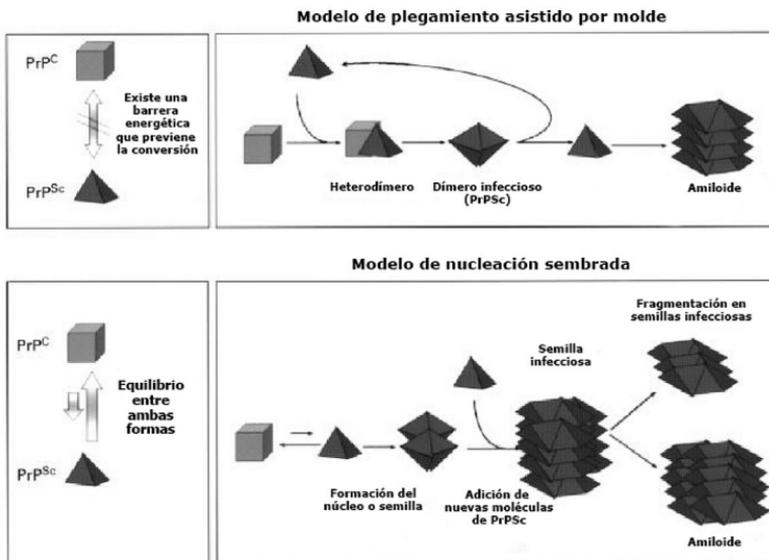


FIGURA 5. Modelos explicativos de la conversión de la PrP^c en la isoforma patógena PrP^{Sc}. Adaptado de Aguzzi and Heppner, 2000.

sobre las moléculas de PrP^c, resultando en la replicación del prion 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^c puede convertirse en PrP^{Sc} cuando es incubada con PrP^{Sc} 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. Dicha técnica, a través de rondas sucesivas de sonicación e incubación, es capaz de amplificar la PrP^{Sc} de forma indefinida cuando un homogeneizado de encéfalo no infectado, que actuaría como sustrato, se incubaba

con pequeñas cantidades de homogeneizado procedente de un animal infectado (Castilla *et al.*, 2005).

Las cepas priónicas

La existencia de cepas en las enfermedades priónicas ha sido un asunto controvertido, puesto que cuestiona el concepto de la proteína única, y ha sido utilizada 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, porque 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. En la actualidad es ampliamente aceptada 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^{Sc} (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^{Sc} 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 desempeña un papel importante en el cuadro neuropatológico, especialmente en relación con la distribución y la morfología de los depósitos de PrP^{Sc} en el encéfalo, como se ha comprobado en el scrapie ovino en el que la distribución de la PrP^{Sc} dependía de la interacción de la cepa y de 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^{Sc} 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 veinte cepas, en su mayoría procedentes de scrapie ovino y caprino, EEB y de ECJe 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 ECJe (Block and Bartz, 2022).

Sin embargo, aunque se han conseguido aislar numerosas cepas en ratones, la identificación de cepas de scra-

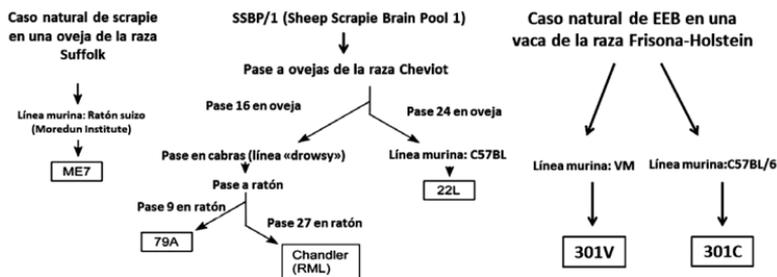


FIGURA 6. Esquema en el que se representa la generación de algunas de las cepas priónicas murinas más utilizadas en investigación.

pie 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 espongiforme 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^{Sc} tipo 2 de la ECJ (Notari *et al.*, 2007). Este anticuerpo no detecta la PrP^{Sc} 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 ECJe, que presentan un patrón de glicosilación de tipo 1 (Parchi *et al.*, 1999).

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

III. 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 de los 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, asimismo, podrían contribuir a la entrada de la PrP^{sc} 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 por la enfermedad. 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-Jakob.

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^{Sc}) penetra en el organismo principalmente a través del tejido linfoide asociado al intestino (GALT) sobre todo a nivel del íleon, ya que este 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^{Sc} 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^{Sc} 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 (Acin *et al.*, 2021).

Estudios efectuados en ratones transgénicos demostraron que, en ausencia de linfocitos B, los ratones eran resistentes a la infección por PrP^{Sc}. 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^c 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^{Sc}. 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^{Sc}. Por ello, por ejemplo, en las mamitis crónicas ovinas, que cursan con la formación de folículos linfoides, puede excretarse PrP^{Sc} 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 penetran 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 (Acin *et al.*, 2021). Una vez que la PrP^{Sc} 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 diag-

nóstico 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 infecciosas 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 prion 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 prion es muy pequeña, y la neuroinvasión se produce sin que el sistema linforreticular acumule PrP^{Sc} (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^{Sc} 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^{Sc} 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^{Sc} 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^{Sc} 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^{Sc} 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^{Sc}, tanto en casos naturales de scrapie como de encefalopatía espongiiforme 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 (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^{Sc} 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^{Sc} 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 hematológica (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^{Sc} 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^{Sc} en los senos subcapsulares de

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*, en la que nunca ha sido demostrada la presencia de PrP^{Sc} 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. (Acin *et al.*, 2021).

No obstante, se ha observado que no todos los animales infectados acumulan PrP^{Sc} en la placenta y que el mismo animal no acumula PrP^{Sc} en todas las gestaciones. Dicha acumulación parece depender del genotipo del feto, ya que no se han detectado depósitos de PrP^{Sc} 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^{Sc} en sus placentas, incluso cuando el genotipo fetal es VRQ/VRQ (considerado el más susceptible). Esto podría estar asociado a la falta de PrP^{Sc} en el tejido linfoide en animales infectados con genotipo ARR/VRQ y, en consecuencia, a una ineficiente diseminación de PrP^{Sc} en la placenta (Lacroux *et al.*, 2007). Sin embargo, la acumulación de PrP^{Sc} en la placenta no solo 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 solo 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 espongiiforme 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 enfer-

medad 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 espongiiforme 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 espongiiforme 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 PrP^{sc}, 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 espongiiforme 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.

En las enfermedades priónicas se producen una serie de procesos degenerativos en el encéfalo, 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).

Todavía no se conocen en su totalidad los mecanismos moleculares que participan en el proceso neurodegenerativo referido, aunque parece claro que la forma-

ción y acumulación progresiva de PrP^{Sc} en el encéfalo es el hecho desencadenante principal de la enfermedad priónica, si bien no se conoce con seguridad cómo ocurre.

Aunque se ha pensado que las enfermedades priónicas podrían originarse como consecuencia de la pérdida de una función fisiológica crítica de la PrP^c que provocaría la neurodegeneración, en la actualidad se piensa que sería más probablemente debida a una actividad tóxica por parte de la propia PrP^{Sc}, 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, Parkinson, esclerosis lateral amiotrófica o enfermedad de Huntington, que también están causadas por la acumulación de proteínas mal plegadas 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, mal plegadas 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 el interior la célula ocurre principalmente en el citosol y el retículo endoplásmico, proceso que es más complejo en este último orgánulo, donde las proteínas, como la PrP^c, son modificadas tras la traducción mediante la adición de N-glicanos o la formación de puentes disulfuro (Schroder and Kaufman, 2005).

Entre los mecanismos neuronales críticos destaca 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 responsables 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 proteínas disulfuro-isomerasas (PDI).

En las enfermedades priónicas las proteínas de la familia PDI se sobreexpresan en el encéfalo de pacientes afectados por vECJ y ECJe (Torres *et al.*, 2015) así como en roedores infectados con distintas cepas priónicas, comenzando en estadios iniciales de la enfermedad e incrementándose de forma continuada hasta el estadio terminal, lo que indicaría un intento de corregir el plegamiento anómalo de la PrP^{Sc} y de eliminarla. Por ello se considera que estas proteínas desempeñan un papel protector en estadios iniciales, eliminando las proteínas mal plegadas, aunque en estadios terminales induce la apoptosis celular (Wang *et al.*, 2012).

Es conocido que las chaperonas son un grupo de proteínas cuyas funciones principales son favorecer el plegamiento de las proteínas recién formadas, así como su tránsito entre compartimentos de la célula y colaborar en su adecuado plegamiento si estas se desnaturalizan (Koga *et al.*, 2011). La chaperona BiP (proteína de unión a inmunoglobulinas) juega un papel clave en el plegamiento y maduración de la PrP^c, colaborando en la degradación de sus formas anormales y 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).

En las enfermedades priónicas, la alteración de la homeostasis del retículo endoplásmico producida por el acúmulo de una proteína malplegada, como es la PrP^{Sc}, puede provocar el llamado «estrés del retículo endoplásmico», que puede causar un proceso de neurodegeneración y la muerte neuronal. Para evitar esta desfavorable consecuencia se inicia una respuesta conocida como «respuesta a proteínas mal plegadas» (UPR), 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).

Dicha respuesta tiene como objetivo tratar de restaurar el plegamiento normal de las proteínas mal plegadas en el retículo endoplásmico, reducir su producción y su translocación en el interior de este orgánulo e incrementar la eliminación de esas proteínas mal plegadas mediante los procesos de degradación. Esta vía de degradación marca las 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 proteasoma es una compleja red proteica enzimática localizada tanto en el núcleo como en el citoplasma de las células eucariotas. El sistema ubiquitin-proteasómico está constituido por el proteasoma y ubiquitina (una pequeña proteína de 8,5 kDa). El sistema marca con ubiquitina las proteínas que requieren ser destruidas, que el proteasoma se encarga de reconocer y degradar. Si este sistema falla y no logra recuperar la homeostasis celular, existe otra vía alternativa para la eliminación de proteínas, que es la autofagia mediante la actuación de los lisosomas (Zheng *et al.*, 2009). No obstante, si el es-

trés del retículo endoplásmico persiste por la acumulación de proteínas y los sistemas de degradación referidos no logran recuperar el equilibrio, la célula entra en la fase de apoptosis, mediada a través de las caspasas. En la figura 8 se representan gráficamente estos mecanismos.

Un conjunto importante de enfermedades neurodegenerativas, como las enfermedades de Alzheimer, Parkinson, Huntington y esclerosis lateral amiotrófica, tienen como denominador común la existencia de depósitos intracelulares de proteínas mal conformadas. Actualmente se sospecha que el deterioro del funcionamiento del sistema ubiquitin-proteasómico podría contribuir a la aparición de estas enfermedades, puesto que esos agregados proteicos parecen resistir la degradación proteasómica (Mays and Soto, 2016).

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

En cultivos celulares se ha comprobado que la proteína PrP^{Sc} es capaz de inhibir los sitios activos de las proteasas, que son las subunidades proteolíticas β del proteasoma (Kristiansen *et al.*, 2007). El papel del sistema ubiquitin-proteasómico en la patogenia de las enfermedades priónicas también ha sido estudiado *in vivo* y se ha observado que parece existir una alteración del referido sistema en las áreas encefálicas con mayor acumulación de PrP^{Sc} en el estadio terminal de la enfermedad (Otero *et al.*, 2021).

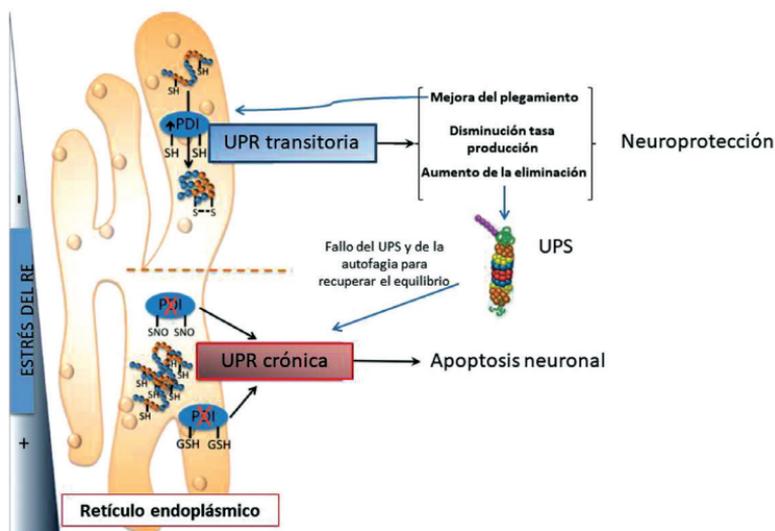


FIGURA 8. Representación esquemática de los mecanismos activados por el estrés del retículo endoplásmico (RE). Cuando se produce una acumulación de proteínas mal plegadas en el lumen del RE se genera una activación transitoria de la respuesta a proteínas mal plegadas (UPR) que conduce a una mejora del 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 ubiquitín-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.

IV. LA BARRERA DE TRANSMISIÓN

Dentro de la misma especie los agentes causales de las enfermedades priónicas se transmiten sin apenas dificultades, dando lugar a periodos de incubación y cuadros clínicos y lesionales muy similares a los de la especie de la que proceden. Pero, en cambio, la transmisión entre especies diferentes se ve muy dificultada por lo que se denomina *barrera de transmisión*, también llamada *barrera de especie*, que supone una resistencia de una especie determinada a ser invadida por un agente patógeno, en este caso un prion, de otra especie diferente, particularmente en el primer intento o pase si se trata de un estudio experimental, que repercute en concreto en la duración del periodo de incubación, que suele ser muy prolongado (Pattison, 1965). No obstante, si se persiste en el intento de transmisión a la nueva especie, mediante nuevos pases, el objetivo puede lograrse a través de un proceso de adaptación que se refleja en una reducción progresiva de la duración del periodo de incubación hasta alcanzar la estabilidad (Priola, 1999).

Al principio, se consideró que el condicionante más importante de la barrera de transmisión era la diferencia entre la estructura primaria de la PrP^{Sc} de la especie que actúa como donante y la PrP^c de la especie hospedadora

(Prusiner *et al.*, 1990; Bartz *et al.*, 1994). Pero más tarde se comprobó que otro condicionante tan importante como el anterior era la cepa priónica que pretendía transmitirse (Baskakov, 2014), lo que podía ocurrir en el caso de cepas de la misma especie (Supattapone *et al.*, 1999; Hill *et al.*, 2000). Incluso algunos investigadores han planteado que la barrera de transmisión está condicionada primordialmente por las características de la cepa transmitida (Scott *et al.*, 2005; Torres *et al.*, 2014).

La utilización de algunas de las nuevas técnicas empleadas en la investigación de priones indica que la barrera de transmisión no es absoluta y que incluso las especies más resistentes no lo son por completo. Es preciso señalar que 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 pases (Torres *et al.*, 2014), y por otra parte, resulta particularmente llamativo que la variante de la enfermedad de Creutzfeldt-Jakob, a pesar de ser una enfermedad priónica humana, mantiene 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). También es preciso señalar que 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 (Bessen and Marsh, 1992).

Factores determinantes de la barrera de transmisión

En las distintas especies animales y en humanos se han descrito numerosos polimorfismos del gen *PRNP*. Dichos polimorfismos consisten en mutaciones puntua-

les, inserciones y deleciones. Las primeras producen el cambio de un nucleótido en un codón y generan cambios en la estructura de la proteína correspondiente. Las inserciones y deleciones de nucleótidos se producen en el extremo N-terminal de la región no estructurada de la PrP^c (Goldmann, 2008).

Dichos polimorfismos han sido muy estudiados por su comprobada influencia en la transmisión de los priones. En particular, en las distintas razas ovinas, en las que se ha demostrado que condicionan la susceptibilidad o resistencia a padecer la enfermedad de scrapie. En esta especie adquieren una particular importancia los polimorfismos de los codones 136, 154 y 171 del gen *PRNP* ovino. El codón 136 codifica los aminoácidos valina (V), alanina (A) o treonina; el codón 154 codifica la arginina (R), histidina (H) o leucina (L) y el 171 la arginina (A), histidina (H), glutamina (Q) o lisina (K). Se sabe que las ovejas que expresan los alelos VRQ o ARQ presentan una gran susceptibilidad al scrapie clásico, en tanto que las que expresan el alelo ARR tienen una gran resistencia. Por otra parte, se conoce que el haplotipo ARR tiene un efecto dominante y por ello los animales homocigotos y heterocigotos poseen un menor riesgo de sufrir el scrapie clásico (Acin *et al.*, 2021).

La susceptibilidad o resistencia a la enfermedad crónica caquetizante también están condicionadas por el genotipo *PRNP*, por lo que asimismo se han identificado diversos polimorfismos en los cérvidos. Un polimorfismo en el codón 132 del gen *PRNP* provoca un cambio de metionina (M) a leucina (L), que ha sido reconocido como protector frente a la enfermedad en el alce de las Montañas Rocosas (*Cervus elaphus nelsoni*) (O'Rourke *et al.*, 1999). En el caso del ciervo de cola blanca (*Odocoileus virginianus*) los polimorfismos más relevantes para la resistencia a la enferme-

dad se atribuyen al cambio en los codones 95 y 96 del gen *PRNP* del aminoácido glutamina (Q) por histidina (H) y de glicina (G) por serina (S). La incidencia de la enfermedad crónica caquetizante es menor en los ciervos que expresan por lo menos una copia de esos alelos (Johnson *et al.*, 2006). El cambio de serina (S) por fenilalanina (F) también ha sido asociado con la resistencia a la enfermedad en el ciervo mula (*Odocoileus hemionus*) (Jewell *et al.*, 2005; Wolfe *et al.*, 2014).

En la especie humana también tiene un efecto similar sobre la susceptibilidad a las enfermedades priónicas el polimorfismo en el residuo 129 (M o V). La incidencia de las formas esporádicas y adquiridas de la enfermedad de Creutzfeldt-Jakob se ve favorecida por la homocigosis del codón 129, que actúa como un factor predisponente para sufrir la enfermedad, lo que también fue observado en el kuru, siendo la incidencia de estas enfermedades considerablemente menor en los individuos heterocigotos (Brandel *et al.*, 2003). El efecto de este polimorfismo es todavía mayor en los casos de la variante de la enfermedad de Creutzfeldt-Jakob, ya que la inmensa mayoría fueron homocigotos para el aminoácido metionina en el codón 129 (Will *et al.*, 2000). Algo parecido se observó en la transmisión experimental en ratones transgénicos (Fernandez-Borges *et al.*, 2017). El polimorfismo humano G127V, presente en personas que no se infectaron en el curso de la epidemia de kuru, se ha considerado un factor genético de resistencia (Mead *et al.*, 2009) y se conoce en la actualidad que continúa proporcionando una gran resistencia frente a las enfermedades priónicas humanas (Asante *et al.*, 2015).

Las cepas transmitidas también condicionan la barrera de transmisión. Así, se ha podido comprobar que existe una potente barrera de transmisión frente a algunas ce-

pas priónicas no relacionadas con la EEB que presentaban una secuencia aminoacídica idéntica a esta (Torres *et al.*, 2014) y, en cambio, la cepa bovina de la EEB clásica fue capaz de transmitirse a varias especies reproduciendo prácticamente la misma enfermedad. Algunas cepas de scrapie se transmiten fácilmente a ratones transgénicos que expresan la PrP^c bovina, sin que ello condicione los periodos de supervivencia en pasajes posteriores (Scott *et al.*, 2005). Por eso, en la actualidad se considera que tanto la cepa priónica como la secuencia de la PrP^c del hospedador son los dos principales factores determinantes de la barrera de transmisión (Collinge, 2001).

Otro factor que afecta a la barrera de transmisión es la vía de acceso de los priones a los hospedadores. Existen varias vías reconocidas, pero en los estudios experimentales se considera que las más eficientes son la vía intracerebral (Kimberlin and Walker, 1988) y también la intraperitoneal, aunque la intracerebral logra proporcionar un título más alto del agente causal (Kimberlin and Walker, 1978). No obstante, en las infecciones naturales la vía oral es la más habitual. González y colaboradores consideran que la vía de entrada del prion no influye en la patogenia de la enfermedad cuando se inocula la misma cepa a animales del mismo genotipo (Gonzalez *et al.*, 2014). Otras investigaciones han indicado que el efecto de la vía de infección influye particularmente sobre la duración del periodo de replicación del prion en el encéfalo. Sin embargo, el efecto de la cepa se ha atribuido a la diferente eficiencia con la que cada cepa alcanza las áreas del encéfalo por las que tiene mayor tropismo, que a su vez está relacionada con la vía de inoculación (Kimberlin and Walker, 1986).

Otro factor que influye en la barrera de transmisión es el grado de glicosilación de la proteína PrP^{Sc}, ya que

afecta a sus patrones de depósito, por lo que se considera que el grado de glicosilación de la PrP^c podría estar relacionado con su capacidad de conversión en la forma patógena PrP^{Sc} (DeArmond *et al.*, 1997; Rudd *et al.*, 1999). La PrP^c puede estar presente bajo tres glicofor-
mas diferentes, la diglicosilada, la monoglicosilada y la no glicosilada. Se ha observado que, cuando la PrP^c y la PrP^{Sc} proceden de especies distintas, la glicosilación de la primera condiciona la cantidad de la PrP^c que puede unirse a la forma patógena, en tanto que el papel de la secuencia de los aminoácidos de la proteína prion estaría relacionado con la cantidad de PrP^{Sc} que puede producirse tras la unión de las dos proteínas (Priola and Lawson, 2001). En un estudio posterior se observó que, al eliminar uno de los sitios de glicosilación de la PrP^c murina, los ratones inoculados eran muy resistentes a la inoculación con cepas priónicas humanas, pero cuando ambos sitios de glicosilación eran eliminados se infectaban fácilmente con el agente del ECJe. Estos resultados demostraron la importancia que tiene la glicosilación de la proteína prion en la barrera de transmisión (Wiseman *et al.*, 2015).

V.
SUSCEPTIBILIDAD Y RESISTENCIA
DE LAS DISTINTAS ESPECIES
A LAS ENFERMEDADES PRIÓNICAS

Desde las primeras identificaciones de las encefalopatías espongiformes transmisibles, se observó que no todas las especies tenían el mismo grado de sensibilidad a estas enfermedades. De hecho, Gibbs y Gajdusek ya hicieron referencia a la distinta susceptibilidad que presentaban diferentes especies al agente causal de este grupo de enfermedades (Gibbs and Gajdusek, 1973) y en 1976 Barlow y Rennie observaron que el conejo era resistente a la inoculación con scrapie (Barlow and Rennie, 1976).

La encefalopatía espongiforme bovina (Wells *et al.*, 1987) no solo fue relevante por lo que supuso el descubrimiento de su potencial de transmisión a la especie humana (Bruce *et al.*, 1997), sino también por su capacidad de transmisión a otras nuevas especies animales en las que anteriormente no se habían identificado casos de encefalopatías espongiformes transmisibles (felinos y otros rumiantes silvestres), lo que demostraba su sensibilidad al agente bovino. Pero también la epidemia causada por la enfermedad bovina permitió comprobar que otras especies eran resistentes a la infección, como fue el caso de los cerdos, que, a pesar de haber estado también expuestos al agente bovino, no desarrollaron la enfermedad natural (Chianini *et al.*, 2013) y sí, en cambio, en las mismas circunstancias, se infectaron las cabras (Eloit *et al.*, 2005; Spiropoulos *et al.*, 2011).

Algunas especies animales han sido consideradas como resistentes o muy poco susceptibles a las enfermedades priónicas. Entre estas se incluyen los lepóridos (Vorberg *et al.*, 2003), los équidos (Khan *et al.*, 2010) y los cánidos (Polymenidou *et al.*, 2008). El caso de la resistencia del conejo a estas enfermedades ha sido el más estudiado y, de hecho, varias investigaciones han pretendido transmitirlos experimentalmente a esta especie (Gibbs and Gajdusek, 1973; Barlow and Rennie, 1976), fracasando en el intento, por lo que los lepóridos han sido considerados como un prototipo de especies resistentes a las enfermedades priónicas (Fernandez-Funez *et al.*, 2011; Zhang, 2011). Pero con la utilización de nuevas técnicas de investigación de los priones como la PMCA se ha comprobado que no son totalmente resistentes a la infección, sino poco sensibles, ya que pueden ser infectados utilizando PrP^{Sc} de conejo generada por PMCA (Chianini *et al.*, 2012).

Los équidos se consideran especies resistentes a las enfermedades priónicas (Bian *et al.*, 2017). A pesar de ello, se han conseguido reproducir en ratones transgénicos que expresan la proteína del caballo PrP^c (TgEq), pero otros experimentos similares no lograron el mismo objetivo. Los cánidos se consideran el grupo de mamíferos más resistente a estas enfermedades, y, de hecho, numerosos estudios realizados *in vitro* e *in vivo* han demostrado la enorme dificultad que supone malplegar la PrP^c del perro (Vidal *et al.*, 2013; Otero *et al.*, 2017; Otero *et al.*, 2019).

Las aves se consideran especies muy resistentes a los priones. De hecho, un estudio de transmisión experimental de distintas cepas de priones a pollos no consiguió reproducir la enfermedad (Moore *et al.*, 2011). Por otra parte, es preciso resaltar que, de la misma manera que

otras especies animales, también las aves consumieron piensos elaborados con harinas de carne y hueso en el transcurso de la epidemia provocada por la encefalopatía espongiiforme bovina y nunca se detectó ningún caso natural. La única referencia existente a una posible neurodegeneración compatible con una encefalopatía espongiiforme en aves ha sido la detección de unos casos de avestruces que evidenciaban síntomas nerviosos, pero cuya causa precisa no llegó a determinarse (Schoon *et al.*, 1991).

Algunas especies de mamíferos son muy sensibles a los priones de forma experimental. De hecho, con posterioridad a la primera transmisión experimental de una enfermedad priónica, llevada a cabo en la década de los años treinta del siglo pasado (Cuille and Chelle, 1936, 1938b), se han realizado numerosos estudios que permitieron comprobar la transmisibilidad de las enfermedades priónicas humanas a primates no humanos (Gajdusek *et al.*, 1966; Gajdusek *et al.*, 1968; Gibbs *et al.*, 1968). Otra de las especies más utilizadas en estudios experimentales es el hámster, por ser un animal muy susceptible a la inoculación experimental de los agentes priónicos, por lo que se ha convertido en un modelo experimental de referencia y fundamental para comprender la patogenia de las enfermedades causadas por priones (Jendroska *et al.*, 1991).

Pero han sido los ratones transgénicos los animales más relevantes para la investigación de este grupo de enfermedades. Al respecto, es preciso indicar que el avance más significativo logrado en este ámbito fue la creación del ratón *knock-out* para el gen *PRNP* (*Prnp^{0/0}*) (Bueler *et al.*, 1992), que sirvió de base para la creación de un gran número de nuevas líneas de ratones transgénicos (Weissmann and Bueler, 2004; Brandner and Jaunmuktane, 2017) de gran utilidad para la investigación sobre enfer-

medades priónicas. Por otra parte, el modelo *Prnp^{0/0}* permitió demostrar que la expresión de la PrP^c es necesaria para que los priones se transmitan (Sailer *et al.*, 1994).

Otras especies animales han servido también como modelos experimentales en las que ha sido posible reproducir enfermedades priónicas humanas y animales. Entre ellas, los hurones (Bartz *et al.*, 1998), mofetas y mapaches (Eckroade *et al.*, 1973), las ovejas cabras, e incluso el cerdo, que se considera un animal muy resistente a las enfermedades priónicas, es susceptible a la infección experimental con el agente responsable de la encefalopatía espongiforme bovina (Hedman *et al.*, 2016), aunque exclusivamente por vía intracerebral, ya que no se ha conseguido transmitir ninguna cepa priónica a esta especie tras la infección oral (Espinosa *et al.*, 2020).

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 de 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, hongos, 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 para los investigadores, que tenemos como objetivo la creación de

conocimiento, de que la ciencia no admite barreras ni fronteras incuestionables y de que los científicos estamos obligados a analizar la realidad con espíritu crítico y objetivo para, usando el método científico, hacer avanzar el saber.

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 fue que una de ellas, la encefalopatía espongiforme bovina, provocó una gran crisis alimentaria en Europa, que tuvo unos efectos devastadores 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 Euro-

pea 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, lo 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 la ingente labor investigadora realizada a nivel internacional, todavía no se ha alcanzado el objetivo principal, que sería lograr una prevención y/o tratamientos eficaces que logran prevenir o contener el avance de las enfermedades causadas por priones y evitar la muerte de las personas afectadas. Esperemos que ello sea posible en un horizonte no lejano.

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). PrP^{Sc} 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., Litaïse, C., Simon, S., Le Dur, A., Laude, H., Simmons, H., Lujan, 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.
- Badiola, J. J., Monleon, E., Monzon, M., Acin, C., Lujan, L., Fernandez, D., Simmons, M., and Vargas, A. (2002). Description of the first cases of BSE in Spain. *Vet Rec*, 151, 509-510.
- 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. *Bio-molecules*, 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., Meyerrett-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*. Jul.7. Doi: 10.1007/s00441-022-03665-2.
- 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 (PrP^c) 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., Pocchiari, 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 poliоencephalopathy (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.
- 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.
- 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 séances de l'Académie des Sciences*(203), 1552-1554.

- Cuille, J., and Chelle, P. L. (1938a). La tremblante du mouton est-elle déterminée par un virus filtrable? *Comptes rendus hebdomadaires des séances de l'Académie des Sciences*(206), 1687-1688.
- Cuille, J., and Chelle, P. L. (1938b). Le tremblante du mouton est bien inoculable. *Comptes rendus hebdomadaires des séances de l'Académie des Sciences*(206), 78-79.
- 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 and 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., Culpier, 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 (PrP^{Sc})

- 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 expe-

- rimentially 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). The scrapie-kuru connection: recollections of how it came about. In: Prusiner, S. B., Collinge, J., Powell, J., and Anderton, B. (Eds.). Prion diseases of humans and animals. Ellis Horwood, New York, 40-46.
- 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., Andreoletti, 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 USA*, 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 Chakrabarty, 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 PrP^{Sc} 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.
- Ligios, 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., 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 Kretschmar, 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 and 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., Miranda, C., Torchia, M., Yang, S. L., Serban, D., Carlson, G. A., et al. (1990). Transgenic studies implicate interactions between homologous prp isoforms in scrapie prion replication. *Cell*, 63(4), 673-686.

- Rábano, A. (2010). Encefalopatías espongiiformes transmisibles en la especie humana. In: Badiola Diez J. J., y Pumarola i Batlle, M. (Eds.). *Encefalopatías espongiiformes transmisibles*. Mayo Ediciones, Barcelona, 129-144.
- 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., 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 in-

- fection 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.
- 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.
- 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.
- Wilson, D. R., Anderson, R. D., and Smith, W. (1950). Studies in scrapie. *J Comp Pathol*, 60(4), 267-282.
- 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 PrP^c 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., Squirrel, 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 en-

- cephalopathies (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., Benvivoglio, 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., Varges, 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., Bode-mer, 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.

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, 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 de 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 (EE. UU.) junto al Prof. Norman Cheville.

Pero sobre todo quiero dar las gracias 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 Monzón, Rosa Bolea y Cristina Acín, y la colaboración adicional de Inmaculada Martín y Bernardino Moreno. Juntos, como Centro Nacional y Autónomo 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 hecho posible 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, Óscar López, Moisés Garcés, 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, 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 por 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

Introducción	9
I. Enfermedades priónicas humanas y animales	13
Las enfermedades priónicas humanas	17
Las enfermedades priónicas animales	28
II. El agente causal	37
Conversión de la PrP ^c en PrP ^{sc}	44
Las cepas priónicas	46
III. Patogenia y transmisión	51
IV. La barrera de transmisión	67
Factores determinantes de la barrera de transmisión	68
V. Susceptibilidad y resistencia de las distintas especies a las enfermedades priónicas	73
Consideraciones finales	77
Referencias bibliográficas	81
Agradecimientos	103

*Este libro se terminó de imprimir
en los talleres del Servicio de Publicaciones
de la Universidad de Zaragoza
el 14 de septiembre de 2022*

COLECCIÓN PARANINFO
PRIMA LECTIO



STVDIVM
GENERALE
CAESARAV-
GVSTANAE
CIVITATIS



Universidad Zaragoza