

**UNIVERSIDAD AUTONOMA AGRARIA
ANTONIO NARRO**

UNIDAD LAGUNA

DIVISIÓN REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL



“PRIONES”

POR

RODRIGO ESTEBAN SEREY GALLARDO

MONOGRAFÍA

**PRESENTADA COMO REQUISITO PARA OBTENER
EL TÍTULO DE**

MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

TORREÓN, COAHUILA, MÉXICO

JUNIO DE 2007

**UNIVERSIDAD AUTONOMA AGRARIA
ANTONIO NARRO**

UNIDAD LAGUNA

DIVISIÓN REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL

“PRIONES”

MONOGRAFÍA

APROBADA POR EL COMITÉ REVISOR

PRESIDENTE DEL JURADO

MC. José de Jesús Quezada Aguirre

**COORDINADOR DE LA DIVISIÓN REGIONAL DE
CIENCIA ANIMAL**

MC. José Luis Francisco Sandoval Elías

**UNIVERSIDAD AUTONOMA AGRARIA
ANTONIO NARRO**

UNIDAD LAGUNA

DIVISIÓN REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL

“PRIONES”

**MC. JOSÉ DE JESÚS QUEZADA AGUIRRE
PRESIDENTE**

**IZ. JORGE HORACIO BORUNDA RAMOS
VOCAL**

**MVZ. RODRIGO ISIDRO SIMÓN ALONSO
VOCAL**

**MVZ. CUAUHEMOC FELIX ZORRILLA
VOCAL SUPLENTE**

Agradecimientos

- * A Dios por iluminarme día tras día.
- * A los Estados Unidos Mexicanos que me acogió durante estos 5 años.
- * A mis padres Luis y Adelaida que nunca cesaron de apoyarme a pesar de las adversidades.
- * Mis hermanos Luis y Claudia, que han estado conmigo en los buenos y malos tiempos.
- * A todos los profesores y compañeros que de una manera u otra estuvieron conmigo durante todo este tiempo, apoyando y escuchándome en mis momentos de tristeza y soledad.
- * Alejandra, por aguantar todos mis errores y continuar en este camino.
- * Benjamín Alonso Serey Ibarra..... gracias por existir en mi vida hijo.

Indice

| | |
|--|----|
| Introducción..... | 1 |
| 1. Los priones y su biología..... | 2 |
| 1.1 La estructura y la expresión del gen de PrP..... | 3 |
| 1.2 La proteína celular del prion..... | 4 |
| 1.3 Las formas patológicas de la proteína del prion..... | 5 |
| 1.4 La replicación de los priones..... | 6 |
| 1.5 La barrera de especies..... | 8 |
| 1.6 La variabilidad resultado de una multiplicidad conformacional..... | 8 |
| 2. Encefalopatías espongiformes transmisibles en animales..... | 9 |
| 2.1 Encefalopatía espongiforme de ovejas y cabras (scrapie)..... | 11 |
| 2.2 Encefalopatía espongiforme bovina (BSE)..... | 13 |
| 2.3 Encefalopatía transmisible del visón (TME)..... | 15 |
| 2.4 Enfermedad del desgaste crónico (CWD)..... | 17 |
| 2.5 Encefalitis espongiforme felina (FSE)..... | 19 |
| 4. Bibliografía..... | 21 |

Introducción

Las primeras referencias a las enfermedades espongiformes transmisibles se remontan al siglo XVIII, cuando ganaderos europeos describieron una enfermedad neurodegenerativa letal que afectaba a ovejas y cabras, mal al que se denominó tembladera (en inglés, scrapie). El cerebro de estos animales presentaba un aspecto de esponja, de donde proviene el término "espongiforme". A principios del siglo XX se describieron los primeros casos de encefalopatía espongiforme en el hombre, y la enfermedad fue bautizada como enfermedad de Creutzfeldt-Jakob. Posteriormente se demostró que estas enfermedades eran transmisibles. El agente patógeno, el prión, fue descubierto en 1982 por Stanley Prusiner, quien demostró que se trataba de partículas puramente proteicas sin ácido nucleico. En 1997 le fue otorgado el Premio Nobel de Fisiología o Medicina.

Prusiner sometió los priones a distintos tratamientos para alterar las proteínas o los ácidos nucleicos intentando alterar su capacidad infecciosa. Observó que perdían infectividad si se trataban con fenol (agentes desnaturizantes de proteínas pero no de ácidos nucleicos), aunque eran resistentes a algunos de los procesos de degradación proteica (como las enzimas proteasas). Sin embargo, si los sometía a la acción de enzimas que atacaban a los ácidos nucleicos (nucleasas para ADN y ARN), radiación UV o a la modificación con hidroxilamina, las partículas no perdían infectividad. Estos estudios indicaron que los priones eran partículas patógenas de naturaleza proteica y sin ácido nucleico. Prusiner consiguió, más adelante, infectar con el prión de la tembladera PrP^{Sc} (que causa el prurito lumbar en ovejas) a ratones, consiguiendo un modo para reproducirlos, obtenerlos y estudiarlos posteriormente más a fondo.

1. Los Priones y su biología

Los priones son los agentes causantes de un grupo de patologías neurodegenerativas letales características de mamíferos, también conocidas como encefalopatías espongiformes transmisibles. Estos agentes son capaces de propagarse dentro de un mismo huésped causando una lesión espongiforme y de transmitirse de huésped a huésped con elevados tiempos de incubación. A diferencia de virus y viroides, son resistentes a tratamientos inactivantes de ácidos nucleicos, pero comparten con éstos la existencia de una variabilidad de inóculos dentro de la misma especie (diferenciables por el patrón de la lesión y la magnitud del tiempo de incubación) y de una infectividad sujeta a barrera de especie (Chandler, 1961; Alper y cols., 1967; Hunter, 1972; Prusiner, 1982; Bruce y Fraser, 1991; Bessen y Marsh, 1992).

La búsqueda de la entidad molecular constitutiva de este agente reveló como componente mayoritario, si no único, una proteína: PrP^{Sc}, proteína del prion de scrapie), y la ausencia de un ácido nucleico específico (Prusiner 1982, 1991). Con estas premisas estructurales unidas a la capacidad de infección, Prusiner acuña el término prion (partícula infecciosa de naturaleza proteica) para diferenciarlo de virus y viroides. Dadas las características poco convencionales de los priones se han elaborado numerosas hipótesis sobre su estructura (Dickinson y Outram, 1988; Prusiner, 1991; Weissmann, 1991). En la actualidad la hipótesis con mayor grado de aceptación es la conocida como "sólo proteína", delineada inicialmente por Griffith (1967) y, formalmente enunciada y actualizada por Prusiner (1991, 1997). Tras la descripción de proteínas de diferente secuencia pero similar comportamiento en levadura así como los avances interdisciplinarios realizados en el conocimiento de estos agentes en la última década, el concepto de prion ha sido acotado adquiriendo una definición más precisa y generalizable (Wicker y Masison, 1996; Lindquist S., 1997; Prusiner, 1997). Así, se denomina prion a la forma alterada de una proteína celular funcional (PrP en mamíferos) que ha podido perder su función normal pero que ha adquirido la capacidad de transformar la forma normal en patológica.

1.1 La estructura y la expresión del gen de PrP.

La proteína del prion, identificada originalmente en roedores infectados con scrapie, está codificada por un gen cromosómico de copia única (Chesebro y cols., 1985; Oesch y cols., 1985). Este gen se encuentra altamente conservado y se ha identificado en más de 13 especies de mamíferos. Generalmente está compuesto por dos exones no traducidos en 5' separados por un intron de ~2 kb, que tras splicing quedan unidos al exon 3 que contiene la region codificante (750 bp). El codon de iniciación se localiza a 10 nucleótidos 3' del sitio aceptor de splicing lo que imposibilita la interrupción del mensaje y la existencia de formas alternativas. Experimentos de clonaje han permitido obtener todo un conjunto de mutaciones ligadas a patologías hereditarias, perfilar posiciones polimórficas y describir una rica variedad de mutaciones sin sentido en distintas especies (Prusiner, 1997; Lee y cols., 1998).

La incertidumbre reinante sobre PrP y su maleabilidad conformacional dictó la búsqueda de genes vinculados y elementos reguladores que pudieran desempeñar un papel activo. Así, las 145 kb del DNA de los genes humano y ovino de PrP y dos alelos de Prn-p se analizaron en detalle en búsqueda de regiones conservadas, ORFs, exones potenciales, secuencias repetitivas, posibles islas CpG y motivos polimórficos. Hasta la fecha no ha sido posible identificar ningún gen relacionado (por ejemplo de carabinas moleculares, etc) en la proximidad pero si se han observado algunas características no esperadas dentro de los genes salvajes de PrP. En este sentido, el alelo predominante del gen de ratón, Prn-pa, encontrado en 44 cepas de laboratorio contiene 6878 nucleótidos de un genoma retroviral insertado en la cadena complementaria del intron 2. Este elemento IAP está flanqueado por duplicaciones del motivo AAGCTT encontrado en el gen Prn-pb y altamente relacionado con el transposón prototipo IAP prototipo y diferenciándose principalmente en una pequeña delección del gen de la polimerasa. Estos datos indican un origen transposicional reciente. En el caso del gen de oveja, la región no traducida 3'(UTR), particularmente larga, refleja mayoritariamente la presencia de un transposón fosil de tipo "mariner" de 1.2 kb, ausente en los genes de ratón y humano. La inestabilidad cromosómica asociada a la presencia de elementos de tipo "mariner" en el cromosoma 17 humano sugiere que las posiciones adyacentes al gen ovino de PrP y, por similitud, en el bovino son competentes para reorganizaciones de DNA. Por último el intron grande del gen humano contiene una secuencia análoga al exon 2 de los genes de

raton y de oveja, flanqueados por sitios consenso aceptores y donantes de splicing, si bien queda por establecer hasta que punto las secuencias tipo exon 2 están incluidas en algún subconjunto de los mRNAs de la PrP humana. Estos datos indican que la organización base del gen ancestral de PrP, previo a la especiación de mamíferos, fuese de 3 exones.

Con respecto a la expresión del gen de PrP ésta ocurre constitutivamente en tejidos neuronales y no neuronales de animales adultos, detectándose los niveles más altos en neuronas (Kretzschmar y cols., 1986). En cerebros animales, la síntesis de mRNA de PrP ocurre constitutivamente en estados adultos, pero durante el desarrollo se encuentra bajo un control riguroso (Chesebro y cols., 1985; Oesch y cols., 1985). En el septum, los niveles de los mRNA de PrP y de acetilcolinesterasa aumentan paralelamente durante el desarrollo (Mobley y cols., 1988). Los niveles más altos de PrP^C se encuentran en cerebro, particularmente en el hipocampo, existiendo niveles significativos en corazón y músculo esquelético y, más bajos en la mayoría de los órganos restantes excepto en hígado y en páncreas (Prusiner, 1997).

1.2 La proteína celular del prion

El producto traducido a partir del mRNA es una cadena polipeptídica de alrededor de 250 aminoácidos, dependiendo de la especie, en la que se distinguen una secuencia señal N-terminal de 22 residuos, una serie de repeticiones de un octapéptido PHGGGWGQ, cuatro segmentos altamente conservados en las posiciones 109-122, 129-140, 178-191 y 202-218, una región hidrofóbica C-terminal (Schätzl y cols., 1994; Prusiner, 1997). Esta cadena sufre un proceso de maduración covalente complejo que supone: la escisión proteolítica de los péptidos señal, la adición C-terminal de un glicanfosfatidilinositol (GPI), la formación de un enlace disulfuro intramolecular y, por último, una doble glicosilación en los residuos de Asn 181 y 197 (Prusiner, 1991).

PrP^C es una proteína capaz de unir específicamente Cu²⁺, para la cual se postula un papel activo en la homeostasis de este catión implicado en procesos de oxido-reducción (Brown y cols., 1997; Stöckel y cols, 1998). La estructura secundaria de PrP^C, solubilizada en detergentes y en ausencia de cationes, es mayoritariamente helicoidal mientras que la formación del complejo conlleva un aumento del contenido en estructuras extendidas (Pan

y cols., 1993; Stöckel y cols., 1998). Estudios espectroscópicos de alta resolución con formas recombinantes en ausencia de ligando han puesto de manifiesto que PrP está constituida por dos dominios, el N-terminal altamente desestructurado y el C-terminal globular (Donne y cols., 1997; Riek y cols., 1997).

Con respecto al metabolismo celular de PrP^C, estudios de translocación in vitro han identificado tres formas topológicas de PrP: una forma de secreción (coincidente con la anclada por GPI) y dos formas transmembranas que difieren en su orientación (el N-terminal luminal y el C-terminal luminal) (Hedge y cols., 1998). La forma de secreción es transportada en vesículas de secreción a la superficie exterior celular donde queda anclada a través del GPI en dominios particulares (Stahl y cols., 1987; Taraboulos y cols., 1992). Una vez allí, algunas moléculas son liberadas al espacio extracelular por escisión del GPI mientras que la mayoría es internalizada en el compartimento endocítico (Shying y cols., 1993). Estas últimas bien son recicladas hacia la superficie celular o bien sufren una ruptura proteolítica en la mitad del N-terminal cuyos productos son expulsados al exterior celular (Shying y cols., 1993). El metabolismo de las formas transmembrana no se conoce con exactitud, pero la acumulación por encima de un umbral de las formas con el C-terminal luminal se correlaciona con la aparición estados neuropatológicos (Hedge y cols., 1998).

1.3 Las formas patológicas de la proteína del prion.

En las patologías de priones PrP^C se transforma post-traduccionamente en una isoforma generalmente denominada PrP^{Sc} (Prusiner 1991, 1997). Esta conversión, que tiene lugar en dominios de tipo caveola, se caracteriza por un cambio drástico en las propiedades físicas y químicas de la molécula (Caughey y Raymond, 1991; Taraboulos y cols., 1992; Prusiner, 1997). PrP^C es soluble en detergentes mientras PrP^{Sc} forma unos agregados amorfos insolubles. PrP^C se libera de la membrana en forma soluble por digestión con PIPLC, mientras que PrP^{Sc} no es susceptible a la acción enzimática requiriendo un tratamiento desnaturizante previo para la eliminación del GPI. PrP^C es sensible a la acción de proteasas y PrP^{Sc}, por el contrario, sufre una proteólisis limitada generando la forma truncada en el extremo N-terminal que agrega en forma de amiloides y retiene la

infectividad. (Prusiner, 1991; Ghetti y cols., 1996). No obstante, existen estados patológicos en los que no ha podido detectarse PrP^{Sc} en términos de resistencia a proteasas pero la descripción reciente de formas transmembrana podría estar implicada en estos casos (Hedge y cols., 1998).

Las modificaciones post-traduccionales de carácter covalente no parecen ser la causa directa del proceso de conversión pero sí de su modulación. De esta forma, el GPI determina la posibilidad de conversión ya que ésta ocurre en dominios especializados de membranas donde se confinan las proteínas ancladas por GPI (Taraboulos y cols., 1995). Por otra parte, la glicosilación va a determinar el tráfico intracelular de la proteína (DeArmond y cols., 1997)

Los estudios espectroscópicos han permitido establecer que la estructura secundaria de PrP^{Sc} dispersada en detergentes, a diferencia de la de PrP^C, presenta como elemento mayoritario la cadena β estabilizada en láminas y que el comportamiento amiloídico está vinculado a la presencia de láminas β intermoleculares (Caughey y cols., 1991; Pan y cols., 1993). Esta dualidad conformacional hélice α -lámina β parece localizarse principalmente en la región 106-126, que en forma de péptido sintético es un neurotóxico potente (Gasset y cols., 1992; Forloni y cols., 1993).

1.4 La replicación de los priones.

El mecanismo mediante el cual se propagan los priones no se conoce con precisión. Aunque algunos investigadores siguen postulando la necesidad de un ácido nucleico específico de priones, no existen evidencias físicas ni químicas de su existencia. En el caso de existir, cabe esperar que dicha molécula dirija la replicación de priones empleando una estrategia similar a la de los virus.

La multiplicación de la infectividad de priones es un proceso exponencial que implica obligatoriamente la conversión post-traduccionales de PrP^C o de un precursor en un conformero distinto, PrP^{Sc}. El nivel de expresión de PrP^C es directamente proporcional a la velocidad de formación de PrP^{Sc} y, por tanto, inversamente proporcional a la longitud del tiempo de incubación. El proceso de propagación de un prion se inicia con la interacción de la PrP^{Sc} exógena con PrP^C o con una forma parcialmente

desnaturalizada de ésta, PrP* (Scott y cols., 1989; Kocisko y cols., 1994). El reconocimiento de PrP^{Sc} ocurre a través de la región 96-167, siendo necesaria pero insuficiente la identidad de secuencia (Scott y cols., 1993; Büeler y cols., 1993; Telling y cols., 1995). Por otra parte, mutaciones puntuales y variaciones en la longitud de la cadena polipeptídica de PrP^C así como alteraciones metabólicas pueden desembocar en situaciones patológicas (Hsiao y cols., 1989; Westaway y cols., 1994; Prusiner, 1997).

Con estas premisas experimentales se han elaborado dos modelos en los cuales se traduce la infectividad en términos de un proceso de autopropagación de la conformación de PrP^{Sc} que incluye una etapa controlada cinéticamente. El "modelo de desnaturalización-renaturalización catalizada" (Prusiner y cols., 1996) asume que el cambio conformacional es la etapa limitante del proceso ya que supone una desnaturalización y renaturalización de la cadena polipeptídica y lo asemeja a una reacción catalizada enzimáticamente: 1) PrP^C es el sustrato y PrP^{Sc} el producto de la reacción; 2) la velocidad de la reacción, manifestación inversa del tiempo de incubación, depende de la concentración de sustrato; 3) PrP^{Sc} es un efector alostérico que regula la conversión de PrP^C en PrP^{Sc}; 4) un análogo de sustrato, como una molécula de PrP^C de distinta especie, puede retrasar la conversión actuando como inhibidor competitivo. El "modelo de polimerización nucleada por condensación no covalente" (Kocisko y cols., 1995) supone que el cambio conformacional está ligado a un equilibrio de asociación, de manera que ambas conformaciones existen en equilibrio pero la estabilización de la isoforma patológica ocurre a través de la formación de un núcleo que constituye la etapa lenta del proceso. Una vez constituido el núcleo, éste crece por adiciones sucesivas y rápidas de nuevas moléculas disparándose el proceso. Ambos modelos justifican las tres variantes patológicas. Las patologías infecciosas serían el resultado de la presencia exógena de PrP^{Sc}, es decir del catalizador o efector o del núcleo. Las patologías hereditarias ocurrirían por una desestabilización de la estructura de PrP^C o una estabilización de la estructura de PrP^{Sc} favoreciendo la población del estado patológico. Por último, las enfermedades esporádicas, aunque de etiología desconocida, podrían surgir por alteraciones metabólicas o bien mutaciones espontáneas que conlleven la formación de PrP^{Sc}. Ambos fenómenos aún ocurriendo en una única célula podrían desencadenar la formación de PrP^{Sc} y su autopropagación, que se extendería por el sistema nervioso central.

1.5 La barrera de especies.

La transmisión de priones entre distintas especies es un proceso estocástico (Pattison, 1966). En el caso de ocurrir, este proceso es muy poco eficaz y sucede con una prolongación del tiempo de incubación que tras pases subsiguientes, o adaptación, se acorta y estabiliza y la transmisión deja de ser un proceso probabilístico. Los priones sintetizados de novo reflejan la secuencia del gen de la PrP del huésped (PrP endógena). Los estudios pioneros de Scott y cols. (1989) pusieron de manifiesto que la barrera de especie era la manifestación de las restricciones de secuencia de un proceso de reconocimiento molecular. Así, la infección ocurre a través de un complejo PrP^C-PrP^{Sc}, cuya formación está gobernada por el grado de identidad de secuencia entre la proteína endógena y la exógena (Scott y cols., 1989; 1993). La identidad en el segmento 96-167 es necesaria pero insuficiente (Scott y cols., 1993; McKenzie y Marsh, 1996; Telling y cols., 1995). postulándose la existencia de un factor adicional o proteína X implicado en el reconocimiento de la región C-terminal (215-230) de PrP^C. Así, al igual que la interacción de PrP^C con PrP^{Sc} es más eficaz cuanto mayor es la identidad de secuencia en la región 96-167, la interacción de PrP^C con la proteína X es máxima cuando ambas son de la misma especie. Esta proteína X podría ser PrP^{Sc} si esta última hiciese las veces de ligando bidentado (Telling y cols., 1995).

1.6 La variabilidad resultado de una multiplicidad conformacional.

Uno de los aspectos más llamativos del campo de los priones es su multiplicidad. Este fenómeno fue descrito en 1968 por Dickinson y cols., quienes aislaron distintos tipos o inóculos de priones de scrapie de oveja. Estos inóculos, se diferenciaban en los tiempos de incubación y en el patrón de la lesión del SNC causada en líneas establecidas de animales de experimentación (Dickinson y cols., 1968; Bruce y Fraser, 1991; Hecker y cols., 1992; DeArmond y cols., 1993). Las proteínas aisladas de cada inóculo son indistinguibles con respecto a la estructura primaria pero difieren en el grado de glicosilación y en el tamaño del producto de proteólisis limitada, es decir en la conformación, (Collinge y cols., 1996; McKenzie y cols., 1996; Telling y cols., 1996). Estas diferencias son transmisibles a PrP^C por interacción directa en condiciones de desnaturalización parcial e in vivo, y por lo tanto, difícilmente pueden

justificarse en términos de una modificación covalente diferencial (Bessen y cols., 1995). Así, la existencia de inóculos parece en una multiplicidad conformacional, bien en la estructura secundaria o bien en las de orden superior.

2. Encefalopatías espongiformes transmisibles en animales

Las encefalopatías espongiformes transmisibles (TSE) pertenecen a un grupo de enfermedades neurodegenerativas en animales y en el hombre que pueden transmitirse experimentalmente. La etiología de las TSE naturales en animales es, en la mayoría de los casos, desconocida. Su transmisión puede ser horizontal o vertical y en algunos casos existen factores genéticos implicados. La tabla 1 muestra las encefalopatías espongiformes de este tipo que se conocen en la actualidad y que afectan a los animales.

Tabla 1. Encefalopatías espongiformes transmisibles de animales

| Nombre de enfermedad | la Huésped natural | Prion | Abreviatura de la PrP patogénica | Abreviatura alternativa de la PrP |
|---|-------------------------------|-------------|----------------------------------|-----------------------------------|
| • scrapie | Oveja y cabra | Scrapie | ShePrP ^{Sc} | ShePrP ^{Sc} |
| • encefalopatía transmisible del visón | Visón | Prion TME | MkPrP ^{Sc} | MkPrP ^{TME} |
| • enfermedad del desgaste crónico (CWD) | Ciervo mula y alce | Prion y CWD | MDePRP ^{Sc} | MDePRP ^{CWD} |
| • encefalopatía espongiforme bovina (BSE) | Vaca | Prion BSE | BovPrP ^{Sc} | BovPrPB ^{Sc} |
| • encefalopatía espongiforme felina (FSE) | Gato | Prion FSE | FePrP ^{Sc} | FePrP ^{FSE} |
| • encefalopatía de ungulados exóticos (EUE) | Antílope (nyala y kudu mayor) | Prion y EUE | NyaPrP ^{Sc} | NyaPrP ^{EUE} |

2.1 Encefalopatía espongiforme de ovejas y cabras (scrapie)

Historia

El scrapie es una enfermedad neurodegenerativa del sistema nervioso central que afecta a las ovejas y a las cabras. La enfermedad se conoce en Gran Bretaña y en otros países de Europa occidental desde hace unos 250 años y posteriormente ha sido descrita prácticamente en todo el mundo. Únicamente Australia y Nueva Zelanda parecen encontrarse en la actualidad libres de esta enfermedad. En 1936 la patología se pudo reproducir experimentalmente en Francia (Cuillé y Chelle, 1939) mediante la inyección intraocular, en ovejas sanas, de médula espinal procedente de una oveja enferma. De esta forma se pudo constatar el largo tiempo de incubación necesario para la aparición de los síntomas (entre 14 y 22 meses). En 1939, en Inglaterra, se confirmó la transmisibilidad del agente causante del scrapie (Gordon, 1966) sospechándose que debía estar implicado un agente de naturaleza viral. A principios de los años cincuenta se hizo patente la naturaleza atípica del supuesto patógeno por su extraordinaria resistencia a agentes fisicoquímicos que normalmente inactivan a los virus (Patisson, 1992). En esta época se constató la diferente susceptibilidad al scrapie entre distintas razas de ovejas y en 1965 se estableció el concepto de la barrera interespecífica en la transmisión del scrapie (Patisson, 1965). A partir de entonces se puso en duda la existencia de un ácido nucleico específico (Alper, 1966), proponiéndose la asociación del scrapie con una pequeña proteína básica (Patisson y Jones, 1967) y especulándose sobre la posible replicación de las proteínas (Griffith, 1966). Finalmente, en 1982 se propuso la hipótesis del prion como una partícula infecciosa de naturaleza proteica responsable del scrapie (Prusiner, 1982).

Sintomatología

La sintomatología del scrapie varía ampliamente en cada animal afectado, posiblemente debido a diferencias en la región cerebral afectada, y tiene un desarrollo muy lento. Los signos clínicos más tempranos incluyen cambios en el comportamiento y en el temperamento de los animales afectados. Estos cambios son seguidos por la tendencia del animal a rascarse y frotarse contra objetos fijos, aparentemente con el objetivo de aliviar el picor. Otros signos son la pérdida de coordinación (ataxia cerebelar), excesiva ingesta de líquido (polidipsia), pérdida de peso (a pesar de la retención del apetito), mordeduras en las patas, chasqueo de labios, y anomalías en el movimiento acompañadas de temblores y convulsiones.

Epidemiología

Se piensa que el agente causante del scrapie se puede transmitir tanto a la propia descendencia de la oveja afectada como a otros corderos de un mismo rebaño a través del contacto con la placenta y otros fluidos placentales. Los síntomas de la enfermedad aparecen normalmente entre los 2 y 5 años de edad. Las ovejas pueden vivir entre 1 y 6 meses tras la aparición de los síntomas clínicos pero la muerte es inevitable (Stamp, 1962; Dickinson, 1964). Ciertas variaciones genéticas entre las distintas razas de ovejas pueden determinar si el animal contraerá la enfermedad y la rapidez con que aparecerán los primeros síntomas. Se identificó un gen (Sip) que controla los tiempos de incubación de scrapie en ovejas de raza Cheviot y Swaledale (Dickinson y Outram, 1988). Aquellos individuos con alelos determinantes de tiempos de incubación cortos desarrollan scrapie entre los dos y cinco años de edad mientras los que poseen alelos de tiempo largo mueren antes por causas naturales que por scrapie. En estos casos el periodo de incubación podría ser de más de ocho años por lo que se desconoce si estos individuos pueden contribuir a la transmisión de la enfermedad.

Patología

Macroscópicamente los cerebros de los animales infectados aparecen normales, mientras que microscópicamente se detecta astrogliosis, vacuolización intracelular y pérdida neuronal (Beck et al, 1969). El análisis cuantitativo de la astrocitosis y los cambios espongiiformes no manifiesta ningún tipo de correlación entre la gliosis y la gravedad de las lesiones vacuolares. Ambos cambios parecen, por lo tanto representar respuestas primarias independientes (Georgsson et al., 1993). Se han descrito también alteraciones en páncreas (Carp et al., 1989; Ye et al., 1994)

2.2 Encefalopatía espongiiforme bovina (BSE)

Historia

En abril de 1985 se observó por primera vez en una granja del sur de Inglaterra, una vaca frisona adulta con un síndrome neurológico, que fue descrito como "hipersensibilidad crónica con síndrome de descoordinación". En este animal se describió un cambio de carácter acompañado de comportamientos agresivos. Siete meses después, y hasta febrero del año 86, en el mismo rebaño se dieron nueve casos más con el mismo rango de síntomas clínicos. En noviembre de ese mismo año, el análisis histopatológico del cerebro de estos animales mostró una gran similitud existente con los cerebros de animales infectados por scrapie. Desde entonces un tipo similar de encefalopatía espongiiforme se diagnosticó en varias vacas más e incluso en un antílope africano (Nyala). Hasta 1997 se han contabilizado 170.000 casos de BSE en Gran Bretaña. La importancia de la BSE, aparte de las consecuencias económicas para la industria derivada de la explotación de ganado vacuno, aumentó al considerarse el riesgo potencial que constituía para el hombre. Este riesgo se vio confirmado en 1995 cuando dos adolescentes murieron en Inglaterra con síntomas de la enfermedad de Creutzfeld-Jakob (CJD). Desde entonces 27 personas han muerto de lo que se conoce actualmente como la variante nueva de la enfermedad de Creutzfeld-Jakob (vCJD) cuyo agente transmisible parece ser indistinguible del de la BSE (Pattison, 1997).

Sintomatología

Los signos clínicos de la BSE aparecen típicamente entre los 4 y 5 años de edad como una aprehensión progresiva, hiperestesia y descoordinación del paso con una duración de 1 a 6 meses antes de la muerte (Wilesmith et al., 1992 a y b).

Epidemiología

La BSE se pudo originar por la transmisión del agente de scrapie desde la oveja hasta la vaca a través de una cadena alimentaria mediante el empleo

de piensos suplementados con proteína de origen ovino cuyo proceso de fabricación había sido modificado poco tiempo antes (Wilesmith et al, 1988). Otra posible explicación establecería el origen de la enfermedad en los piensos contaminados con proteína procedente de animales salvajes en cautividad e infectados con algún tipo de encefalopatía espongiforme transmisible. Tras la transmisión inicial entre especies, el alimento contaminado por el agente causante de la BSE pudo contribuir al desarrollo de la epidemia. En 1988 Gran Bretaña y, posteriormente, otros países prohibieron la alimentación de rumiantes con piensos suplementados con proteína de rumiante. Actualmente existen indicios que sugieren que la epidemia se encuentra en declive. No se conoce, sin embargo, si la BSE es endémica del ganado vacuno, es decir, si la transmisión horizontal entre animales puede ocurrir de modo que la epidemia se mantenga a un bajo nivel.

Patología

La patología de la BSE es muy parecida a la del scrapie de la oveja; los cambios más notorios consisten en astrogliosis, vacuolización intracelular, pérdida de neuronas y formación de placas amiloides ocasionales. La ausencia de variación observada en los patrones de vacuolización del tejido encefálico en el ganado afectado, tanto procedente de casos naturales como de infecciones experimentales, sugiere la posibilidad de que una única cepa de prion pudiera ser la causante de la epidemia de BSE (Wells et al., 1992).

2.3 Encefalopatía transmisible del visón (TME)

Historia

La encefalopatía transmisible del visón es una enfermedad rara que afecta al sistema nervioso central de visones criados en granjas. Se detectó inicialmente en los Estados Unidos en 1947. En este país no se volvieron a producir nuevos brotes de TME hasta principios del año 1960. Desde entonces se han descrito nuevos casos en Canadá, Europa occidental y en repúblicas de la antigua Unión Soviética (Marsh, 1992).

Sintomatología

La TME tiene un periodo de incubación promedio de unos 7 meses antes de la aparición de los síntomas clínicos. Estos síntomas pueden permanecer entre 3 días y 6 semanas. Los signos más tempranos suelen ser bastante sutiles e incluyen un aumento de la suciedad de la madriguera y la dispersión de residuos por toda la jaula. Además los visones pueden pisar a menudo su propia comida o comer con dificultad. Conforme la enfermedad progresa, el animal enfermo se muestra más excitado, y suele arquear su cola sobre la espalda como una ardilla. Estos animales afectados pueden manifestar una descoordinación severa, dificultades al caminar y espasmos pronunciados de los miembros traseros. Los casos más avanzados incluyen tendencia a efectuar vueltas rápidas, masticación compulsiva de la cola y apretamiento de la mandíbula. Raramente ocurren ataques. Cerca de la muerte, los visones afectados se encuentran adormecidos y no responden a estímulos externos. No se observan cambios visibles en el cuerpo tras una necropsia.

Epidemiología

Los estudios epidemiológicos han sugerido que los animales contrajeron la enfermedad tanto por exposición externa al agente infeccioso, como por la

ingestión de alimento contaminado aunque no se ha confirmado su procedencia. No hay ninguna evidencia de que el agente de la TME se contagie por contacto entre especies de visones no relacionadas o por la alimentación de la madre a las crías. La enfermedad se ha detectado en ambos géneros y fases de desarrollo de los animales mayores de un año. El brote más reciente de TME ocurrió en Wisconsin en 1985. En este caso se trazó como posible causa la alimentación a base de proteína procedente de vacas y caballos. En relación a este hecho, se comprobó que la inoculación experimental de cerebro de visón infectado en vacas Holstein provocó la aparición de encefalitis espongiforme al cabo de 18 meses. Estos cerebros de vacas experimentalmente infectadas fueron altamente patogénicos para el visón pues producían enfermedad a los 4 meses de la inoculación intracraneal y a los 7 meses tras la exposición oral. Estos resultados indican que existe poca o nula barrera interespecífica entre el ganado vacuno y el visón. Experimentalmente se demostró también que la patogenicidad de diferentes cepas de scrapie en el visón es muy variable.

Patología

Tanto la infección natural como la experimental se caracterizan por microvacuolización de la materia gris en el cortex cerebelar, cuerpo estriado y cerebro medio (Burger y Hartsough, 1965). Los animales homocigotos recesivos para el gen aleutiano (aa) manifiestan un menor grado de degeneración espongiforme, aunque el tiempo de incubación y otros indicadores clínico-patológicos permanecen similares a los de visones Aa o AA. Dado que el fenotipo aa está ligado a un desorden hereditario en la estructura y función de los lisosomas estos animales aa constituyen un modelo adecuado para el estudio del papel de los lisosomas en la modificación de la forma PrP^C hacia la forma patógena PrP^{TME} (Marsh et al., 1976).

2.4 Enfermedad del desgaste crónico (CWD)

Historia

La enfermedad del desgaste crónico es una encefalopatía espongiiforme transmisible que afecta a ungulados domésticos y salvajes (Prusiner, 1995). Los primeros síntomas diagnosticados datan de 1967 y se encontraron en un ciervo mula en cautividad (*Odocoileus hemionus*) de Fort Collins, Colorado. La enfermedad se caracterizó como una pérdida de peso crónica que llevaba a la muerte. Prácticamente todos los casos aparecidos hasta la actualidad han sido en Norteamérica, fundamentalmente en Colorado y Wyoming. Las especies afectadas son: gran kudu (*Tragalaphus strepsiceros*) (Kirkwood et al., 1993), oryx Árábigo (*Odocoileus leucoryx*) (Kirkwood et al., 1990), ciervo de pelo blanco (*Odocoileus virginianus*) (Spraker et al., 1997), ciervo de pelo negro (*Odocoileus hemionus columbianus*) (Williams y Young, 1980) y alce (*Cervus elaphus*) (Williams y Young, 1982). No se ha demostrado por el momento transmisión entre la CWD y otras enfermedades espongiiformes en animales o en el hombre. Se considera una enfermedad rara aunque los casos diagnosticados por año van en aumento.

Sintomatología

La enfermedad se presenta en animales de ambos sexos enteros o castrados (Williams y Young, 1980), con edades comprendidas entre 2.5 a 7 años (Spraker et al., 1997). El pronóstico es siempre fatal. Los signos clínicos mas consistentes son: pérdida de peso progresiva, apatía, depresión, ataxia, emaniación severa, deshidratación, caída de cabeza y orejas, inexpresividad facial, salivación excesiva, afilamiento de los dientes, polidipsia y poliuria (Kirkwood et al., 1994; Spraker et al., 1997, Spraker et al., 1997; Williams y Young, 1980; Williams y Young, 1982). El comportamiento del animal se altera perdiendo miedo a los humanos, disminuyendo la interacción con otros individuos del grupo e incluso caminando de forma repetida y con pauta fija dentro del corral (Williams y Young, 1980). En alces, los cambios de comportamiento incluyen también hiperexcitabilidad y los animales afectados continúan comiendo cereal aunque pierden el interés por el heno. Normalmente, el animal muere a los 6 meses de aparecer los síntomas.

Se están desarrollando tests diagnósticos para realizar en animales vivos infectados con CWD. Los valores hematológicos obtenidos en una analítica se encuentran dentro de un rango normal (Williams y Young, 1980). Los datos obtenidos post mortem muestran un exceso de fluido espumoso mezclado con una gran cantidad de arena y grano en el rumen. También aparece abundante tejido adiposo visceral y subcutáneo y médula ósea amarilla gelatinosa (Spraker et al., 1997). Habitualmente se encuentran úlceras abomasales y omasales. Microscópicamente se observan lesiones en el cerebro y en la médula espinal con microcavitaciones de la sustancia gris. La degeneración y pérdida neuronal se presenta en ausencia de respuesta inflamatoria. También aparecen importantes lesiones en el bulbo olfatorio, corteza, hipotálamo y núcleos vagales parasimpáticos (Williams y Young, 1993). La muerte normalmente no es debida directamente a CWD sino a infecciones secundarias que el animal no puede superar. También se incluyen neumonías, abscesos, enteritis, alopecia focal y parasitismo. En animales cautivos, la muerte suele ser debido a la eutanasia (Williams y Young, 1980).

Epidemiología

El origen y el modo de transmisión del CWD es aún desconocido. Prácticamente la totalidad de los casos aparecen en Norteamérica, fundamentalmente en Colorado y Wyoming. Otros casos aparecidos tienen un origen incierto y no se descarta que estén también relacionados con estas áreas. La enfermedad afecta tanto a los animales nacidos en cautividad como a los animales salvajes. Basándose en la epidemiología de la enfermedad debido a que afecta a un amplio grupo de cérvidos, parece que la transmisión es lateral y posiblemente maternal. No se ha demostrado que exista transmisión a través de la alimentación dado que se han encontrado animales enfermos alimentados con una gran variedad de alimentos (Kirkwood et al., 1993; Kirkwood et al., 1994; Spraker et al., 1997). Todavía no se ha demostrado que la alimentación humana con estos animales pueda causar encefalitis espongiiforme. Con el fin de dilucidar si es posible el salto interespecie se están inoculando intracerebralmente cérvidos con material infectivo de vacas contaminadas con BSE. De igual forma se están alimentado estos animales con material supuestamente patogénico.

Patología

El diagnóstico definitivo se basa en el estudio de la necropsia dado que las lesiones macroscópicas observadas reflejan perfectamente los signos clínicos. Las lesiones del sistema nervioso central observadas microscópicamente recuerdan a otras encefalopatías espongiiformes (vacuolización intracelular, placas amiloides, etc.)

2.5 Encefalitis espongiiforme felina (FSE)

Historia

En 1990 se diagnosticó por primera vez la encefalopatía espongiiforme felina en un gato doméstico. Hasta 1994 no se hizo oficial la existencia de una nueva encefalopatía espongiiforme que afectaba a felinos. En los años sucesivos se han encontrado 81 casos distribuidos por el Reino Unido (10-15 gatos infectados por millón).

Probablemente la infección fue debida a la contaminación de comida con tejido bovino. Los casos diagnosticados han descendido desde 1994. También se han descrito casos de encefalitis espongiiforme en puma, ocelote y tigre que consumieron carne cruda bovina en el que se incluyó sistema nervioso central.

Patología

En todos los casos encontrados la FSE presenta una patología común caracterizada por temblor muscular generalizado, ataxia y dilatación pupilar. En la mayoría de estos casos los estudios inmunohistoquímicos han mostrado la presencia de PrP en el cerebro y en la médula espinal (Pearson et al., 1992; Leggett et al., 1990). Sólo en algunos casos aparecieron meningomas y gliosis con meningo encefalitis no supurativa como en el caso de un puma en un zoológico del Reino Unido (Willoughby et al., 1992).

3. Bibliografía

Alper T y cols. (1967) Nature 214, 764-766

Beck, E. et al 1969. Degenerative diseases of the central nervous system transmissible to experimental animals. Postgrad. Med. J. 45,361-370

Bessen y cols.(1995). Nature 375, 698-670

Brown DR y cols. (1997) Nature 390, 684-687

Bruce ME y Fraser H (1991) Curr.Top. Microbiol.Immunol. 175, 125-138

Büeler H. y cols. (1993) Cell 73, 1339-1347

Caughey y cols.(1991) Biochemistry 30, 7672-7680

Caughey B y Raymond GJ (1991) J.Biol.Chem. 266, 18217-18223

Chandler RL (1961) Lancet 1, 1378-1379

Chesebro B y cols. (1985) Nature 315, 331-333

Collinge J. y cols., (1996) Nature 386, 685-690

Come JH y cols., (1993) Proc.Natl.Acad.Sci.USA 90, 5959-5963

DeArmond SJ y cols., (1993) ProcNatl.Acad.Sci.USA 90, 6449-6453

DeArmond SJ y cols., (1997) Neuron 19, 1337-1348

Dickinson AG y cols., (1968) J.Comp.Pathol. 78, 293-299

Donne y cols. (1997) Proc.Natl.Acad.Sci.USA 94, 13452-13457

Forloni G y cols., (1993) Nature 362, 543-546

Gasset M y cols., (1992) Proc.Natl.Acad.Sci.USA 89, 10940-10944

Georgsson, G., Gisladdottir, E. y Arnadottir, S. 1993. Quantitative assessment of the astrocytic response in natural scrapie of sheep. J. Comp. Pathol. 108, 229-240

Ghetti B y cols., (1996) Brain Pathology 6, 127-145

Gordon, W.S. 1966. Report of scrapie seminar held at Washington DC, January 1964. En: ARS 91-53. Department of Agriculture. Washington DC, US p.8

Griffith JS (1967) Self-replication and scrapie. *Nature* 215, 1043-1044

Hedge y cols. (1998) *Science* 279, 827-834

Hsiao K y cols. (1989) *Nature* 338, 342-345

Hunter GD (1972). *J.Infect.Dis.* 125, 427-440

Kirkwood, J.K., Wells, G.A.H. Wilesmith, J.W. Cunningham, A.A. y Jackson. S.I. 1990. Spongiform encephalopathy in the Arabian oryx. *Vet. Rec.* 127, 418-420.

Kirkwood, J.K., Cunningham, A.A., Wells, G.A.H., Wilesmith, J.W. y Barnett J.E.F. 1993. Spongiform encephalopathy in a herd of greater kudu: epidemiological observations. *Vet. Rec.* 133, 360-364.

Kirkwood, J.K., Cunningham, A.A., Austin, A.R., Wells, G.A.H. y Sainsbury. A.W. 1994. Spongiform encephalopathy in a greater kudu (*Tragelaphus strepsiceros*) introduced into an affected group. *Vet. Rec.* 134, 167-168.

Kocisko DA y cols., (1994). *Nature* 370, 471-474

Kocisko DA y cols., (1995) *Proc.Natl.Acad.Sci.USA* 92, 3923-3927

Kretschmar HA y cols. (1986). *Am.J.Pathol.* 122, 1-5

Lee y cols.,. *GenomeResearch* (1998), en prensa.

Leggett, M.M., Dukes J., Pirie, H.M. A spongiform encephalopathy in a cat. *Vet. Rec.* 127, 586-588

Lindquist S. (1997) *Cell* 89, 495-498

Marsh, R.F., Burger, D. y Hanson, R.P. 1969. Transmissible mink encephalopathy: Behaviour of the disease agent in mink. *Am. J. Vet. Res.* 30, 1637-1642

Marsh, R.F., Sipe, J.C., Morse, S.S. y Hanson, R.P. 1976. Transmissible mink encephalopathy: reduced spongiform degeneration in aged mink of the Chediak- Higashi genotype. *Lab. Invest.* 34, 381-386

Marsh, R.F. 1992. Transmissible mink encephalopathy. En Prion diseases of human y animals. Prusiner, Collinge, Powell y Anderton (eds). Ellis Horwood publishers. England. p 300-307

McKenzie D y cols., (1996). Seminar Virol. 7, 201-206

Mobley WC y cols. (1986). Proc.Natl.Acad.Sci.USA 85, 9811-9815

Oesch B y cols.(1985). Cell 40, 735-746

Pan K-M y cols. (1993). Proc.Natl.Acad.Sci.USA 90, 10962-10966

Pattison H (1966). Res.Vet.Sci. 7, 207-212

Prusiner SB (1982). Science 216, 136-144

Prusiner SB (1991) Science 252,1515-1522

Prusiner SB (1997) Science 278, 245-257

Riek R y cols. (1997) FEBS Lett 413, 282-288

Schätzl HM y cols. (1995) J.Mol.Biol. 245, 362-374

Scott M y cols (1989). Cell 59, 847-857

Scott M y cols. (1993). Cell 73, 979-988

Stöckel y cols. (1998) Biochemistry 37, 7185-7193

Stahl N y cols. (1987). Cell 51, 229-240

Taraboulos A. y cols.(1992) Mol.Biol.Cell 8, 851-863

Taraboulos A y cols. (1995) J.Cell Biol. 129, 121-132

Telling GC y cols. (1995). Cell 83, 79-90

Telling y cols. (1996) Science 271, 2079-2082

Weissmann C (1991). Nature 352, 679-683

Westaway D y cols. (1994). Cell 76, 117-129

Westaway D (1994c). Genes Dev. 8, 959-69

Wickner RB y Masison DC (1996). *Curr.Topc.Microbiol.Immunol.* 207, 147-160

Wilesmith, J.W., Wells, G.A.H., Cranwell, A.H. y Ryan, J.B.M. 1988. Bovine spongiform encephalopathy: epidemiological studies. *Vet. Rec.* 123, 638-644

Wilesmith, J.W., Ryan, J.B.M. y Hueston, W.D. 1992a. Bovine spongiform encephalopathy: case control studies of calf feeding practices y meat y bone meal inclusions in proprietary concentrates. *Res. Vet. Sci.* 52, 325-351

Wilesmith, J.W., Ryan, J.B.M., Hueston, W.D. y Hoinville, L.J. 1992b. Bovine spongiform encephalopathy: descriptive apidemiological features. 1985-1990. *Vet. Rec.* 130, 90-94

Williams, E.S. 1998. Personal Communication. Veterinary Pathologist y Professor. University of Wyoming. Laramie, Wyoming.

Williams, E.S. y Young, S. 1980. Chronic wasting disease of captive mule deer: a spongiform encephalopathy. *J. Wildlife Diseases* 16, 89-98

Williams, E.S. y Young, S. 1982. Spongiform encephalopathy of Rocky Mountain elk. *J. Wildlife Diseases* 18, 465-471

Williams, E.S. y Young, S. 1993. Neuropathology of chronic wasting disease of mule deer and elk. *Vet. Pathol.* 30, 36-45.

Willoughby, K, Kelly D.F., Lyon, D.G, Wells, G.A. H.. Spongiform encephalopathy in a captive puma (*Felis concolor*). *Vet. Rec.* 131, 431-434

Ye, X., Carp, R.I. y Kascsak, R.J. 1994. Histopathological changes in the islets of Langerhans in scrapie 139^H-affected hamsters. *J. Comp. Pathol.* 110, 153-167