



**Institut de Neuropatologia
Hospital Universitari de Bellvitge**

**Departament de Patologia i Terapèutica Experimental
Universitat de Barcelona**

Vías de señalización en enfermedades priónicas

**Agustín Rodríguez Fernández
2007**

3-Introducción

3.1- Las encefalopatías espongiformes transmisibles

Las EETs, también conocidas como enfermedades por prión, son un grupo de enfermedades neurodegenerativas raras, poco frecuentes y con un pronóstico fatal que afectan al ser humano y a algunos grupos de animales. La transmisibilidad de las EETs es, no sólo una característica típica de la gran mayoría de estas enfermedades, sino también un aspecto crítico desde un punto de vista económico y del riesgo que suponen para la salud humana y animal.

Aunque todavía existe cierta controversia acerca de la etiología de las EETs, la hipótesis más aceptada propone que el prión es, de forma exclusiva, el agente causal de estas enfermedades. Este planteamiento ideado por SB. Prusiner, y por el que recibió el premio Nobel de medicina en 1997, provocó un profundo debate entre la comunidad científica que aún persiste en la actualidad. El motivo de la discordia se encuentra en el hecho de que, hasta el momento, no se había descrito una proteína presente en los seres vivos, en condiciones fisiológicas, con un potencial infeccioso de esas dimensiones. De este modo, la importancia del estudio de las EETs radica, no sólo en el impacto económico, político y social que han generado en las últimas décadas en Europa, Asia y Norteamérica, sino también en el interés intrínseco que suscitan para la ciencia.

Aunque existen rasgos distintivos asociados a los diferentes tipos de EETs, todas ellas presentan largos períodos de incubación, cursan con trastornos neurológicos progresivos acompañados de déficits cognitivos, sensoriales y motores, y no generan respuesta inmunitaria ni inflamatoria (Prusiner SB, 1997).

Desde un punto de vista neuropatológico, las EETs provocan pérdida neuronal, gliosis astrocítica, microgliosis y cambio espongiforme inducido por vacuolización, siendo este último un rasgo distintivo de estas enfermedades (*Figura 1*). Sin embargo, el fenómeno neuropatológico que se considera crucial en el inicio y desarrollo de las enfermedades priónicas es la producción y multiplicación del prión, así como su tendencia a agregarse extracelularmente (DeArmond SJ y col., 2003).

3.1.1- Breve historia de las EETs

Las primeras investigaciones dirigidas a conocer la causa de las EETs se realizaron en la década 1930-40 y demostraron la transmisión de *Scrapie* entre ovejas (Schwartz M, 2003). Aunque la naturaleza del agente

infeccioso aún era una incógnita, se perfiló como resistente al formaldehído, etanol, proteasas, nucleasas y a la radiación ionizante y ultravioleta (Prusiner SB, 1982). En 1982 se etiquetó al agente infeccioso con el nombre de prión y se propuso que debía ser de naturaleza proteica aunque resistiera los tratamientos de inactivación típicos de ácidos nucleicos (Oesch B, 1985). Experimentos posteriores permitieron identificar una proteína de membrana (proteína priónica ó PrP) asociada a la infectividad y, tras una década de estudios en esa línea, en 1998 fue descrita una hipótesis completa acerca de la naturaleza del prión (Prusiner SB, 1998).

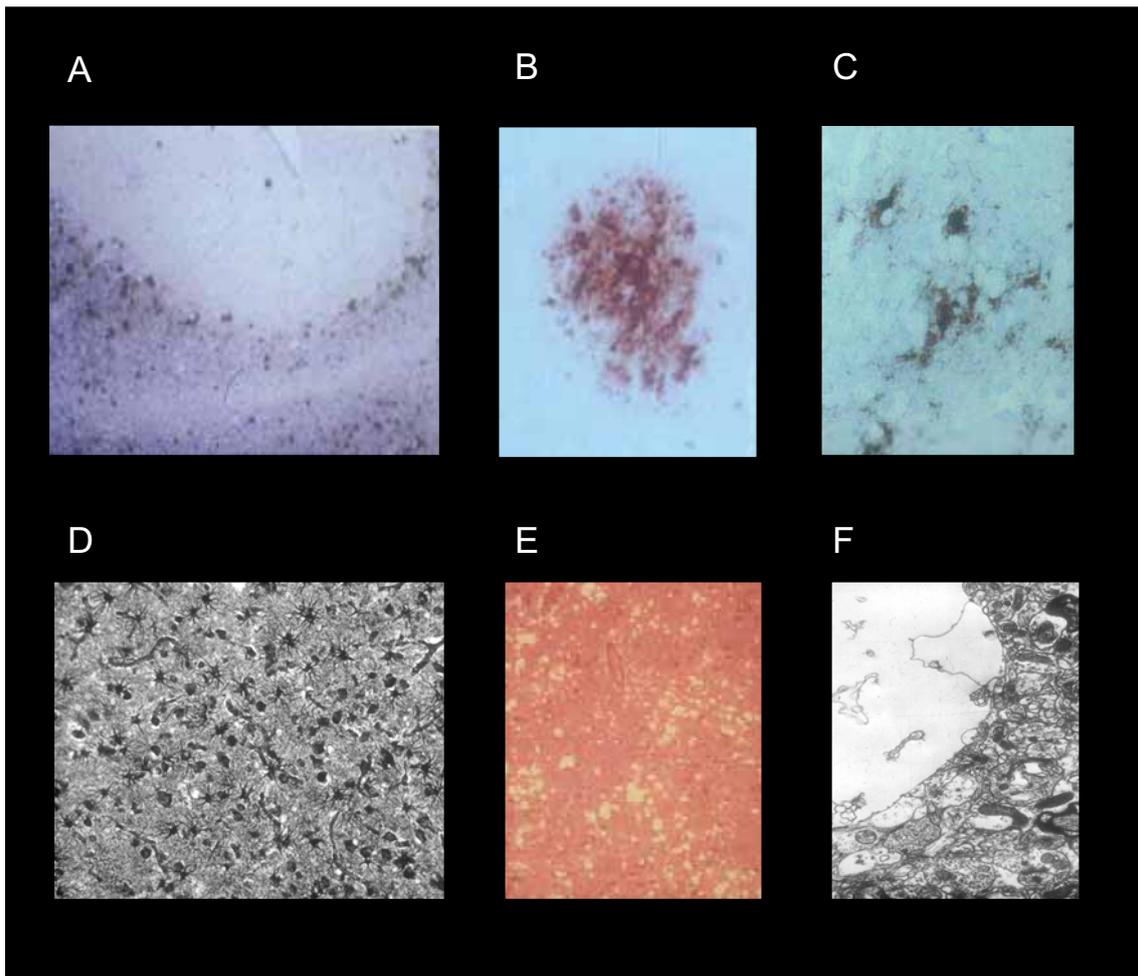


Figura 1. Características neuropatológicas de las EETs por inmunohistoquímica: (A) Pérdida neuronal en la enfermedad de *Kuru*.; (B,C) Placas extracelulares de PrP^{Sc}; (D) Gliosis en ECJ; (E,F) Vacuolización o cambio esponjiforme en ECJ (Imágenes extraídas del Institut de Neuropatologia del Hospital Universitari de Bellvitge).

Varios experimentos han sido fundamentales para la comprensión de las EETs y han reforzado la hipótesis priónica cómo la más plausible para explicar su origen. Entre ellos, el del desarrollo de un ratón KO para la PrP que, tras ser infectado con priones del *Scrapie*, no manifestó la patología. Este estudio sirvió para demostrar que la presencia de la PrP del huésped

era necesaria para que se produjera la enfermedad (Bueler H y col., 1993; Brandner, S. y col., 1996). Otro experimento importante consistió en inducir por mutación una EET humana de tipo hereditario (GSS) en ratones transgénicos para la PrP, lo cual demostró que la aparición de la patología dependía directamente de la generación de priones y era independiente del huésped (Hsaio, K. y col., 1989).

A pesar de las investigaciones realizadas hasta la actualidad, aún quedan muchos aspectos importantes que revelar acerca de las EETs. Entre ellos, el de conocer el mecanismo preciso con qué el prión se replica en presencia de su proteína homóloga fisiológica y, por consiguiente, el de descubrir inhibidores eficientes de ese proceso a nivel local. También resulta crítico, por ejemplo, saber por qué la presencia de determinados polimorfismos génicos juega un papel crucial en la susceptibilidad a la enfermedad, el período de incubación y en la aparición de determinados rasgos clínicos. En este escenario, parece obvio que tanto los estudios que se realizan actualmente como los que se emprenderán en el futuro abarcan un amplio abanico de disciplinas que van desde la clínica hasta la biología molecular. Si bien el estudio directo sobre tejido humano es un punto fundamental para la comprensión de las EETs, el uso de animales de experimentación así como el desarrollo de modelos *in-vitro* se consideran básicos para el conocimiento de los mecanismos fisiológicos y bioquímicos que dan lugar a las prionopatías.

3.1.2- EETs en animales y en humanos

Han sido descritos varios tipos de EETs tanto en animales como en humanos (*Tabla 1*). En el caso de los animales, cabe destacar la encefalopatía espongiiforme de ovejas y cabras ó *Scrapie* y la EEB. Ambas enfermedades han provocado la muerte a grandes cantidades de ganado ovino y bovino comportando, además, cuantiosas pérdidas económicas y una importante alarma social. El desarrollo de métodos diagnósticos eficaces ha sido crucial para la detección y la prevención de estas enfermedades y constituye un importante campo de investigación en la actualidad.

El *scrapie* fue descubierto hace más de 200 años y ha sido descrito en todos los países a excepción de Australia y Nueva Zelanda. El apelativo de "*scrapie*" proviene del comportamiento llamativo de los animales afectados que se rascan el lomo continuamente, aparentemente por prurito. El *scrapie* se puede transmitir horizontalmente (entre individuos no emparentados) a través del pasto y, verticalmente, (de progenitores a las crías) a través de la placenta. Los animales mueren entre 1 y 6 meses

después de que aparezcan los primeros síntomas, que se producen entre los 2 y los 5 años de edad. La susceptibilidad varía de una raza a otra. (Schwartz M., 2003; Hadlow WJ y col., 1982; Hourrigan JL y col., 1996).

EETs en animales		
Tipo de EET	Animales afectados	Origen más probable
Encefalopatía espongiforme bovina (EEB)	Vacas	Alimentación con harinas contaminadas con <i>scrapie</i>
<i>Scrapie</i>	Ovejas y cabras	Desconocido (¿Espontáneo?)
Encefalopatía espongiforme felina	Gatos domésticos, tigres y pumas	Alimentación con restos contaminados con EEB
Enfermedad debilitante crónica de los ungulados	Alces y ciervos	Desconocido
Encefalitis transmisible del visón	Visones	Alimentación con desechos contaminados
EETs en humanos		
Tipo de EET	Tipo causal	
Enfermedad de Creutzfeldt-Jakob (ECJ)	Esporádico, genético, yatrogénico, adquirido (nueva variante)	
<i>Kuru</i>	Adquirido	
Insomnio familiar letal (IFF)	Genético	
Síndrome de Gerstmann-Sträussler-Scheinker (GSS)	Genético	

Tabla 1. Tipos de encefalopatías espongiformes transmisibles en animales y humanos.

Los primeros casos de EEB, también conocida como mal de las "vacas locas", se detectaron en el Reino Unido el año 1985 y fueron el preludio de una gran epidemia que afectaría, años más tarde, a Europa y a otros países como Estados Unidos. El pico de la epidemia se dio en enero del 1993 con casi 1000 casos nuevos por semana y un total de 170.000 cabezas afectadas. El estudio epidemiológico reveló que la causa más probable era la alimentación de los animales con harinas enriquecidas con restos ovinos y bovinos contaminados con priones procedentes, originariamente, del *scrapie*. Esta hipótesis implicaba una transmisión vertical ó interespecífica de la enfermedad y suponía, además, una redefinición de las EETs en cuanto a su

modo de transmisión. Era, en cualquier caso, una hipótesis probable ya que la prevalencia del *scrapie* en Gran Bretaña era muy elevada y se supo que durante los años 1981 y 1982 se introdujo masivamente harina contaminada con priones del *scrapie* en la alimentación de los bovinos. El período de incubación de la EEB se estima en unos 5 años desde que el prión entra por vía digestiva hasta que aparecen los primeros síntomas neurológicos. Se sabe que, al menos entre 1985 y 1990, hubo material priónico bovino en la cadena alimentaria humana en Gran Bretaña (Anderson RM. y col., 1996; Collee JG y col., 1997).

En el caso de la especie humana, las EETs incluyen a ECJ, GSS, FFI y *Kuru* (Prusiner, 1997; Aguzzi, 2003; Budka y col. 2003; DeArmond y col., 2003; Ghetti y col., 2003; Gambetti y col., 2003).

El GSS fue descrito por Gerstmann, Sträussler y Scheinker en 1936. Se considera una variante de la forma familiar de la ECJ y se asocia a mutaciones en el PRNP. La mayor parte de los afectados presentan mutaciones en el codón 102 del PRNP pero existen otras mutaciones descritas que, además, condicionan la aparición de determinados síntomas clínicos, la edad de comienzo y la duración de la enfermedad. El GSS tiene una incidencia de unos 5 casos por cada 100 millones de personas y año. Su rasgo neuropatológico más relevante es la aparición de placas amiloides de PrP^{Sc}. Clínicamente suele provocar ataxia cerebelar, demencia, dismetría ocular e hiporreflexia en las extremidades inferiores (Richardson EP y col., 1995; Kretzschmar HA, 1993).

El FFI fue descrito por primera vez en 1939 como una enfermedad que provocaba una demencia progresiva y una degeneración simétrica bilateral del tálamo (Stern K, 1939). Estudios posteriores asociaron a la clínica característica del FFI un trastorno severo del sueño que podía conducir a un insomnio intratable. También cursa con una disfunción del sistema nervioso autónomo, temblores y mioclonías. La mayoría de los casos estudiados presentan una mutación en el codón 178 del PRNP que induce la generación de PrP^{Sc} (Medori R. y col., 1992). La neuropatología típica del FFI provoca gliosis, una importante pérdida neuronal, sobretodo a nivel talámico y no provoca, aparentemente, cambio espongiiforme. La media de inicio de la enfermedad se sitúa alrededor de los 50 años y tiene una duración que va desde los 5 a los 15 meses (Lugaresi E. y col., 1986).

El *Kuru* cursa con ataxia cerebelar progresiva y con un deterioro cognitivo en estadios avanzados de la enfermedad. Su característica neuropatológica típica es la aparición de placas extracelulares de PrP^{Sc}

llamadas "placas floridas" por su aspecto al microscopio. Fue descubierto en 1957 en una tribu de Nueva Guinea que practicaba el endocanibalismo ritual y constituye un ejemplo de transmisión por contagio (Gajdusek DC. y col., 1957). Ese ritual consistía en comer los restos de personas muertas y de cubrirse el cuerpo con ellos, por lo que el contagio se producía tanto por vía digestiva como por inoculación cutánea. El hecho de que las mujeres del grupo fueran las principales protagonistas de estos rituales explica que el ratio de la enfermedad entre mujeres y hombres fuera de diez a uno a favor de ellas (Hornabrook RW, 1968). La supresión de ese tipo de rituales entre los individuos de esa población ha supuesto la práctica erradicación de la enfermedad a día de hoy (Huillard d'Aignaux JN y col., 2002).

3.1.3- Características del prión

La palabra prión deriva del termino original "proteinaceous infectious particle" que fue propuesto por Standley B. Prusiner en 1982. El prión es una forma anormalmente plegada de una proteína no patogénica denominada proteína priónica celular ó PrP^C, presente en todas las células del organismo aunque expresada mayoritariamente en el SNC (*Tabla 2*). La PrP^C es una glicoproteína anclada a membrana a través de un grupo GPI que posee una estructura química rica en hélice- α , por lo que es sensible a proteasas. La PrP^C tiene sitios de unión para Cu²⁺ y sufre modificaciones post-traduccionales por glicosilación (*Tabla 2*). De este modo, se pueden identificar por WB tres isoformas correspondientes a la PrP^C no-glicosilada (~24 kDa), PrP^C mono-glicosilada (~30 kDa) y PrP^C di-glicosilada (~35 kDa). (Lawson Victoria A. y col., 2005).

A día de hoy se desconoce la función exacta que desarrolla la PrP^C en condiciones fisiológicas. No obstante, algunos estudios la asocian a procesos de transducción de señales, sinapsis, apoptosis, metabolismo del Cu²⁺ y estrés oxidativo (Prusiner, 1997; Collinge, 2001; Kropp BS y col., 2000; Sakudo A y col., 2004; Hur K y col., 2002).

3- Introducción

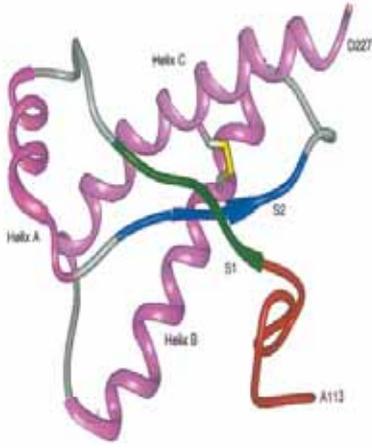
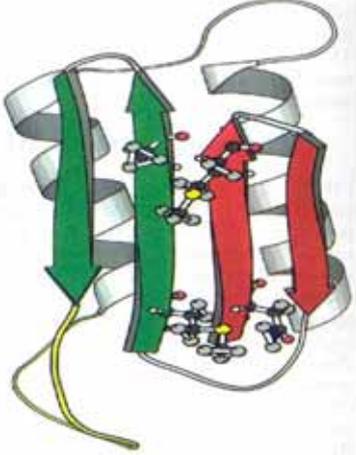
	
Proteína priónica celular (PrP ^C)	Proteína priónica <i>Scrapie</i> ó prión (PrP ^{Sc})
Forma normal o fisiológica	Forma anormal o patogénica
No transmisible	Transmisible (convierte PrP ^C en PrP ^{Sc})
Anclada a membrana por un grupo GPI	Libre y agregable extracelularmente
Rica en hélice- α	Rica en hoja- β
Sensible a proteasas	Parcialmente resistente a proteasas
Sensible a agentes físicos y químicos y a tratamientos estándar de desinfección	Resistente a radiación ionizante, ultravioleta y a tratamientos estándar de esterilización

Tabla 2. Características asociadas a PrP^C y PrP^{Sc} (Imágenes extraídas de un artículo de Carlos Sánchez Huertas en engormix.com).

Las características de la PrP^C contrastan con las del prión, que también se conoce como PrP^{Sc}, PrP^{EEB} ó PrP^{ECJ} dependiendo de la enfermedad a la que va asociado. El prión posee una estructura química rica en hoja- β , está presente de forma libre en la célula y tiene tendencia a agregarse extracelularmente formando placas (para proteína priónica *scrapie*, ECJ ó EEB, respectivamente; Prusiner, 1997; Collinge, 2001; Aguzzi y col., 2001). La estructura química que adquiere el prión le confiere, no sólo resistencia parcial a proteasas (por lo que también se denomina PrP^{res}), sino también

resistencia a altas temperaturas y presiones, a la radiación ionizante y ultravioleta y a los métodos estándar de esterilización (Prusiner SB, 1982; Alper T y col., 1967). Los métodos de desinfección más eficaces que se utilizan actualmente en los laboratorios son el autoclave (con temperaturas superiores a 134°C), el NaOH 2N y el hipoclorito sódico (lejía).

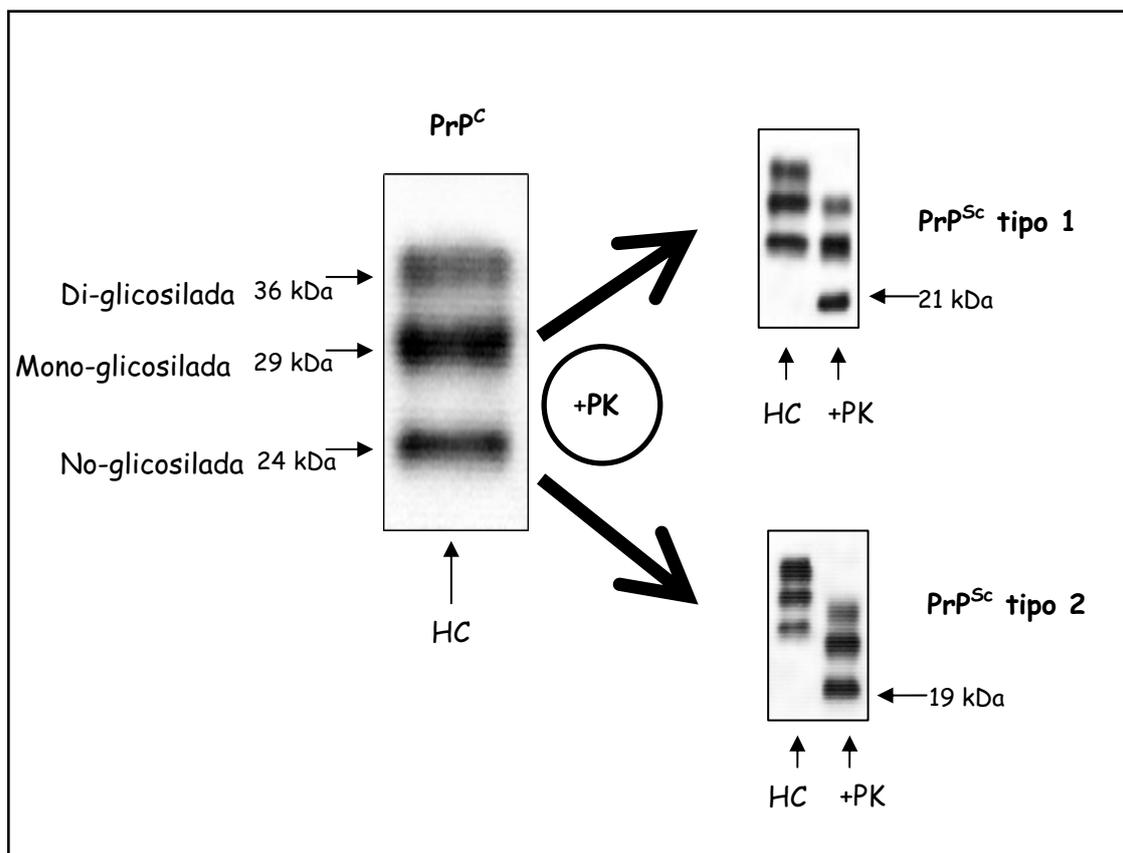


Figura 2. Características moleculares de la PrP. Por WB se distinguen tres isoformas que corresponden a distintos niveles de glicosilación de la proteína. Se habla de PrP de tipo 1 cuando la isoforma no-glicosilada de la fracción + PK pesa 21 kDa y de PrP de tipo 2 cuando pesa 19 kDa.

(HC: homogeneizado cortical; PK: digestión con proteinasa K)

El rasgo más intrigante y significativo del prión, así como el que le otorga el potencial patogénico, es su capacidad de reclutar a la PrP^C y de convertirla en PrP^{Sc} de manera autocatalítica (Prusiner, 1997; Collinge, 2001; Aguzzi y col., 2001; Bratosiewicz-Wasik y col., 2004). Algunos estudios especulan con la posibilidad de que exista un factor "x" presente en el huésped, que se una de algún modo con el prión mediando su interacción con la PrP^C y facilitando el proceso de conversión (Telling G.C y col., 1994).

La PrP^{Sc} tiene un peso molecular similar al de su homóloga no patológica y también se presenta en tres isoformas dependiendo de su grado de glicosilación. No obstante, cuando la PrP^{Sc} entera (también denominada PrP30-35) es digerida por proteasas aparece un fragmento proteasa-resistente de menor peso que se conoce como PrP27-30 por su peso molecular en kDa. Ese fragmento se genera por la pérdida de una porción N-terminal y corresponde al núcleo proteasa-resistente de la proteína que, además, mantiene su capacidad patogénica. La PrP27-30 tiene tendencia a formar agregados y es el principal constituyente de las placas extracelulares de PrP^{Sc} (Basler, K. y col., 1986).

En el caso de las EETs humanas y, más específicamente, de ECJ, existen dos tipos de PrP^{res} que son distinguibles por WB. Se habla de PrP^{res} de tipo 1 cuando la forma no-glicosilada de la proteína pesa 21 kDa y de PrP^{res} de tipo 2 cuando pesa 19 kDa. (Parchi P. y col., 1999) (*Figura 2*).

3.1.4- El gen de la PrP: PRNP

En el caso de la especie humana, el PRNP está ubicado en el cromosoma 20. Existen mutaciones en el PRNP que provocan un plegamiento anormal de la PrP^C induciendo su conversión a PrP^{Sc}. En el caso de GSS, por ejemplo, se produce una mutación en el codón 102 y en el caso de FFI en el codón 178 (Medori R y col., 1992; Richardson EP y Masters CL, 1995).

La PrP^C humana tiene dos secuencias señal en el N-terminal (residuos 1-22) y en el C-terminal (residuos 231-253). También posee una región octopeptídica (residuos 51-91), que es la que une Cu²⁺ y los dos sitios de glicosilación en los aminoácidos Asn-181 y Asn-197. Por último, el grupo GPI de anclaje a membrana está unido al residuo Ser-230 en el extremo C-terminal de la proteína (DeMarco Mari L y Daggett Valerie, 2005) (*Figura 3*).

3.1.5- Transmisión de los priones

Uno de los aspectos que condicionan la transmisibilidad de las EETs, esto es, la posibilidad de transmitir los priones que las originan, es el nivel de similitud entre las PrP del huésped y del potencial transmisor. A mayor similitud mayor probabilidad de que las proteínas interactúen y de que la PrP^{Sc} induzca la conversión a la PrP^C. Además, se cree que la existencia de distintas cepas de priones condiciona de manera crítica el tiempo de incubación y la neuropatología que causan en cada huésped (Bruce, M.E, 2003).

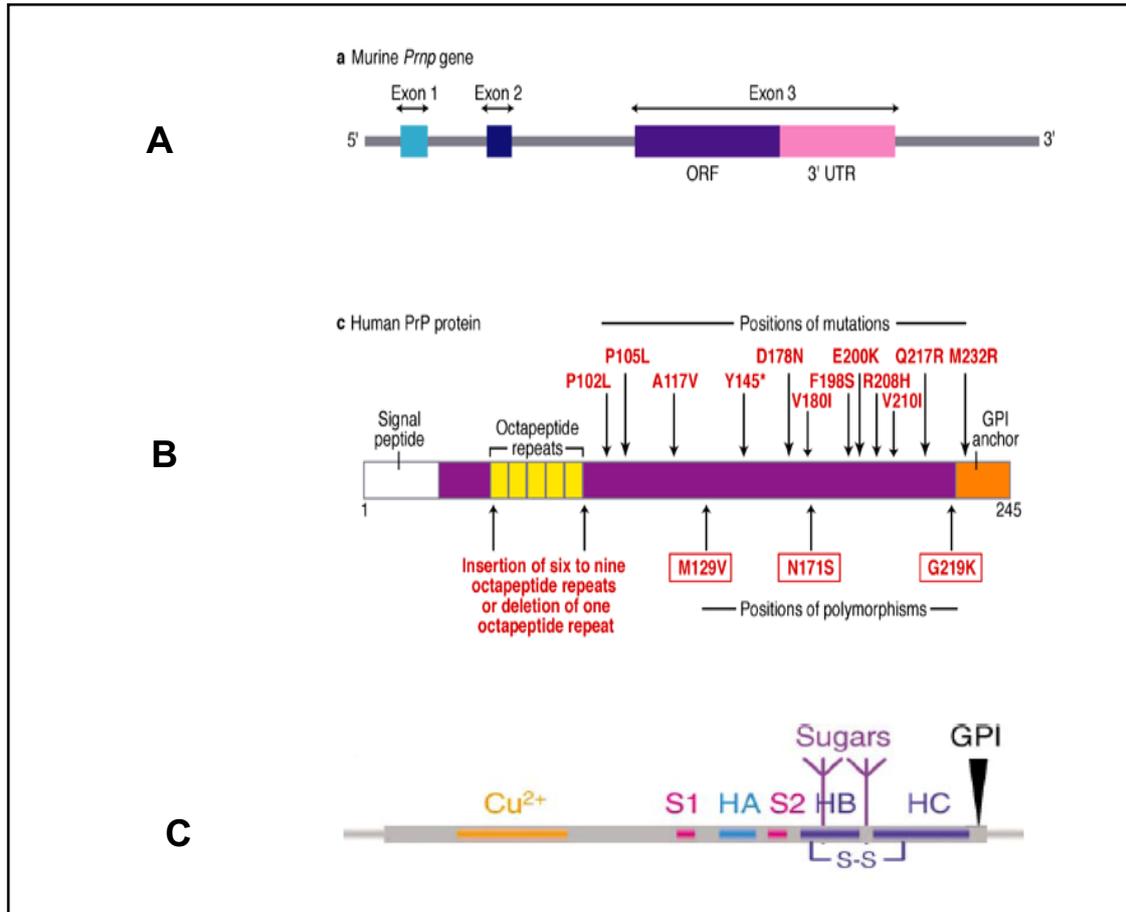


Figura 3. Gen codificante de la PrP (PRNP) y secuencia proteica de la PrP. (A) Gen de la PrP (PRNP) en ratón. La proteína está codificada por 3 exones. (B,C) Secuencia proteica de la PrP humana. La región octopeptídica cerca del extremo N-terminal tiene lugares de unión a Cu²⁺ y en el extremo C-terminal hay una región de unión a GPI que permite el anclaje a membrana (Manson Jean C and Tuzi Nadia L, 2001).

Aunque a nivel experimental los priones se suelen transmitir intracerebralmente ó por inyección intraperitoneal, en circunstancias naturales suele abundar la transmisión por vía oral o digestiva. En ese escenario, los priones entran, probablemente, por el tracto intestinal, siguen por el tejido linforetico hasta que invaden el SNP directamente o a través de los nodos linfáticos y, por último, ascienden al SNC (Aguzzi, A, 2003).

3.1.6- La enfermedad de Creutzfeldt-Jakob

La ECJ es la prionopatía humana más frecuente. Se produce de forma esporádica en el 85% de los casos, de forma familiar o genética en el 10%-15% y por vía yatrogénica o por otras vías con poca frecuencia. Los primeros síntomas de la enfermedad son un deterioro de las habilidades cognitivas,

pérdida de memoria, ataxia y distorsiones visuales (Brown P y col., 1994; Parchi P y col., 1999). Durante la progresión de la enfermedad se producen frecuentemente demencia y mioclonías. Un patrón típico en el EEG y un test positivo para 14-3-3 en el LCR se consideran elementos diagnósticos fiables. También se consideran datos indicativos de la ECJ, aunque no de manera determinante, la presencia de mioclonías, de distorsión visual o cerebelar y de disfunción piramidal/extrapiramidal. No obstante, el diagnóstico definitivo se da por WB o por inmunohistoquímica para PrP^{ECJ}.

La tríada formada por cambio esponjiforme, pérdida neuronal y gliosis astrocitaria y microglial constituye el fenotipo neuropatológico de ECJ. Por inmunohistoquímica, se visualizan placas de PrP tipo *Kuru* en un número reducido de casos y también placas β -amiloide tipo Alzheimer, con o sin colocación con PrP (Hainfellner JA y col., 1998). Se habla de varios patrones de deposición de PrP detectable por inmunohistoquímica: sináptica, perivacuolar, perineuronal y tipo placa. El patrón de deposición de PrP depende del polimorfismo en el codón 129 del PRNP así como de la región del cerebro afectada (Budka H y col., 1995; Hainfellner J y col., 1997).

En el caso de ECJ, la presencia de polimorfismos en el codón 129 del PRNP condiciona aspectos como la susceptibilidad de los individuos a padecer la enfermedad, la edad de comienzo, la duración (Mitrová y Belay, 2002) y la aparición de determinados rasgos clínicos y neuropatológicos (MacDonald y col., 1996; Kovacs y col., 2000). El codón 129 tiene el polimorfismo ATG/GTG que codifica para Metionina (M) o Valina (V). El alelo más frecuente entre la población control es el M con un 70%, mientras el V se encuentra en un 30%. El homocigoto M/M y el heterocigoto M/V se encuentran de forma mayoritaria en la población control (50% y 40% respectivamente), mientras el homocigoto V/V sólo representa el 10%. Las proporciones genotípicas en personas con afección por ECJ se decantan sustancialmente hacia la homocigosis M/M (75%), indicando que este polimorfismo incrementa la susceptibilidad a la enfermedad tanto en la forma esporádica como en la genética (Budka y col., 2003; Laplanche y col., 1994; Mitrová y Belay, 2002).

Si bien existen discrepancias en los criterios de clasificación, está claro que el genotipo en el codón 129 (M/V) y el tipo de PrP (tipo 1 ó 2) contribuyen conjuntamente a la aparición de determinados rasgos clínicos y neuropatológicos de forma característica en ECJ (Budka y col., 2003). Según la clasificación más aceptada, hay seis patrones típicos de ECJ esporádico: MM1, MV1, VV1, MM2, MV2, VV2. Se incluye, además, un

séptimo perfil asociado a la nueva variante de la ECJ (Parchi y col., 1999) (*Figura 4*).

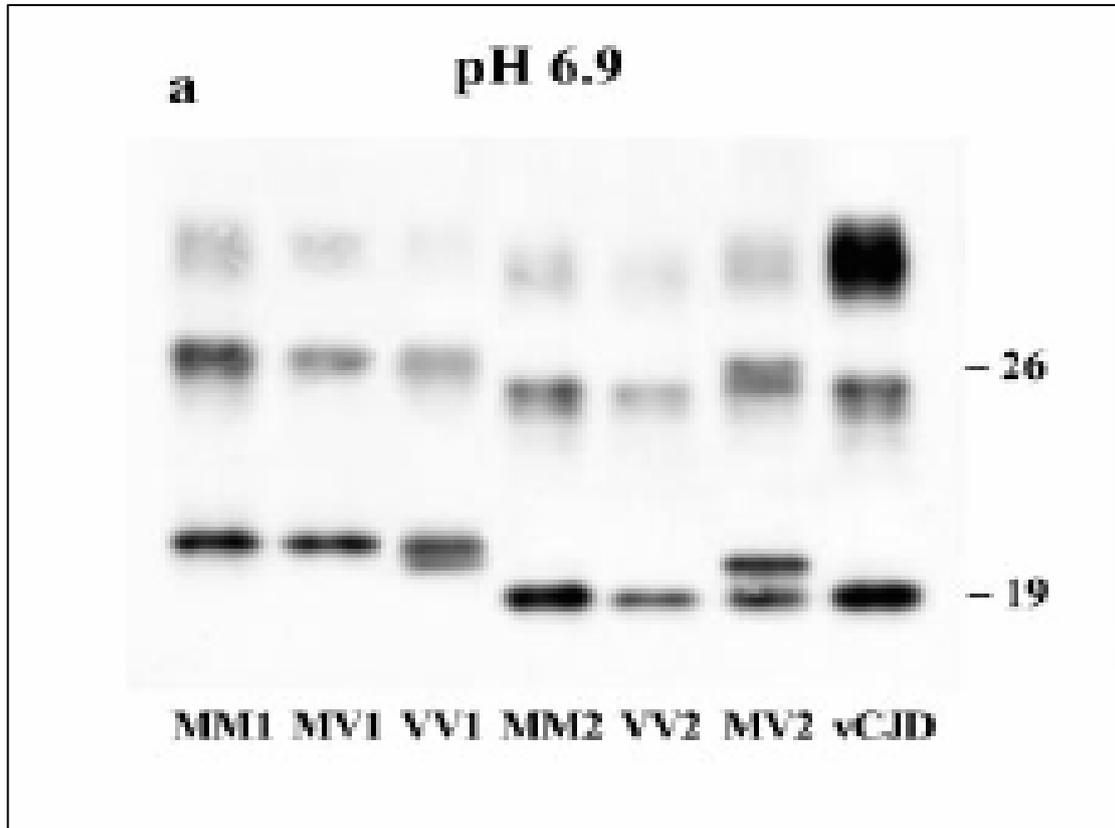


Figura 4. Patrones de PrP^{res} por WB. Dependiendo de movilidad electroforética de las isoformas de PrP^{res}, de la proporción de cada una de ellas y del genotipo del codón 129 hay establecidos seis patrones típicos de PrP^{res}, en el caso de la forma esporádica de la ECJ, y uno para nueva variante de la ECJ (Parchi y col., 1999).

La ECJ de tipo esporádico se atribuye a la generación espontánea de priones ó a mutaciones puntuales en el PRNP. Afecta de manera generalizada a poblaciones de todo el mundo e indistintamente a hombres y mujeres. La mayor parte de personas afectadas tienen edades comprendidas entre los 60 y los 75 años y tiene una incidencia de 1-2 casos/millón de habitantes y año. Neuropatológicamente, presentan pérdida neuronal, gliosis y cambio espongiiforme. El cuadro clínico característico consta de mioclonías, demencia, patrón típico de descargas en el electroencefalograma y un test positivo para la proteína 14-3-3 en el LCR (Hainfellner JA y col., 1998).

Los primeros casos de la nueva variante de la ECJ fueron detectados en el Reino Unido en 1994 (Will RG y col., 1996). Han sido descritos hasta el momento 150 casos en el Reino Unido y un total de 33 en otros países como

Francia y Estados Unidos. Los pacientes cursaban con una patología distinta a la ECJ de tipo esporádico en cuanto a sus manifestaciones clínicas, tiempo de incubación, etc. (*Tabla 3*). El origen de la nueva variante de la ECJ se atribuye al consumo de alimentos derivados de bovinos afectados con EEB. Se sabe que, al menos, entre 1985 y 1990 hubo material de consumo contaminado con EEB circulando en el Reino Unido y probablemente exportado a otros países. Teniendo en cuenta ese hecho y que los rasgos neuropatológicos y moleculares de las dos EETs son similares, la hipótesis es bastante probable (Bruce ME y col., 1997; Hill AF y col., 1997).

Tipo de ECJ	Forma esporádica de la ECJ	Nueva variante de la ECJ
Historia	Identificada por Creutzfeldt y Jakob en los años 20.	Descrita en Gran Bretaña en 1996.
Incidencia	1-2 casos por millón de habitantes y año.	Identificada en 190 personas (157 en Reino Unido y 33 en otros países) aunque sin confirmación neuropatológica en algunos casos.
Edad de inicio	La gran mayoría por encima de 55 años.	La gran mayoría de 15 a 55 años.
Etiología	-Forma esporádica (~ 90 %) (Desconocida) -Forma familiar (~ 10%) (Genética) -Forma yatrogénica (Debida a trasplantes, etc.)	Posiblemente por consumo alimentario de productos que contienen tejido nervioso de ganado vacuno afectado de EEB.
Sintomatología	-Demencia progresiva, mioclonías y mutismo acinético. -En algunas ocasiones alteraciones cerebelosas.	-Síntomas psiquiátricos tempranos y/o síntomas sensitivos (disestesias, dolor) -Posteriormente, síntomas neurológicos.
Duración	En general es inferior al año, con una media de duración entre 4 y 6 meses.	Algo más de un año (un promedio de 14 meses).
Diagnóstico	-Complejos periódicos de ondas agudas y lentas en el EEG -14-3-3 en CSF -Estudio anatomopatológico -Detección de PrP ^{res} por WB en tejido cerebral	-Ausencia de complejos periódicos de ondas agudas y lentas en el EEG. -Baja sensibilidad de la prueba de la proteína 14-3-3 en LCR -Identificación de "placas floridas" (amiloideas) y de PrP ^{res} en tejido cerebral por WB

Tabla 3. Características de la ECJ esporádica y de la nueva variante de la ECJ

Todos los casos descritos hasta la fecha de la nueva variante de la ECJ son homocigotos M/M en el codón 129 del PRNP (Will RG y col., 2000; Peden AH y Ironside JW, 2004). Se desconoce si ese polimorfismo determina una mayor susceptibilidad a la enfermedad o bien si influye en el

tiempo de incubación, pero el hecho indiscutible es que su presencia contribuye de forma importante al desarrollo de la enfermedad.

Los casos familiares de la ECJ muestran mutaciones autosómicas dominantes en el PRNP. Han sido descritas 50 mutaciones diferentes en el PRNP. Las de tipo puntual son minoritarias y afectan comunmente a los codones 102, 178, 200 y 210. Las provocadas por inserciones de 5 ó 6 repeticiones octopeptídicas afectan al 95% de los casos (Capellari S y col., 2005). El estudio genético familiar se considera un punto clave en el control y la prevención de las ECJ hereditarias.

Los casos de origen yatrogénico de la ECJ se atribuyen, mayoritariamente, a la contaminación de material quirúrgico durante intervenciones neurológicas (como electrodos), a transplantes de dura madre procedentes de pacientes enfermos y a inyecciones de hormonas extraídas de las glándulas pituitarias (Brown P y col., 2000). El control de esas vías de contagio en los hospitales ha supuesto la práctica eliminación de este tipo de transmisión de la ECJ.

3.2- Diagnósticos de ECJ en el Instituto de Neuropatología del Hospital Universitario de Bellvitge

El instituto de neuropatología (INP) es un centro ubicado en el Hospital Universitario de Bellvitge (Hospitalet de Llobregat, Barcelona) que es, por un lado, centro de diagnóstico de enfermedades neurodegenerativas y, por otro, un centro de investigación básica sobre dichas enfermedades. Existe una coordinación permanente entre el INP y el Banco de tejidos neurológicos del Hospital Clínico de Barcelona así como una intensa colaboración con otros grupos de investigación de ámbito estatal e internacional.

El laboratorio principal del INP tiene, además, un laboratorio de riesgo biológico p3 en el que se trabaja con muestras de enfermedad priónica que, en primera instancia, son diagnosticadas y luego utilizadas como objeto de investigación. La mayor parte de las muestras para diagnóstico son de tejido neurológico post-mortem con posible afección por ECJ, aunque, ocasionalmente, también se reciben muestras de otras EETs humanas (ECJ familiar, GSS, FFI)..

En el laboratorio p3 del INP se aplican, de manera rutinaria, múltiples técnicas de biología molecular y bioquímica. La técnica de WB es la que tiene una importancia más significativa desde un punto de vista diagnóstico ya que

permite la detección de la PrP^{res} en tejido cerebral. En el caso particular de la ECJ las muestras que se analizan son de corteza frontal y cerebelo. Para el diagnóstico de la ECJ se requiere un paso previo al WB que resulta crítico: las muestras deben ser tratadas con una proteasa llamada proteinasa K (PK) (*Tabla 4*). Este proceso permite la detección de bandas de PrP^{res} características de la ECJ o bien la no-detección de las mismas en los casos de diagnóstico negativo. La detección de la proteína se realiza con el anticuerpo anti-PrP clon 3F4 (Dako).

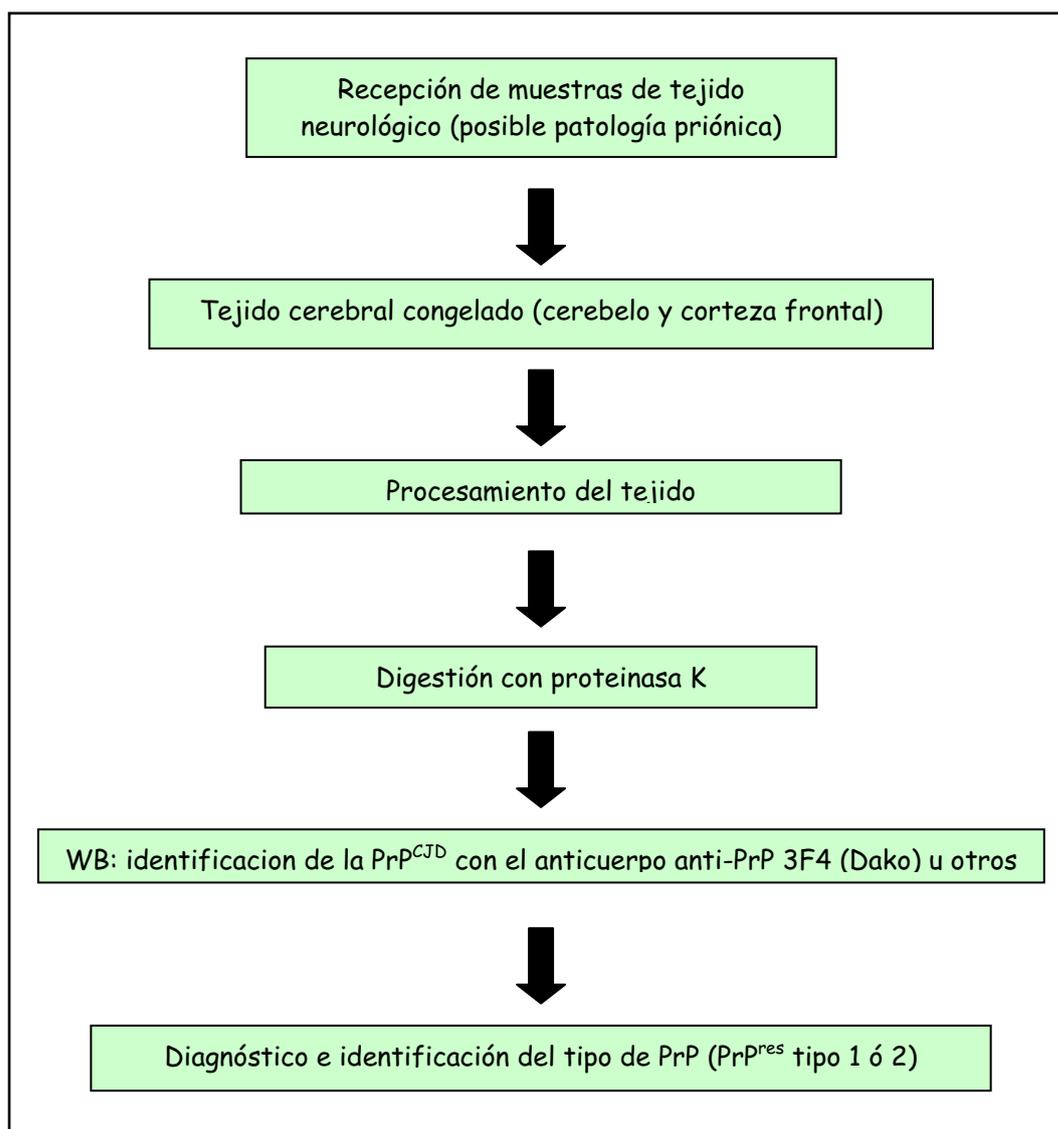


Tabla 4. Diagnósticos de ECJ realizados en el Instituto de neuropatología del Hospital universitario de Bellvitge (2001-2007)

Además del diagnóstico elemental para cada caso (positivo o negativo) es importante establecer si la PrP presente en la muestra es de tipo 1 ó 2, porque el cuadro clínico de la ECJ depende del tipo de PrP. La información que revela el WB junto con la que refleja el historial clínico, permite

establecer un diagnóstico definitivo del caso. El INP-p3 lleva seis años en funcionamiento y se han diagnosticado unos 40 casos positivos de ECJ, 28 de los cuales presentan PrP^{res} tipo 1 y 12 PrP^{res} tipo 2 (*Figura 5*).

A

Nº	NAME	PrP T _{vpe}	Nº	NAME	PrP T _{vpe}
1	A99/182	1	21	BK 737	1
2	A99/035	1	22	BK 738	1
3	BK 482	1	23	BK 744	1
4	BK 520	1	24	BK 751	2
5	BK 523	1	25	BK 759	1
6	BK 524	2	26	BK 761	1
7	BK 553	1	27	BK 762	2
8	BK 562	1	28	BK 767	2
9	BK 612	1	29	BK 777	1
10	BK 644	1	30	BK 793	2
11	BK 650	2	31	BK 795	1
12	BK 651	1	32	BK 798	1
13	BK 655	2	33	BK 800	1
14	BK 671	1	34	BK 803	2
15	BK 678	1	35	BK 823	1
16	BK 690	1	36	BK 827	2
17	BK 693	2	37	BK 834	2
18	BK 694	1	38	BK 838	2
19	BK 705	1	39	BK 854	1
20	BK 724	1	40	BK 863	1

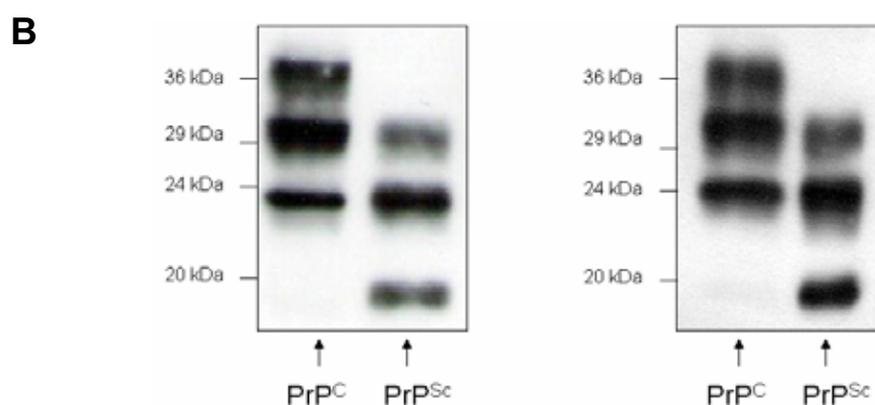


Figura 5. Diagnósticos de ECJ realizados en el Instituto de neuropatología del Hospital universitario de Bellvitge (2001-2006). (A) Tabla de los casos y tipo de PrP. (B) Imágenes de dos casos diagnosticados por WB.

3.3 - *Neuroprion*

Neuroprion es una red de laboratorios de ámbito europeo para el estudio coordinado de las enfermedades priónicas que pretende integrar y coordinar a los laboratorios participantes tanto en el campo del diagnóstico y detección como en el de la investigación de las EETs.

Partiendo de la base de que la ECJ es la EET humana más importante, *Neuroprion* pretende, por un lado, construir un banco de tejidos de ECJ común para todos los laboratorios participantes y, por otro, establecer criterios rigurosos de manipulación y de diagnóstico de ECJ. En este proyecto participan laboratorios de referencia en neuropatología y de prestigio internacional como los de Munich, París, Viena, Milán y Edimburgo.

Según los estudios dirigidos por el Dr. Piero Parchi, que es uno de los impulsores de este proyecto, existen perfiles de Pr^{Pres}, identificables por la proporción y posición relativa de las isoformas de Pr^{Pres} en WB, asociados, de forma típica, a cada genotipo del codón 129 (Parchi y col., 1999). A pesar de que, por un lado, establecer una clasificación rigurosa basada en estos datos entraña una gran dificultad y de que, por otro lado, existen cierta controversia al respecto de esta clasificación, es sabido que la combinación de ambos datos condiciona aspectos como la susceptibilidad, el tiempo de incubación y progresión, así como la aparición de determinados rasgos clínicos de la ECJ. Partiendo de esta base, se han convocado varias reuniones conjuntas para discutir sobre la mejora de los diagnósticos de ECJ y para tratar de consensuar un protocolo que permita, no sólo identificar el tipo de Pr^{Pres} presente en las muestras, sino también inferir el genotipo del codón 129 (M/M, M/V, V/V) partiendo del patrón de bandas presentes en el WB (*Figura 2 y 4*).

En el panorama actual, se considera básica la coordinación de los laboratorios integrantes del proyecto *Neuroprion* ya que, previsiblemente, tendrá un papel crítico en los próximos años, tanto en el seguimiento de las prionopatías y el refinamiento de los diagnósticos como en el impulso de una investigación más potente y prolífica en el ámbito de las EETs.

3.4- Degeneración celular y neuropatología de las EETs

La degeneración neuronal es una de las características neuropatológicas más importantes de las EETs (DeArmond SJ y col., 2003). Aunque existen diferentes procesos relacionados con la neurodegeneración en estas enfermedades todos ellos tienen un inicio probable en la

producción y deposición de del prión. Varios estudios histológicos y por microscopio electrónico indican que todos esos procesos conducen a la muerte neuronal por apoptosis (Giese A y Kretzschmar HA, 2001). Si bien el daño celular provocado por el estrés oxidativo se considera el principal fenómeno implicado en la neurodegeneración, también los mecanismos ligados a la neurotransmisión así como los relacionados con la degradación de proteínas anormales, podrían tener estar involucrados en el daño neuronal en las EETs, considerando su papel en otras enfermedades neurodegenerativas.

3.4.1- Muerte celular por estrés oxidativo

De acuerdo con su concepto histórico, se entiende por estrés oxidativo las alteraciones resultantes de las especies reactivas de oxígeno (Deibel MA y col., 1996). Las especies reactivas de oxígeno son un producto derivado del metabolismo oxidativo celular que se produce en la mitocondria durante la fosforilación oxidativa. En estos procesos se generan moléculas con electrones desapareados y con alta reactividad. El superóxido (O_2^-) constituye un ejemplo de molécula oxidante. Se trata de una molécula de vida corta que es reducida por la familia de las SODs para generar peróxido de hidrógeno (H_2O_2). La acción de cationes bivalentes redox-activos, como el Fe^{2+} , reduce la H_2O_2 y genera radicales libres hidroxil (OH^\cdot). El OH^\cdot es un radical libre con alta capacidad oxidativa y puede reaccionar con proteínas, lípidos y ácidos nucleicos. El óxido nítrico (NO) es otro radical libre de vida corta con toxicidad limitada producido por las enzimas óxido nítrico sintasas. Cuando el NO interacciona con el OH^\cdot , forma el peroxinitrito ($ONNO^\cdot$), que es otra especie muy reactiva que puede dañar macromoléculas a través de la nitración o de la generación de radicales libres.

El estrés oxidativo se perfila como uno de los mecanismos más importantes relacionados con la degeneración neuronal en las EETs. Estos procesos pueden seguir distintas vías pero parece que en todas ellas las células de microglia tienen un papel mediador fundamental (Giese A y Kretzschmar HA, 2001).

Se conoce como sistema de defensa antioxidante el que constituye un grupo de proteínas que neutralizan el efecto de los radicales libres (Byung Pal Yu, 1994). El sistema de defensa antioxidante está tan diversificado como los mismos radicales libres de oxidación. Las células contienen varios mecanismos moleculares capaces de reciclar diferentes especies de radicales libres, incluyendo peróxidos lipídicos y radicales libres orgánicos carbonados. Estos "basureros" están estratégicamente

compartimentalizados en organelas subcelulares para proporcionar una máxima protección. Por ejemplo, la SOD, la catalasa y la GSH-PX no sólo están distribuidas en el citosol sino también en la mitocondria, donde son producidos la mayoría de los radicales libres (Jialal, I. y col, 1988; Leadon, S. A., and P. C. H, 1976).

Algunos estudios atribuyen a la PrP^C una actividad superóxido dismutasa "SOD like" (Brown DR y col., 1999). Otros demuestran que la ausencia de PrP^C resulta en una reducción de la capacidad antioxidante debida, en parte, a un descenso de la actividad SOD-1 (Bio KF y col., 2001; Brown DR y col., 1997; Sakudo A y col., 2003; White AR y col., 1999). En la misma línea, ratones sin PrP^C muestran niveles incrementados de marcadores de oxidación (Wong BS y col., 2001; Wong BS y col., 2000). También se ha visto estrés oxidativo incrementado en enfermedades priónicas humanas y animales (Kim JI y col., 2001; Milhavet O y Lehmann S, 2002). Además, la pérdida de función de la PrP^C fisiológica también puede contribuir a un mayor estrés oxidativo, teniendo en cuenta su capacidad fijadora de Cu⁺ y su papel regulador del metabolismo de dicho metal (Giese A y Kretzschmar HA, 2001).

Se han realizado varios estudios en cerebro de ratón infectado con *scrapie* en el que se ha analizado la disfunción mitocondrial, la producción de radicales libres, la inducción de hemoxygenasa-1 y N-tyr y la acumulación de 4-HNE, que es un producto de peroxidación lipídica que forma aductos (Andreoletti O y col., 2002; Choi SI y col. 1998; Choi YG y col., 2000; Guentchev M y col., 2000; Lee DW y col., 1999). Paralelamente, en pacientes con ECJ se ha visto incremento de estrés oxidativo que daña a los ácidos nucleicos (Guentchev M y col., 2002; Van Everbroeck B y col., 2004), acumulación de 4-HNE (Andreoletti O y col., 2002), incremento de expresión de SOD-1 (Ferrer I, 2002), incremento de AGE y de RAGE (Sasaki N y col., 2002).

3.4.2- Neurotransmisión: los neurotransmisores y sus receptores

3.4.2.1- Receptores de glutamato

El glutamato es el neurotransmisor excitador más importante del SNC. Su acción está mediada por los GluRs que se clasifican en ionotrópicos y metabotrópicos. Los iGluRs son canales catiónicos dependientes de ligando que median respuestas excitatorias rápidas y los mGluRs están acoplados a vías de señalización intracelular y median respuestas lentas (Conn y Pin, 1997; Michaelis, 1998; Ozawa y col., 1998) (*Figura 6, A y B*).

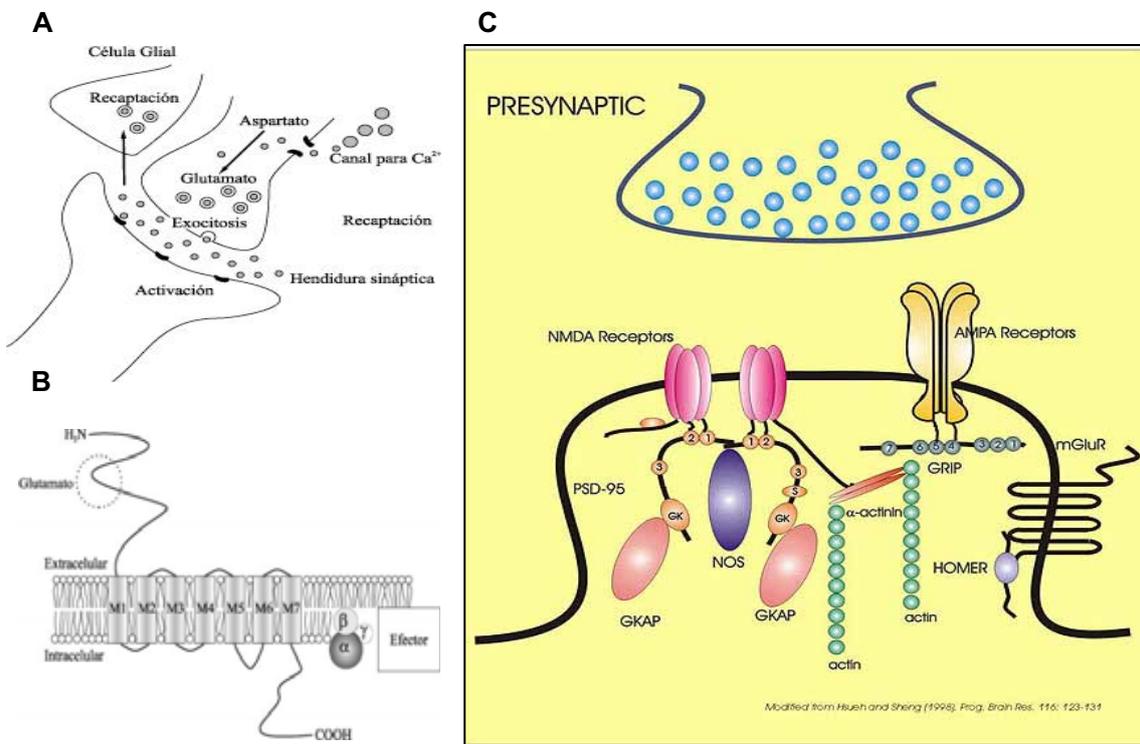


Figura 6. Receptores de glutamato. (A) Receptor metabotrópico de glutamato (mGluR). (B) Sinapsis glutamatérgica. (C) Receptores de glutamato (NMDA, AMPA y mGluR) en la sinapsis (Michelle M. Aarts y col., 2003).

3.4.2.2- Receptores metabotrópicos de glutamato

Los mGluRs están divididos en ocho subtipos que se clasifican en tres grupos dependiendo de sus propiedades de transducción de señales. El grupo I, que incluye al mGluR₁ y al mGluR₅, está acoplado positivamente a la actividad de PLC. El sistema PLC está constituido por tres grupos estructurales: β , γ y δ . La PLC β_1 es la isoforma más expresada de la PLC β en el cerebro y es activada por la familia Gq de las proteínas-G mientras la PLC γ es un sustrato para la tirosina kinasa (Hamm, 1998; Rebecchi y Pentylala, 2000; Rhee, 2001). La activación del mGluR₁ y del mGluR₅ post-sinápticos promueve la activación de PLC β_1 , que hidroliza un fosfolipido de membrana, el PIP₂, para producir dos mensajeros intracelulares, el DAG y el IP₃. La interacción del IP₃ con una proteína constituyente de canal de Ca²⁺ en la membrana del ER provoca una salida rápida de Ca²⁺ acumulado en el ER y un incremento del Ca²⁺ libre en el citosol. El DAG permanece en la membrana y, junto con el Ca²⁺, activa a la PKC que regula la expresión génica a través de la fosforilación de varias proteínas diana, incluyendo algunas

kinasas (Hammond, 2003; Phillis y O'Regan, 2004). Los mGluRs de grupo I están implicados en plasticidad sináptica, en la potenciación a largo plazo y en el procesamiento de la memoria (Conn y Pin, 1997; Pin y Acher, 2002) (*Figura 6, C*)

3.4.2.3- Receptores ionotrópicos de glutamato

Los iGluRs son canales catiónicos dependientes de ligando que median una neurotransmisión excitadora rápida por la despolarización de la membrana y la generación de corrientes eléctricas a través de los procesos sinápticos. Los iGluRs son complejos multiméricos de 4 o 5 subunidades y están subdivididos en 3 grupos basándose en sus características farmacológicas: los AMPA, que incluyen a GluR1-GluR4; los NMDA, que incluyen a NR1, NR2A-D y NR3A; y los kainato, que incluyen al GluR5-GluR7 y KA1, 2. Los receptores AMPA median la transmisión sináptica rápida en el SNC y están compuestos por las subunidades GluR1-4. Es destacable que el receptor NMDA requiere glicina, además de glutamato, para permitir el correcto funcionamiento del receptor. Observaciones previas por inmunohistoquímica han mostrado alteraciones variables entre un caso y otro consistentes cambios en la localización celular, en la expresión de las subunidades de los iGluRs en el cerebelo y en la corteza cerebral (Ferrer I y Puig B, 2003) (*Figura 6, C*).

3.4.2.4- Receptores de adenosina

La adenosina es un neurotransmisor que está involucrado en la regulación de diferentes procesos metabólicos en condiciones fisiológicas y patológicas y media su función a través de los ARs (Ralevic V y Burnstock G, 1998; Dunwiddie TV y Masino SA, 2001; Wittendorp MC y col., 2004). En el cerebro, la adenosina modula la actividad neuronal reduciendo la liberación pre-sináptica de varios neurotransmisores (Wittendorp MC y col., 2004; Fredholm BB y Dunwiddie TV, 1988; Arrigoni E y Rainnie DG, 2001). La acción inhibitoria más importante se produce sobre el sistema glutamatérgico (Dunwiddie TV y Masino SA, 2001; Dunwiddie TV y Hoffer BJ, 1980; Kocsis JD y Eng DL, 1984). Los ARs son un grupo de GPCRs que están clasificados en 4 grupos: A₁, A_{2a}, A_{2b} y A₃. El A₁ y el A₃ median la inhibición de adenilato ciclasa (AC) a través de proteínas-G α i y el A_{2a} y A_{2b} median la estimulación de la actividad de AC a través de proteínas-G α s (Fredholm BB y col., 2001; Yaar R y col., 2005) (*Figura 7*). Además, la estimulación de A₁Rs activa a las PLCs, a varios tipos de canales de K⁺ e inhibe los flujos de Ca²⁺ (Ralevic V y col., 1998; Wittendorp MC y col., 2004). El receptor A₁ se encuentra en diferentes tejidos (Reppert SM y col., 1991;

Dixon AK y col., 1996) pero está enriquecido en el SNC, donde se expresa en la corteza frontal, hipocampo, cerebelo, tálamo y tallo encefálico (Reppert SM y col., 1991; Wardas J, 2002). Han sido descritas interacciones funcionales y moleculares entre los A_1 Rs y el $mGluR_1$ (Ciruela F y col., 2001). En la misma línea, algunos estudios han indicado que los A_1 Rs presinápticos pueden mediar los efectos neuroprotectores de la adenosina en las neuronas y en las células gliales limitando la apertura de los canales de Ca^{2+} dependientes de voltaje, atenuando la absorción neuronal de Ca^{2+} y disminuyendo la liberación de glutamato (Schubert P y col., 1997; Zalewska-Kaszubska, 2002). De forma similar, la adenosina puede inhibir la absorción de Ca^{2+} inducida por glutamato y las corrientes de Ca^{2+} dependientes de voltaje a través de la activación de los A_1 Rs en células ganglionales de rata (Hartwick AT y col., 2004). Además, las acciones de la adenosina sobre los A_1 Rs post-sinápticos pueden activar canales de K^+ induciendo la hiperpolarización de neuronas post-sinápticas y promoviendo la inhibición de receptores NMDA (Wardas J, 2002).

Observaciones recientes han demostrado que hay una disminución de la expresión de proteínas relacionadas con la exocitosis y la transmisión sináptica a nivel cerebral en humanos y animales con enfermedad priónica (Ferrer I y col., 1999, 2000; Sisó y col., 2002). Al parecer, la pérdida neuronal aparece de manera conjunta con la disminución de la expresión proteica en estadios iniciales de estas enfermedades (Clinton y col., 1993; Jeffrey y col., 1995; 2000). De esta manera, se ha sugerido que el fallo de la transmisión sináptica es un hecho crucial en la neurodegeneración en la ECJ y en enfermedades por prión (Giese y Kretzschmar, 2001). En cualquier caso, los estudios sobre la expresión de diferentes neurotransmisores así como de sus receptores son escasos en las EETs.

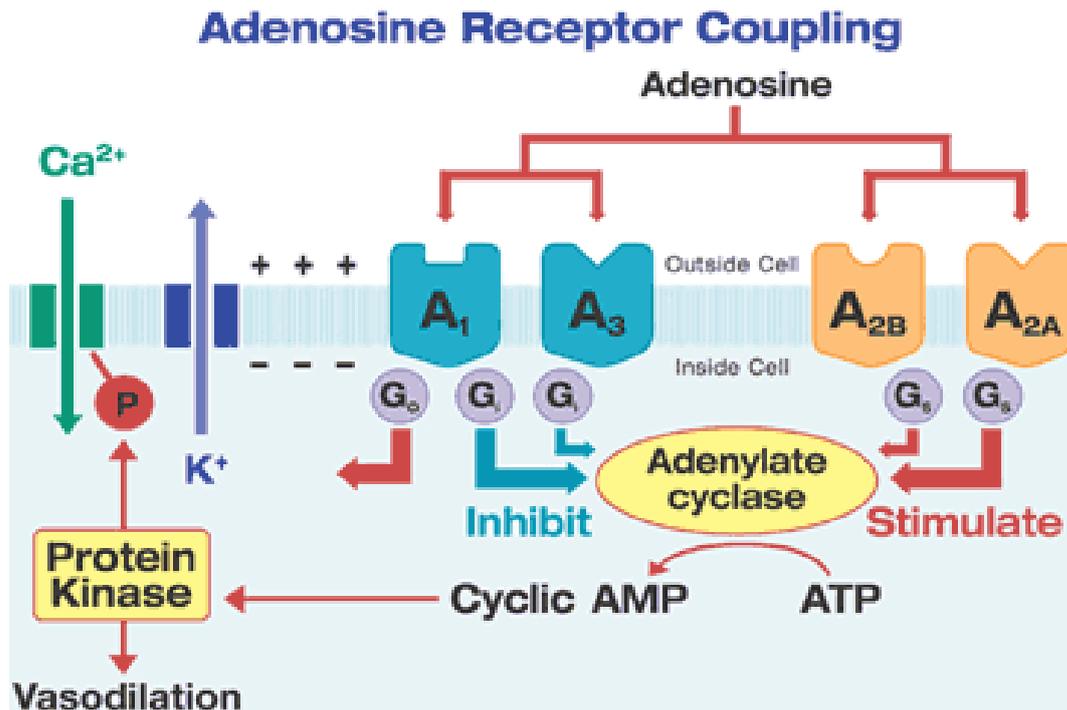


Figure 7. Receptores de adenosina en la membrana celular (Imagen de Aderis pharmaceuticals).

3.4.2.5- Receptores GABA

El GABA es el mayor neurotransmisor inhibitor del SNC de los mamíferos. Hay tres tipos principales de receptores GABA: GABAA, GABAB Y GABAC. Los receptores GABAA son canales de Cl⁻ hetero-oligoméricos que son bloqueados selectivamente por bicuculina y son modulados por esteroides, barbituratos y benzodiazepinas (*Figura 8*). Los receptores GABAB son receptores trans-membranales que están acoplados a proteína-G cuya represión lleva a la supresión de liberación de neurotransmisores y de la transmisión excitadora post-sináptica. Los receptores GABAB están compuestos de 2 heterómeros, GABABR1 (GBR1) y GABABR2 (GBR2) (Chebib y Graham, 1999; Oliveira Belebóni, 2004; Roy-Byrne, 2005). Los receptores GABAC están expresados de manera generalizada en el SNC pero tienen un papel fundamental en la retina. Están asociados a canales de Cl⁻ pero difieren de los receptores clásicos GABAA en sus propiedades farmacológicas y en su respuesta a varios moduladores (Cutting, 1991; Dong y Werblin, 1994).

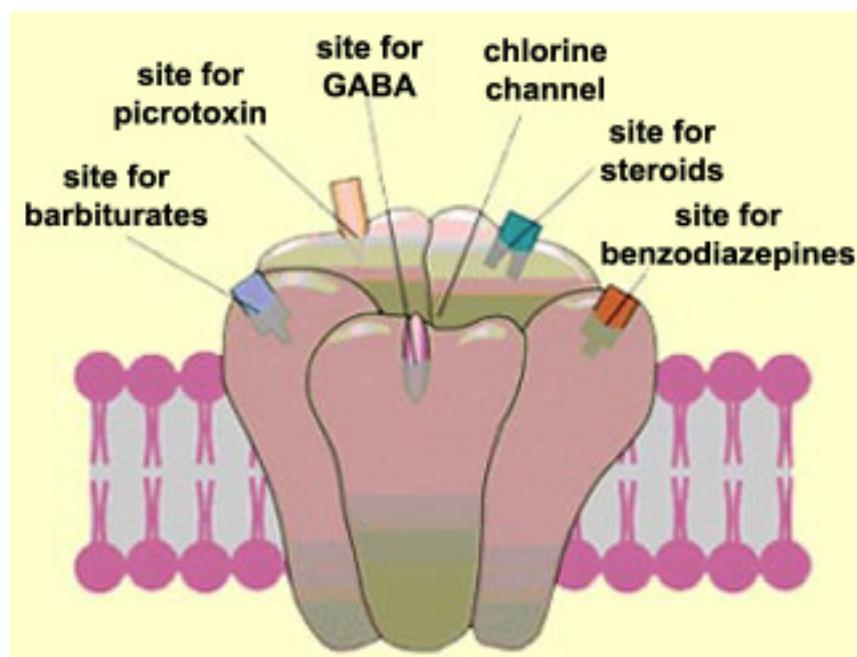


Figura 8. Receptor GABA y sitios de unión para diferentes moléculas agonistas (imagen extraída de: *The-half-decent-pharmaceutical-chemistry-blog*).

3.4.2.6- Proteínas G

Las proteínas-G son un grupo de proteínas transmembranales con capacidad GTPasa que se unen a diferentes receptores, por lo que les proporcionan el nombre de GPCRs. Las proteínas-G son proteínas heterotriméricas compuestas de tres subunidades: α , β y γ . Estas subunidades están localizadas en la región citoplásmica de la membrana plasmática (Wettschureck y Offermanns, 2005). La subunidad α une nucleótidos de guanina y funciona como una GTPasa. La unión de ligandos a sus receptores específicos provoca un cambio conformacional en el complejo de la proteína-G (Prinster y col., 2005). En esta situación, el GDP unido a la $G\alpha$ es intercambiado por GTP provocando la disociación del complejo $G\alpha$ y $G\beta/\gamma$. Después, la subunidad $G\alpha$ y el complejo libre $G\beta/\gamma$ difunde a lo largo de la membrana, activando diferentes efectores dependiendo del tipo de $G\alpha$. Finalmente, la subunidad $G\alpha$ se reasocia con el complejo $G\beta/\gamma$, inactivando de nuevo el sistema (Wettschureck y Offermanns, 2005; Prinster y col., 2005). Hay 20 tipos diferentes de subunidades $G\alpha$ que interactúan con diferentes tipos de efectores. La isoforma $G\alpha_s$ estimula a AC, induciendo la producción de cAMP (**Figura 9**). La isoforma $G\alpha_i$ incluye a $G\alpha_{i1}$, $G\alpha_{i2}$ y $G\alpha_{i3}$, e inhibe a AC. Finalmente, la isoforma $G\alpha_q$ activa a PLC. No hay ninguna información disponible acerca de las proteínas-G en EETs.

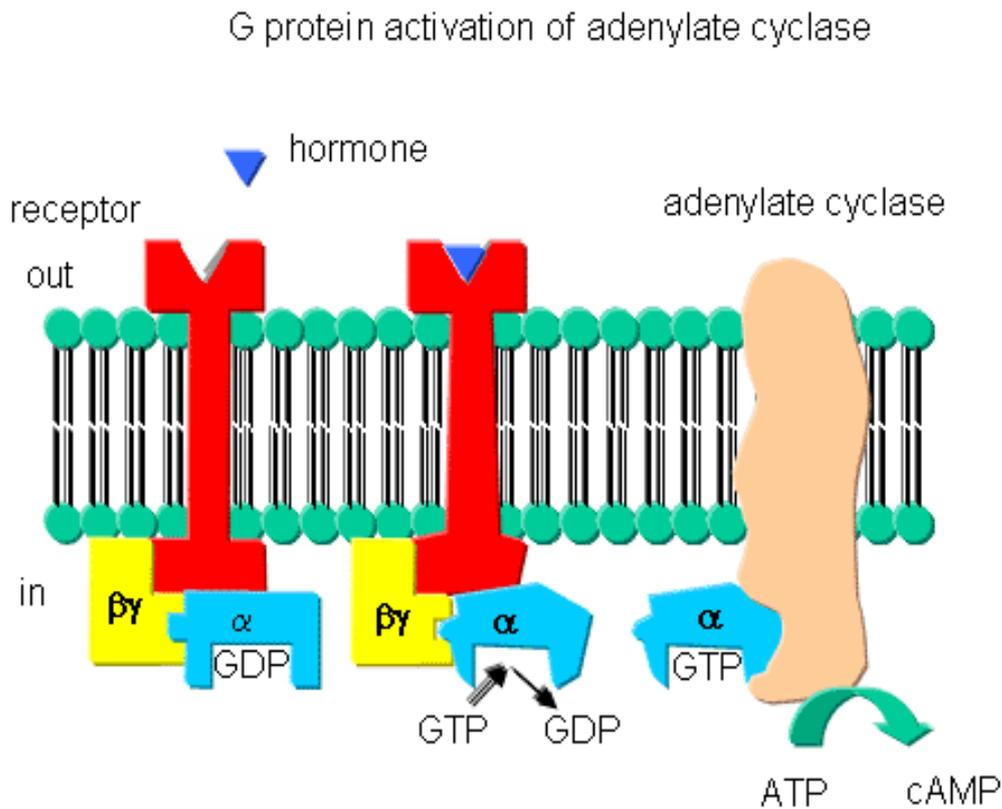


Figura 9. Proteínas-G α acopladas a AC (imagen extraída de: chapter 9 signal transduction; Signal transduction at cell membranes protein kinase/phosphatases. Biochemistry- Dr. Jakubowski).

3.4.3- El cambio esponjiforme

El cambio esponjiforme, un fenómeno neuropatológico típico en la mayoría de las enfermedades priónicas, consiste en la formación de vacuolas redondeadas en el neuropilo que contienen, en algunos casos, cámaras vacuolares secundarias (*Figura 1*). Es sabido que técnicas de imagen como el FLAIR es un método para revelar incrementos en el contenido de agua en áreas cerebrales (Collie DA y col. 2003; Murata T y 2002; Tsuboi Y y col., 2005; Ukisu R y col., 2005). De esta manera, la exploración de mecanismos reguladores de la homeóstasis del agua es un punto importante en la comprensión de la espongirosis en las EETs.

3.4.3.1- Las aquaporinas

Las AQP's facilitan el flujo de agua a través de la membrana plasmática en varios tipos celulares y juegan un papel importante en el mantenimiento de la homeóstasis (Amiry-Moghaddam M y Ottersen OP, 2003; Ferrer I, 2005; Gunnarson E y col., 2004; Kimelberg HK, 2004; Venero JL y col., 2004; Verkman AS, 2002).

Los canales de agua que forman las AQP's tienen forma de reloj de arena, en el que la forma más estrecha permite el paso de agua pero no de protones y cationes por restricción de cantidad de iones y por repulsión electrostática (Agre P y Kozono D, 2003; Aguzzi A, 2003) (*Figura 10*). Las AQP's están expresadas de manera diferencial en los tejidos. La AQP1, la AQP4 y la AQP9 son AQP's presentes en el cerebro. La AQP1 está expresada en las membranas apicales del plexo coroideo, pero pueden estar expresadas en los astrocitos en condiciones patológicas. La AQP4 es particularmente abundante en los pies astrocitarios bordeando el endotelio y la superficie pial. La AQP9 está expresada mayoritariamente en el citoplasma de los astrocitos y de células ependimales (Amiry-Moghaddam M y Ottersen OP, 2003; Badaut J y col. 2002; Frigeri A y col., 1995; Neely JD y col., 1999; Nielsen S y col., 1997; Nielsen S y col., 1993).

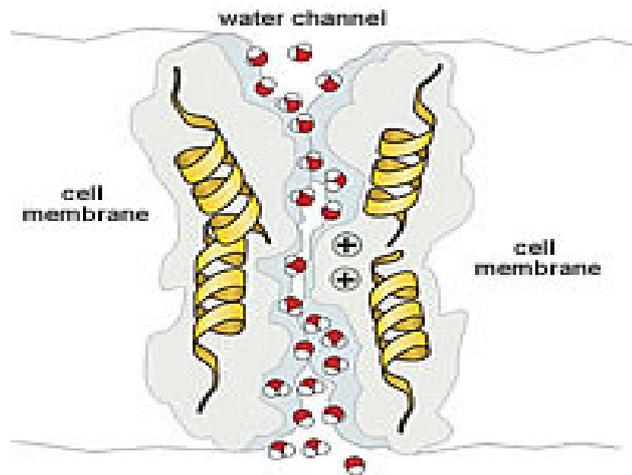


Figura 10. Imagen del canal de agua o aquaporina (imagen sacada de: Dome, a publication for all the members of the Johns Hopkins Medicine family. Volume 54. Number 9- November 2003).

3.5- Factores de transcripción y MAPKs

Las MAPKs responden a distintas señales y regulan diversas funciones celulares a través de la activación de factores de transcripción que modulan la expresión génica. La familia MAPK incluye tres sub-familias bien caracterizadas que se activan por fosforilación: las ERK (ERK-1 y ERK-2), las JNKs y la p38. (Robinson M.H. Cobb, 1997). La familia CREB incluye a CREB1 y CREB2; la fosforilación de CREB en la Ser133 facilita su interacción con el CBP de 265 kDa y activa el complejo de transcripción basal. CREB también puede ser activado por varias vías de señalización incluyendo a las MAPKs (Yamamoto, G.A., 1998). CREB está ampliamente

expresado en numerosos tejidos pero juega un papel regulador muy importante en el sistema nervioso, donde se cree que promueve supervivencia neuronal, proliferación de precursores, crecimiento neurítico y diferenciación neuronal en algunas poblaciones neuronales. c-Fos codifica para una proteína nuclear fosforilada de 62 kDa que es rápidamente inducida por varios agentes y sus funciones como un regulador transcripcional para varios genes (Morgan, J.I., 1991). La vinculación de CREB y c-Fos en enfermedades degenerativas humanas es poco conocida. Los niveles de CREB totales son normales pero la fosforilación de CREB está disminuida en AD (Yamamoto-Sasaki M. y col., 1999). La inmunoreactividad de c-Fos está incrementada aparentemente en algunas áreas del hipocampo en pacientes con AD (MacGibbon G.A. y col, 1997; Marcus D.L. y col, 1998). Un incremento de la expresión de c-Fos ha sido asociado a la toxicidad inducida por β -amiloide en una línea celular hipocampal de ratón (Guillardon F. y otros, 1996). Por contra, estas observaciones no se han replicado en modelo transgénico de ratón de AD (Ferrer I y col., 2006). Estudios recientes en inmunohistoquímica han descrito una expresión anormal de factores de transcripción en PiD (Nieto-Bodelón M.G. y otros, 2006). Se ha observado un incremento de CREP-P y c-Fos en los núcleos de neuronas en regiones vulnerables (corteza frontal) y en regiones resistentes (giro dentado) lo cual sugiere que el incremento de la expresión de los factores de transcripción es, simplemente, un factor determinante de muerte celular (Nieto-Bodelón M.G. y otros, 2006).

Cascadas de señalización de las MAPKs

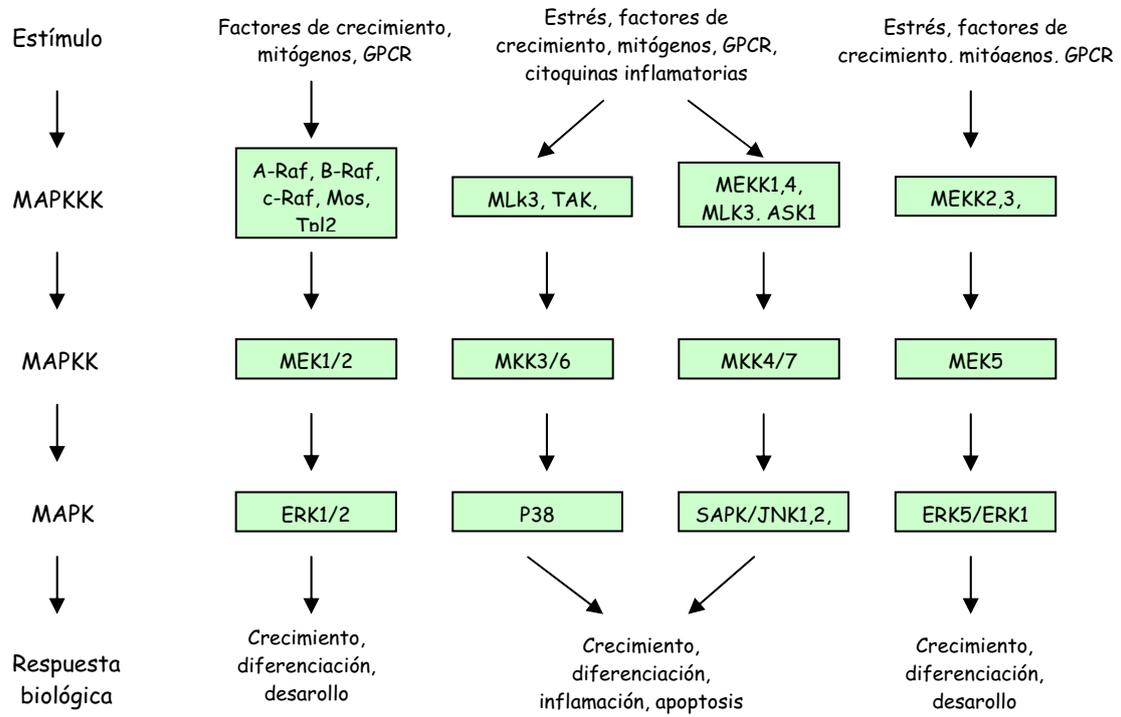


Figura 11: Principales estímulos y respuestas de la vía de señalización de las MAPKs.