



**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**

6- Discusión

Los estudios realizados en esta tesis revelan un deterioro notable en algunas vías de neurotransmisión y de transducción de señales relacionadas con la neurodegeneración, así como una alteración significativa en la señalización de algunos grupos de proteínas involucrados en fenómenos neuropatológicos característicos de las EETs.

Está descrito que los fallos en la neurotransmisión y en la señalización intracelular pueden tener una implicación importante en el desarrollo de la neuropatología de múltiples enfermedades neurológicas y neurodegenerativas, incluyendo a las EETs. Paralelamente, la localización celular del prión, fundamentalmente sináptica, y las funciones comunmente asociadas a la PrP^C en condiciones fisiológicas, como son su participación en la transducción de señales y en el estrés oxidativo, invitan a especular con posibles efectos de la toxicidad del prión que provoquen la aparición de dichas alteraciones. Resulta complicado, sin embargo, saber si el origen de estas alteraciones es una causa directa de la ausencia de función fisiológica de la PrP^C debido a la multiplicación del prión, o bien si es un efecto de la neurotoxicidad del prión y de su deposición en el SNC.

Algunas de las alteraciones que muestran nuestros resultados parecen ser generalizables a otras enfermedades neurodegenerativas con depósitos de proteínas anormales, tales como las taupatías y las α -sinucleinopatías. Sin embargo, otros de los resultados que derivan de nuestros estudios, revelan alteraciones que parecen ser exclusivas de las EETs y, por tanto, cabría considerarlas una consecuencia de la vulnerabilidad característica que provoca la patología por priones.

En primer lugar y, partiendo de la base de que la neurotransmisión glutamatérgica juega un papel crucial en el SNC, uno de los trabajos realizados se ha dirigido al estudio de la vía de señalización de los mGluRs de grupo I. Este estudio revela niveles de expresión reducidos de PLC β_1 , PLC γ y nPKC δ en la corteza frontal de ECJ cuando se compara con controles, lo cual contrasta con unos niveles normales de mGluR $_1$ y cPKC α . De este modo, las diferencias que se aprecian son selectivas para ciertas proteínas y, probablemente, independientes de la pérdida neuronal, como se podría inferir en caso de una reducción generalizado de todas las proteínas.

Paralelamente, los mismos estudios realizados en un modelo murino de EEB, concretamente en ratones transgénicos para la PrP bovina (BoPrP-Tg110) infectados con EEB, muestran un deterioro de la vía de señalización mGluR $_1$ /PLC β_1 /PKC δ asociado a la progresión de la enfermedad, cuando se compara con ratones control. La señalización anormal del receptor de

neurotransmisor coincide con la deposición de PrP^{res}, con cambios histológicos y con un cuadro clínico anormal.

Los mGluRs de grupo I están implicados en procesos de memoria y potenciación a largo plazo (Petersen y col., 2002; Rodrigues y col., 2002; Conn, 2003; Taccola y col., 2004). De este modo, una expresión disminuida de los elementos que integran la transducción de señales generadas por los mGluRs puede ocasionar alteraciones en los procesos de memoria y aprendizaje. Por otro lado, una expresión disminuida de las PLCs (PLC β_1 y PLC γ) puede asociarse a un incremento de la gliosis reactiva (Floyd y col., 2004).

A pesar de no disponer de datos relativos a estudios funcionales, se pueden inferir algunas implicaciones partiendo de los resultados obtenidos. La disminución de PLC β_1 pueden reducir las concentraciones de Ca²⁺ citoplásmico y los niveles de DAG. La cPKC α requiere DAG y Ca²⁺ para su activación, mientras la nPKC δ solo es sensible a DAG (Nishizuka, 1992; Jaken, 1996; Mellor y Parker, 1998; Newton, 2001). Considerando que el DAG es necesario para la fosforilación de nPKC δ , es factible que los niveles reducidos nPKC δ en ECJ se puedan relacionar con la expresión disminuida de PLC β_1 y el descenso en el ratio de DAG producido.

Estudios previos en AD han demostrado que las vías de señalización asociadas a proteína G son vulnerables a AD (Yamamoto y col., 1996; CoWBurn y col., 2001).. En primer lugar, la vía de la hidrólisis del PIP₂ está alterada, tal y como evidencia la regulación anormal de la PLC β_1 a través de agonistas y de proteína G. Además, se observa un descenso de la PLC β_1 , un descenso en los niveles y actividad de PKC y una reducción de sitios de recepción (Wakabayashi y col., 1999; Bordi y Ugolini, 1999; García-Jimenez y col., 2003).

Otros estudios recientes han mostrado una expresión y señalización anormales de mGluR₁ en la corteza cerebral en DLB (Dalfó y col., 2004). En este caso, es destacable que la unión de glutamato y los niveles de mGluR₁ están incrementados en la forma pura de esta enfermedad, una forma no asociada con la patología de AD, pero no en la forma común, en la que la unión de glutamato y los niveles de mGluR₁ están disminuidos (Dalfó y col., 2004).

La razón por la que se producen estas diferencias no están claras, pero cabe destacar que la solubilidad de la PLC β_1 es anormal en DLB y que las interacciones entre la PLC β_1 y la α -sinucleína están reducidas, tal y como

muestran los ensayos de inmunoprecipitación (Dalfó y col., 2004). En contraste con la DLB, no se han encontrado diferencias de solubilidad de PLC β_1 entre casos ECJ y controles. Además, los ensayos de inmunoprecipitación no muestran interacciones aparentes entre PLC β_1 y PrP. De este modo, podemos asumir que los mecanismos involucrados en las alteraciones de la expresión de la PLC β_1 difieren entre ECJ y DLB.

Considerando las observaciones anteriores, nuestros resultados muestran una alteración en la vía de señalización de los mGluRs de grupo I en ECJ y en un modelo murino de la EEB que puede resultar en una variedad de consecuencias deletéreas, incluyendo una potenciación a largo plazo anormal, una alteración en los procesos de memoria y aprendizaje y algunos rasgos neuropatológicos característicos de las EETs. Estos resultados pueden ayudar a incrementar la comprensión sobre la función sináptica anormal en enfermedad priónica en relación con la deposición de PrP y la aparición de manifestaciones clínicas alteradas.

Teniendo en cuenta que la neurotransmisión de adenosina participa en diversas funciones en el SNC y tiene un papel crítico en la regulación de la neurotransmisión glutamatérgica y en la neuroprotección a través de los receptores A $_1$, hemos realizado un trabajo dirigido al estudio de la señalización intracelular de los A $_1$ Rs y A $_{2A}$ Rs en ECJ y en el modelo murino de EEB al que se ha hecho alusión anteriormente. Los resultados muestran un incremento en los niveles proteicos y de la actividad de A $_1$ R en la corteza frontal de ECJ comparando con controles y un incremento de la expresión de dicho receptor en la corteza cerebral de los ratones transgénicos infectados con EEB comparando con ratones sanos y asociado a la progresión de la enfermedad. Por otro lado, los estudios por inmunohistoquímica revelan una inmunoreactividad aumentada de A $_1$ R en neuronas en ECJ. El anticuerpo anti-A $_1$ R no ha reconocido ningún otro tipo celular, incluyendo astrocitos y microglia, lo cual confirma su localización neuronal.

Analizando con profundidad los resultados obtenidos, observamos que los WB para AC y la actividad basal de AC son similares en controles y en casos ECJ. Los ensayos *in vitro* realizados con muestras humanas demuestran un incremento marcado en el porcentaje de inhibición del AC estimulado con forskolina 50 mM en presencia de los agonistas CPA y CHA del receptor A $_1$ R, indicando una sensibilización del sistema. Además, hay una buena correlación entre el incremento de la expresión del A $_1$ R (186%) detectado por WB y el incremento de la inhibición de AC (199%) precedido por los ensayos *in vitro*. Estos resultados parecen ser específicos para los

receptores A_1R ya que los niveles proteicos de los receptores $A_{2A}R$ no están modificados en la corteza frontal en ECJ y en ratones con PrP bovina infectados con EEB. Dado que el incremento de niveles y actividad de los A_1Rs va acompañado de niveles preservados de $A_{2A}Rs$ y reducidos del grupo I de la vía de señalización $mGluR_1/PLC\beta_1$ (Rodríguez A y col., 2005) en los mismos casos, es razonable asumir que el incremento de los A_1Rs no es provocado por una regulación aberrante del UPS (Adori C y col. 2005). Dado que los resultados son similares en todos los casos ECJ, parece ser que el tipo de PrP^{res} y el genotipo en el codón 129 no tiene efectos en la respuesta del A_1R en ECJ.

Paralelamente, los resultados del ensayo de PCR TaqMan muestran que no hay cambios en la inducción del mRNA del A_1R en los casos ECJ cuando se compara con controles. Este resultado indica que el incremento en los niveles proteicos de A_1R y el incremento en la actividad del A_1R no están relacionados con una regulación a la alza del mRNA del receptor. De hecho, los niveles de expresión y actividad de A_1R incrementados podrían estar asociados con un incremento en el ratio de la translación del mRNA o con un reciclaje más largo del receptor en la membrana citoplásmica. Otra posibilidad es la deregulación del A_1R o del AC en la caveola membranal o en las vías de señalización asociadas a rafts lipídicos (Lasley RD y col., 2000; Escriche M y col., 2003). Los A_1Rs activados inducidos por ligando, son internalizados por caveolas (Lasley RD y col., 2000; Escriche M y col., 2003). El tiempo de reciclaje depende de varios factores pero, sobretodo, de la estructura de la membrana citoplásmica en sitios específicos (Escriche M y col., 2003). En esta línea, resulta relevante que los rafts están alterados en enfermedades priónicas (Taylor DR y Hooper M, 2006) y que cambios lipídicos y proteicos en los rafts lipídicos y las caveolas pueden interferir con la función normal de estas especializaciones membranales.

No abundan estudios sobre A_1Rs en corteza cerebral en enfermedades psiquiátricas y neurodegenerativas (Zalewska-Kaszubska J, 2002; Rudolphi KA y Shubert P, 1997). No obstante, algunos estudios previos han mostrado un cambio en el patrón de expresión y distribución de los A_1Rs en la corteza cerebral en AD (Angulo E y col., 2003; Deckert J y col., 1998). Una reducción en la intensidad de unión a radioligando sugiere una reducción de la función de A_1R en AD (Angulo E y col., 2003). Otros estudios han mostrado una redistribución de los A_1Rs y una sobreexpresión de A_1Rs en neuronas y en neuritas distróficas de placas seniles de AD (Angulo E y col., 2003). El incremento de la expresión de A_1R ocurre en corteza frontal y en estadios de la enfermedad con una cantidad moderada amiloide pero sin evidencias morfológicas de patología de tau hiper-

fosforilada (estadios límbicos III/IVB). Al margen de estos resultados, la actividad basal y estimulada del AC está reducida en la corteza cerebral en AD (Schnecko A y col., 1994; Yamamoto M y col., 2000).

Considerando conjuntamente los resultados obtenidos en nuestros estudios en ECJ y los descritos previamente en AD, resulta tentador especular sobre el papel de la PrP^{res} anormal y la deposición del β -amiloide en la regulación de la vía de señalización del A₁R. Estudios previos en AD han mostrado una inmunoreactividad aumentada de A₁R en asociación con placas seniles (Angulo E y col., 2003) y han revelado, por otro lado, un incremento de los niveles proteicos de A₁R en la corteza frontal de AD en regiones sin patología de tau pero con placas de β -amiloide (estadio 2 de Braak y Braak). De todos modos, el incremento de la inmunoreactividad de A₁R en neuronas de corteza frontal en AD y ECJ es generalizado y no meramente relacionado con los agregados proteicos. En esta línea, cabe considerar que las protofibrillas de PrP^{res} y β -amiloide, así como otras fibrillas depositadas en enfermedades neurodegenerativas con agregados de proteína anormal, pueden funcionar como poros patogénicos (Caughey B y Lansbury PT, 2003). En cualquier caso, se requieren estudios ulteriores para averiguar cómo la presencia de agregados de PrP^{res} o de protofibrillas de PrP puede causar la señalización anormal de A₁R.

Diversos estudios realizados anteriormente muestran que la sobreexpresión de A₁Rs en ratones transgénicos resulta en una protección para el daño por reperusión isquémica (Matherne GP y col., 1997; Gauthier NS y col., 1998). La disrupción de los A₁Rs en ratón resulta en la eliminación del efecto de la adenosina en la neurotransmisión excitatoria y en la reducción de respuestas a hipoxia (Johansson B y col., 2001; Dunwiddie TV y col., 2000). Los agonistas de los A₁Rs median neuroprotección a nivel pre- y post-sináptico. Los A₁Rs bloquean la entrada de Ca²⁺, lo cual resulta en la inhibición de la liberación de glutamato y en la reducción de sus efectos excitatorios post-sinápticos (Wardas J, 2002; Fredholm BB, 1997). Además, la activación de A₁Rs pre-sinápticos disminuye los potenciales excitatorios mediados por el receptor NMDA durante la hipoxia (Fowler JC, 1989; Fowler JC, 1990). Los inhibidores de la adenosina quinasa y algunos agonistas y antagonistas de los A₁Rs han sido propuestos recientemente como agentes putativos terapéuticos en enfermedades neurodegenerativas y otros desórdenes del cerebro (Zalewska-Kaszubska J, 2002; Fredholm BB, 1997). Otros estudios han revisado de forma amplia la función de los ARs y su potencial como dianas terapéuticas a través de ratones modificados genéticamente (Fredholm BB y col., 2004). Finalmente, los A₁Rs son accesibles para técnicas de imagen *in vitro* usando ligandos selectivos del

A₁R [¹⁸F] CFPFX (Meyer PT y col., 2005), el 8-dicyclopropylmethyl-1-(¹¹)c-methyl-3-propylxanthine (Fukumitsu N y col., 2005) y el PET. De este modo, los ligandos selectivos del A₁R en combinación con otros marcadores pueden servir para delinear modificaciones de A₁R en ECJ y otros desórdenes neurodegenerativos a través de técnicas de imagen como la PET.

El fenómeno de la espongiosis o cambio esponjiforme es un rasgo característico de las EETs. Este fenómeno está inducido por una vacuolización generalizada en el SNC que resulta en la disrupción de membranas plasmáticas y de la citoarquitectura neuronal. La vacuolización es un proceso extensible a otras patologías en las que hay una alteración de la homeóstasis de las células. Los canales de agua o AQPs regulan los flujos de agua a través de membrana y se consideran mediadores de la homeostasia celular. Partiendo de esta base, hemos estudiado la expresión y localización tisular de AQPs cerebrales en corteza frontal de ECJ y en la corteza cerebral de ratones transgénicos infectados con EEB. Los resultados muestran un incremento en los niveles de expresión de AQP1 y AQP4 en la corteza frontal de pacientes con ECJ cuando se compara con controles. También se han encontrado niveles aumentados de AQP1 y AQP4, cuando se compara con ratones no infectados, en la corteza cerebral de ratones transgénicos con EEB ligado al progreso de la enfermedad coincidiendo, además, con el estadio en el que se aprecian manifestaciones neuropatológicas y clínicas y la presencia de PrP^{res} detectable por WB. Por el contrario, no se observan cambios en la expresión de AQP1 y AQP4 en estadios avanzados de AD y DLB, sugiriendo que estos cambios no son el resultado de cambios inespecíficos de enfermedades con demencia y degeneración en la corteza cerebral.

Estos resultados validan observaciones previas que mostraban una regulación a la alza de AQP4 en ECJ y en *scrapie* natural, usando la tecnología de micro-arrays de DNA (Riemer C, 2004; Riemer C y col., 2000; Xiang W y col., 2005; Xiang W y col., 2004) y demuestra que la regulación a la alza lleva a un incremento de la expresión proteica no restringida a la AQP4 sino también involucrando a otros genes de la familia de las AQPs, incluyendo a la AQP1.

Estudios previos han mostrado que las AQPs están desreguladas en edema cerebral tras lesión traumática (Kiening KL y col., 2002; Sun MC y col., 2003), isquemia cerebral (Aoki K y col., 2003; Saadoun S y col., 2002; Taniguchi M y col., 2000; Xiao F y col., 2004) e hiponatremia (Vajda Z y col., 2000), como también en tumores cerebrales (Oshio K y col., 2005; Saadoun S y col., 2002). De forma interesante, existe una redistribución distinta de

AQP4 en tumores cerebrales de bajo y alto grado (Warth A y col., 2005). La expresión de mRNA de AQP4 está disminuído en el núcleo del infarto tras isquemia cerebral en rata (Sato S y col., 2000). Por el contrario, está incrementado en las zonas peri-infartadas en paralelo a la generación de edema cerebral monitorizado por MRI en rata (Taniguchi M y col., 2000). Hallazgos similares se han realizado en el cerebro humano: la inmunoreactividad de AQP4 está disminuída en el núcleo pero incrementada en los astrocitos en la periferia del infarto (Aoki-Yoshimo K y col., 2005). La isquemia global también está acompañada por una regulación a la alza de AQP4 (Xiao F y col., 2004). Además, la AQP4 está incrementada en gliomas de grado alto y en astrocitos reactivos que rodean tumores malignos (Saadoun S y col., 2002). Por otro lado, la AQP1 está expresada en astrocitos neoplásicos y en astrocitos reactivos en carcinomas metastáticos (Riemer C y col., 2000) y se encuentra aumentada en glioblastomas (Oshio K y col., 2005).

Las modificaciones en los niveles de expresión de AQPs pueden tener implicaciones funcionales. En ese sentido, el uso de ratones modificados genéticamente ha sido de vital importancia en la comprensión de las AQPs cerebrales. La delección de la AQP4 en ratones reduce la formación de edema tras intoxicación por agua y tras isquemia focal cerebral, indicando que la AQP4 participa en el desarrollo del edema osmótico y citotóxico (Amiry-Moghaddam M y col., 2003; Amiry-Moghaddam M y col., 2004; Manley GT y col., 2004; Manley GT y col., 2000; Solenov EI y col., 2002; Vajda Z y col., 2002). Estudios recientes han mostrado una alteración de la expresión de AQP4 en cerebro humano en enfermedades inflamatorias (Aoki-Yoshimo K y col., 2005). Por último, la AQP4 está incrementada en el hipocampo esclerótico en epilepsia de lóbulo temporal humano (Lee TS y col., 2004) lo cual sugiere un papel sutil de las AQPs en esta enfermedad.

La AQP1 y la AQP4 están expresadas en los astrocitos en ECJ, indicando que el incremento de expresión de AQPs se limita a los astrocitos. No se aprecia expresión de AQPs en las neuronas. Esta es una observación interesante, ya que el cambio espongiiforme en enfermedad priónica está relacionado con la desaparición de procesos neuronales y astrocíticos. La relación entre la deposición de PrP anormal, la degeneración espongiiforme y una posible regulación a la alza de AQPs en los astrocitos no está clara, aunque el estudio del modelo murino de EEB indica que las tres anormalidades aparecen en la misma etapa del progreso de la enfermedad. Atendiendo al hecho de que la AQP1 no se expresa normalmente en astrocitos, la expresión de AQP1 en estas células se puede relacionar con la patología de ECJ. El modo con que los niveles aumentados de AQP1 y AQP4

en ECJ resultan de un incremento en el número de astrocitos debería ser objeto de discusión. El incremento de AQP1 y de AQP4 se puede correlacionar más con un incremento de la expresión de GFAP que con el número de astrocitos en ECJ cuando se compara con otras enfermedades. De este modo, un incremento en la expresión de AQPs en las enfermedades priónicas parece ser un mecanismo adicional de ciertos astrocitos reactivos para regular la homeóstasis del agua. Parece claro que las AQPs no son el agente que provoca el cambio esponjiforme, pero es probable que contribuyan a la respuesta de los astrocitos a los flujos de agua anormales en enfermedades priónicas humanas y animales. Serán necesarios estudios adicionales en ratón infectado con EEB con delección de la AQP4 para comprender de qué forma está implicado el incremento de la expresión de AQPs en la patogénesis de la enfermedad.

La vía de señalización de las MAPKs, en la que los factores de transcripción c-fos y CREB tienen un papel efector determinante, se asocia a la regulación de fenómenos de muerte y supervivencia neuronal. Considerando este hecho y que la neurodegeneración es un aspecto crítico en las EETs, hemos estudiado la expresión y la localización de algunas MAPKs y de las formas inactivas y activas de c-fos y CREB en la corteza frontal de ECJ comparando con controles. Los resultados bioquímicos y por inmunohistoquímica combinados muestran un descenso de CREB1, CREB2, CREB-P, c-Fos y c-Fos-P en la corteza frontal de casos con ECJ en estadios terminales de la enfermedad. Esto no es un mero reflejo de la pérdida neuronal, ya que las quinasas involucradas en la fosforilación de estos factores están preservadas. De este modo, una reducción de la expresión de CREB-P no es el resultado de un deterioro de las kinasas (p.ej. ERK1-P, ERK-2-P y p-38-P), pero puede ser una consecuencia de la reducción de niveles constitutivos de CREB.

El significado funcional de estos cambios puede ser deducido a partir de observaciones de modificaciones similares en modelos experimentales. El CREB-P está asociado a la supervivencia celular en regiones resistentes del hipocampo tras insulto hipóxico (Walton M.R. y Dragunow I, 2000). Por otro lado, se observa un continuo descenso de CREB en poblaciones que mueren después de una axotomía (Brecht S. y col., 1994). De forma similar, en ratas adultas CREB está disminuido en células destinadas a morir, al mismo tiempo que CREB-P está incrementado en células supervivientes en dos modelos diferentes de excitotoxicidad tras la administración sistémica de ácido kaínico (Ferrer I. y col., 2002). Se han observado resultados similares tras una isquemia cerebral focal (Ferrer I. y col., 2003). Un punto crucial es la observación de que la expresión adenoviral de CREB protege a las neuronas

del estrés apoptótico y excitotóxico (Glover C.P. y col., 2004). El papel de c-fos en la muerte y supervivencia celular no está claro, ya que diferentes paradigmas apuntan hacia uno u otro de estos papeles opuestos. Una expresión elevada o mantenida de c-Fos puede asociarse con la muerte celular (Smeyne R.J. y col., 1993). A pesar de ello, esto no es tan simple en sistemas complejos (Herdegen T. y Waetzig, V. 2001). Estudios previos con mRNA y proteína de c-Fos han mostrado gradientes variables o inducción y expresión de c-Fos después de un daño isquémico o excitotóxico. c-Fos está expresado en neuronas destinadas a sobrevivir en estos paradigmas (Pozas E. y col., 1997; Sanz O. y col., 1997). Partiendo de estos hallazgos, una expresión disminuida de c-Fos en ECJ es consistente con el agotamiento de las respuestas de c-Fos en estadios avanzados de ECJ. Estudios previos en inmunohistoquímica en el cerebro de ratón infectado con *scrapie* han mostrado un incremento de c-Fos en neuronas y astrocitos (Ye X. y col., 2002). Esto parece ser un resultado consistente ya que resultados similares fueron obtenidos con cuatro líneas de ratón distintas. Debido a que no hay ninguna indicación del estadio de la enfermedad del ratón infectado, no podemos asegurar si los animales fueron examinados en estadios medios o terminales de la enfermedad. De todos modos, un mantenimiento de la expresión de c-Fos en ratón infectado con *scrapie* lleva a la asunción de que células positivas son finalmente conducidas a la muerte (Ye X. y col., 2002).

Considerándolos de forma conjunta, estos resultados son consistentes con un fallo de las vías de señalización de CREB y c-Fos, en contraste con la preservación de las vías de señalización de las quinasas, para mantener la supervivencia celular en la corteza cerebral en estadios terminales de ECJ. Teniendo en cuenta que estos resultados no se producen en la corteza frontal en estadios terminales de otras enfermedades degenerativas del SNC como AD o PiD (Ferrer I. y col., 2006; Nieto-Bodelón M. y col., 2006) en muestras de tejido procesadas del mismo modo, se puede concluir que el agotamiento CREB y c-Fos es un rasgo característico del ECJ terminal.

En resumen, los estudios realizados en esta tesis revelan un deterioro de las vías de neurotransmisión glutamatérgicas mediadas por los mGluRs de grupo I y un incremento de expresión y actividad de receptores A₁ de adenosina en la corteza frontal de ECJ. Además, estos resultados se reproducen en la corteza cerebral de ratones transgénicos para la PrP bovina infectados con EEB con el progreso de la enfermedad y coincidiendo con estadios en los que se aprecian cambios neuropatológicos y clínicos, así como la presencia de PrP^{res} detectable por WB. Paralelamente, estos estudios muestran un incremento de expresión de AQPs cerebrales en

corteza frontal de ECJ y en la corteza cerebral del modelo murino de EEB ligado al progreso de la enfermedad. Estos cambios se producen en astrocitos y podrían asociarse a la vacuolización que precede al cambio esponjiforme típico de las EETs. Por último, se aprecia un deterioro de las vías de señalización de MAPKs, incluyendo a c-fos y CREB, mostrando un agotamiento de estos factores de transcripción en estadios terminales de ECJ. Todos estos resultados indican que ciertos grupos de proteínas relacionados con la neurotransmisión y la señalización intracelular son especialmente vulnerables a la patología por priones y sugieren una implicación relevante de dichas vías en la neurodegeneración y los fenómenos neuropatológicos característicos de las enfermedades priónicas. No obstante, sería interesante profundizar en estos estudios y desarrollarlos más ampliamente para esclarecer las implicaciones funcionales de las alteraciones descritas, así como conocer los mecanismos precisos que las generan en el contexto de las EETs.