



Trabajo Fin de Grado
Grado en Medicina

ESTUDIO DE LA PATOLOGÍA NEURODEGENERATIVA ASOCIADA A LAS ENFERMEDADES PRIÓNICAS: RELEVANCIA CLÍNICO-PATOLÓGICA Y REVISIÓN DE LA LITERATURA.

Autor:

Aitzol Miguélez Rodríguez

Tutora:

Dra. Isabel Guerra Merino

Directores:

Dr. Iván Fernández Vega

Dra. Isabel Guerra Merino

© 2017, Aitzol Miguélez Rodríguez

Vitoria-Gasteiz, 2017ko Martxoaren 29a / Vitoria-Gasteiz, 29 de Marzo de 2017

AGRADECIMIENTOS

A Iván Fernández Vega, excepcional director de este TFG, gran patólogo, investigador, persona y alma trabajadora, fuente de conocimiento e instigador motivacional esencial para mi futuro.

A Isabel Guerra Merino, jefa del Servicio de Anatomía Patológica del Hospital Universitario Araba, directora y tutora de este TFG, por su amabilidad, dedicación y sonrisa inagotable con los estudiantes.

A José Javier Aguirre, patólogo del Hospital Universitario Araba y epidemiólogo y colaborador en este TFG, por su inestimable ayuda en el ámbito estadístico y su disponibilidad plena y llena siempre de buen humor.

Al Hospital Universitario Araba y en concreto a su Servicio de Anatomía Patológica y sus medios y al Biobanco de Tejidos Neurológicos del País Vasco, especialmente a su Nodo del Hospital Universitario de Álava.

Y a mis padres, siempre.

“Rise and rise again until lambs become lions”. Robin de Locksley.

ABREVIATURAS

- Encefalopatía Espongiforme Transmisible (TSE).
- Enfermedad de Creutzfeldt-Jakob (CJD/ECJ).
- Proteína priónica celular fisiológica (PrPc).
- Proteína priónica patógena “Scrapie-like” (PrPsc).
- Glicosil fosfatidil inositol (GPI).
- Enfermedad de Alzheimer (AD).
- Kilodaltones (kDa).
- Metionina (M).
- Valina (V).
- Variante de Creutzfeldt-Jakob (vCJD).
- Electroencefalograma (EEG).
- Enfermedad de Creutzfeldt-Jakob esporádica (sCJD).
- Resonancia Magnética Nuclear (RMN).
- Tomografía de Emisión de Positrones con flúor 18 desoxiglucosa (18FDG-PET).
- Enfermedad de Creutzfeldt-Jakob genética/hereditaria (gCJD).
- Insomnio Familiar Fatal (FFI).
- Síndrome de Gerstmann-Sträussler-Scheinker (GSS).
- Enfermedad de Creutzfeldt-Jakob iatrogénica (iCJD).
- Líquido cefalorraquídeo (LCR).
- “Non rapid eye movement” (NREM).
- Tomografía de Emisión de Positrones (PET).
- Extremidades inferiores (EEII).
- “Protein Misfolding Diseases” (PMDs).
- Esclerosis Lateral Amiotrófica (ELA).
- “TAR DNA-binding protein 43” (TDP-43).
- Nanómetros (nm).
- Enfermedad de Parkinson (PD).
- Demencia Fronto-temporal (FTD).
- Demencia por Cuerpos de Lewy (LBD).
- Hematoxilina-eosina (H&E).

ÍNDICE

1. INTRODUCCIÓN.	1
1.1 ASPECTOS GENERALES DE LAS PROTEÍNAS.	1
1.2 ASPECTOS GENERALES DE LOS PRIONES.	1
1.2.1 Concepto de prión y su historia.	1
1.2.2 Estructura y bioquímica priónica (histotipos).	4
1.2.3 Conversión, replicación e infectividad/propagación/transmisión.	6
1.2.3.1 Conversión y replicación.	6
1.2.3.2 Infectividad/Propagación/Transmisión.	9
1.2.4 Genotipos y sus diversos histotipos histológicos	12
1.2.5 Patogenia.	15
1.2.6 Diagnóstico.	16
1.3 PRINCIPALES ENFERMEDADES PRIÓNICAS.	19
1.3.1 Prionopatías esporádicas.	20
1.3.1.1. Enfermedad de Creutzfeldt-Jakob Esporádica (sCJD).	20
1.3.1.2 Nueva Prionopatía Variable Sensible a Proteasa.	21
1.3.2 Prionopatías genéticas/familiares.	22
1.3.2.1 Insomnio Familiar Fatal (FFI).	22
1.3.2.2 Síndrome de Gerstmann-Straüssler-Scheinker (GSS).	23
1.3.3 Prionopatías adquiridas/infecciosas.	23
1.3.3.1 Kuru.	23
1.3.3.2 Nueva Variante de la Enfermedad de Creutzfeldt-Jakob (vCJD).	24
1.4 PATOLOGÍA NEURODEGENERATIVA ASOCIADA A PRIONOPATÍAS.	26
1.4.1 Neurodegeneración y asociación en PMDs.	26
1.4.2 Supervivencia y patología concomitante.	28
2. OBJETIVOS.	30
3- MATERIALES Y MÉTODOS.	31
3.1- MATERIAL PATOLÓGICO Y DEL PACIENTE.	31
3.2 HISTOLOGÍA E INMUNOHISTOQUÍMICA.	31
3.3 ANÁLISIS GENÉTICO.	33
3.4 ANÁLISIS DE LA PROTEÍNA PRIÓNICA.	34
3.5 CLASIFICACIÓN DE SUBTIPO DE sCJD.	34
3.6 ANÁLISIS ESTADÍSTICO.	35
4. RESULTADOS.	36
4.1 ANÁLISIS DESCRIPTIVO MUESTRAL Y COPATOLOGÍA.	36

4.2 ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE LOS RESULTADOS.....	37
4.3 ANÁLISIS DE SUPERVIVENCIA Y CÁLCULO DEL RIESGO.....	39
5. DISCUSIÓN.....	42
6. CONCLUSIÓN.....	45
7- BIBLIOGRAFÍA.....	46
8-ANEXOS.....	49
8.1 ABSTRACT CONGRESO NACIONAL DE ANATOMÍA PATOLÓGICA (MAYO 2017).	49
8.2 ABSTRACT CONGRESO EUROPEO DE ANATOMÍA PATOLÓGICA (SEPTIEMBRE 2017).....	52
8.3 CONTRIBUCIONES.....	54
8.4 MATERIAL COMPLEMENTARIO.....	55

1. INTRODUCCIÓN.

1.1 ASPECTOS GENERALES DE LAS PROTEÍNAS.

Actualmente se estima que el ser humano posee entre unos 20000-25000 genes, todos ellos codificadores de un número muy superior de proteínas, originando un proteoma de excelsa riqueza formado por aproximadamente 250000-300000 proteínas diferentes. Además, si a este hecho se le suman las modificaciones postraduccionales, podemos elevar dicho número hasta los 5 millones de proteínas. **(1, 2)**. Cada proteína está formada por una cadena de aminoácidos propia y característica, si bien puede existir cierta variabilidad en la misma, ya que el 20% de las proteínas son polimórficas. Es sobradamente conocido que las proteínas tienen estructura primaria (cadena de aminoácidos), secundaria (hélice alfa y hoja beta), terciaria (disposición tridimensional de la estructura secundaria mediada por enlaces covalentes) y cuaternaria en algunos casos (si la proteína en cuestión está formada por más de una subunidad, la disposición en el espacio que éstas adoptan) **(1)**.

La función de una proteína depende de la secuencia de aminoácidos que la componen, además de la conformación de la misma. Así, se dispone de proteínas de unión al oxígeno (hemoglobina), proteínas inmunológicas (inmunoglobulinas), proteínas de contracción muscular (actina y miosina), proteínas catalizadoras (enzimas)...etc. que muestran claramente la relación entre función y la conformación de la proteína.

Por ende, no es inconcebible el deducir que si por cualquier causa esa conformación proteica se alterase en cualquiera de sus cuatro variables, dicha función se vería modificada, y por tanto nos encontraríamos ante una proteína anómala e inservible, que en determinadas ocasiones especiales podría poseer un potencial patogénico, hecho que nos lleva al eje de esta investigación, los priones.

1.2 ASPECTOS GENERALES DE LOS PRIONES

1.2.1 Concepto de prión y su historia

El paradigma priónico afloró de décadas de investigaciones y estudios que comenzaron en los años 30, mediante el estudio de algunas Encefalopatías

Espongiformes Transmisibles (en inglés, TSE) de animales, como el Scrapie o la Encefalopatía del Alce, entre otras. Eran patologías que exhibían una atípica infectividad, con largos periodos de incubación, ausencia de inflamación y ausencia de agente infeccioso demostrable (3). La revolución llegó cuando entre 1982 y 1997 el Dr. Stanley B. Prusiner de la Universidad de California (San Francisco) demostró que el agente infeccioso consistía meramente en una proteína anormalmente plegada, fenómeno para el que acuñó el término prión (4). Dicho término, es una abreviatura de la definición que Prusiner otorgó a estas proteínas, que no era otra que la de ser Partículas Proteináceas Infecciosas (en inglés, “*Proteinaceous Infectious Particles*”, de ahí el acrónimo prión). Este hallazgo le valió para la obtención del Premio Nobel de Medicina en 1997.

Otro hito clave en la historia de los priones fue el hallazgo por Chesebro *et. al* en 1985 (3) de que la proteína priónica se formaba constitutivamente en el cerebro y en otras regiones del cuerpo por las células, es decir, que no se trataba de una proteína exógena. El estudio de las TSE se ha prolongado durante décadas, y lo cierto es que no ha estado exento de dificultades (principalmente marcadas por el largo periodo de incubación del agente priónico hasta desencadenar la enfermedad (5), hasta el punto en el que hoy en día todavía ciertas cuestiones planteadas al momento del descubrimiento del Scrapie (mediados del S. XVIII) siguen todavía sin resolver, como por ejemplo algunos aspectos acerca de la transmisibilidad/contagiosidad de estas patologías (6). No obstante, se ha avanzado mucho en el conocimiento de los priones, y se podrían enumerar una serie de avances en esta materia que han resultado claves al establecer la base para el asentamiento de nuevos conocimientos. Entre otros, se debe subrayar el descubrimiento del Scrapie (patología prototípica priónica que afecta a ganado ovino y caprino, coloquialmente denominada Tembladera) a mediados del S. XVIII (1738) (7); la descripción de los primeros casos de Enfermedad de Creutzfeldt-Jakob (CJD) en 1920; el hallazgo del Kuru en Papúa Nueva Guinea por Gadjusek y Zigas en 1957; los experimentos de transmisibilidad *in vivo* e *in vitro* y los distintos estudios que habilitaron la descripción de diversas cepas de los agentes de estas patologías que desembocaron en la enunciación del principal axioma en la historia priónica: la hipótesis de origen proteico exclusivo del agente (“*Protein-only Hypothesis*”, Griffith 1967). Asimismo,

el otro hito clave, previamente mentado, fue la enunciación tras varias décadas de estudio del “Concepto de Prion” por Prusiner en 1982, que se puede considerar como el padre de los priones. En 1985 se logró descifrar el gen PRNP codificante de la proteína celular o PrPc (cuya participación en la patología priónica era ya sospechada desde 1980, tras el aislamiento de la misma logrado por Bolton *et al.* en cerebros afectados de CJD en 1982). Otros hechos dignos de mención fueron también el reporte de la Encefalopatía Espongiforme Bovina (vulgarmente conocida como “Enfermedad de las Vacas Locas”) por Wells *et. al* en 1987, la cual se consiguió vincular etiológicamente al desarrollo de la Nueva Variante de la CJD en humanos, demostrando la transmisibilidad interespecie en 1996 por Will *et. al* y por último destacar la notificación de las diferencias estructurales entre PrPc y la proteína priónica del Scrapie o PrPsc (la primera enfermedad priónica descrita) descubiertas por Pan *et. al* en 1993 y que resultaron esenciales para los hallazgos posteriores. (6).

Es importante recalcar que pese a todo este elenco de descubrimientos y avances, el paradigma priónico tiene casi más oscuros que claros, habiendo sido la “*Protein Only Hypothesis*” puesta en entredicho por una parte de la comunidad científica, enunciando otras teorías para justificar la etiología de estas patologías, como por ejemplo la de la etiología vírica, los denominados “*Slow Viruses*” por Sigurdsson en 1954 (4), basados en que un agente carente de ácido nucleico no podía replicarse ni comportarse como un agente pseudoinfeccioso (replicarse, dañar, transmitirse...etc.). Han sido numerosos los intentos de demostrar el origen vírico de estas enfermedades, postura *a priori* más lógica y entendible que el origen meramente proteico, argumentando que la proteína priónica PrPc no era más que un receptor de superficie celular empleado por el virus desconocido para entrar en el interior celular. No obstante, ninguno de estos estudios ha conseguido desbancar la “*Protein Only Hypothesis*”, que es hoy por hoy la aceptada en la comunidad científica dados los abundantes estudios que aportan evidencia en este sentido, aunque no se debe descartar que los futuros estudios en esta materia cambien el prisma radicalmente (8), ya que se requiere mucha labor investigadora en áreas como el análisis de la patogenia priónica, la transmisión y la replicación e incluso el origen y la determinación de la ultraestructura del agente priónico (Soto 2011, 8), como ya hemos mencionado. Sigue generando asombro en la comunidad científica pese a que

los priones cumplen todos los postulados de Koch para ser considerados agente infeccioso, que una sola proteína posea la complejidad y la flexibilidad requerida para actuar como un microorganismo vivo que transmite la enfermedad (8), un hecho único hasta el momento en patología neurodegenerativa. Como argumentos a favor de la etiología proteica se pueden nombrar la evidencia del vínculo entre la acumulación de PrPsc y su patogénesis, las mutaciones en el gen PRNP y su relación con enfermedades priónicas hereditarias, la relación existente entre el aumento de PrPc y la aceleración de la enfermedad por aumento consiguiente de PrPsc (Soto 2011) y la ausencia de evidencia científica que avale un posible origen vírico en este campo (4)

1.2.2 Estructura y bioquímica priónica (histotipos).

La proteína priónica precursora PrP, eje axial de este trabajo, está compuesta por 253 aminoácidos en el humano y por 254 en la especie murina, de la cual se producirá la isoforma normal PrPc fisiológica, sustrato para la conversión en PrPsc, y que posee 208 aminoácidos en su estructura primaria (9). Los priones se forman por el reclutamiento de la isoforma normal de la proteína priónica o PrPc, convirtiéndola en la forma causante de la enfermedad o PrPsc. Se trata de una proteína codificada por el gen *PRNP*, gen ubicado en el brazo corto del cromosoma 20 (20p12), que posee 15000000 de pares de bases (la región codificante exacta se encuentra entre las bases 4666796 y 4682233, 10) y que se mantiene bastante idéntico interespecie. Está compuesto por dos exones y un intrón y en su extremo 5' posee gran número de repeticiones de nucleótidos GC. En humanos se han descrito más de 20 mutaciones en la región codificante de este gen referente a la proteína priónica, todas ellas relacionadas con alguna forma de prionopatía hereditaria. (11) y en cinco de ellas se ha demostrado carácter genético hereditario claro (4).

La PrPc es una glicoproteína de membrana cuya función aún no está del todo esclarecida, si bien hay varias teorías acerca de ella, entre las que destacan las que afirman que se puede tratar de una proteína transductora de señales de membrana o las que dicen que se trata de una enzima, ya que lo único demostrado es que su presencia está relacionada con el desarrollo de la enfermedad y que sin ella no se desarrolla la misma (6). Esta proteína está anclada a la membrana plasmática

mediante glicosil fosfatidil inositol (GPI) en su extremo C-terminal. Es esencial destacar que no se trata de una proteína neuronal en exclusiva, sino que también es ubicua en linfocitos (Cashman *et al.*, 1990) y en células estromales de tejido linfoide (Kitamoto *et al.*, 1991), lo cual hace que el sistema inmune tenga tolerancia ante la forma priónica fisiológica, ya que su formación en estos tejidos es espontánea y continua. Si se somete la PrPc a una proteólisis limitada se obtiene una molécula resistente a proteasa de aproximadamente 142 aminoácidos, denominada PrP 27-30, que constituye la base de la polimerización posterior a formas patogénicas (es el “core” de PrPsc) y formar así placas de depósito **(12)**

La principal diferencia sustancial entre las isoformas PrPc y PrPsc reside en sus estructuras secundaria y por consiguiente terciaria también, pero no en la primaria. Sus aminoácidos son los mismos, pero la isoforma normal está constituida en un 45% por hélice alfa y sólo contiene dos pequeñas porciones de hoja beta, mientras que la isoforma patológica contiene menos de un 30% de hélice alfa y casi un 45% de hoja beta, como se muestra en la **Figura 1**. Este hecho condiciona que sus estructuras terciarias sean también diferentes, ya que la estructura secundaria marca la disposición de los enlaces covalentes que marcan la formación de la estructura terciaria. Estas diferencias de similitud hacen que la forma PrPsc sea extremadamente resistente a los métodos físico-químicos de descontaminación o desinfección convencionales, lo que no implica que sea resistente a otros métodos más exhaustivos **(6)**. Sin embargo, la forma fisiológica, PrPc, es soluble en medios detergentes no-desnaturalizantes y extremadamente sensible a la acción de proteasas **(10)**.

Como último apunte referido a la bioquímica, destacar que existe una región de la proteína priónica comprendida entre los aminoácidos 95-134 de la misma de especial relevancia para el tema central de este trabajo, que no es otro que el de analizar la patología neurodegenerativa concomitante a las prionopatías. En esa región perteneciente al dominio central no estructurado de la proteína es donde interactúa la PrPc con los oligómeros de beta amiloide, característicos de la enfermedad de Alzheimer (en inglés, AD), estableciendo la sinergia entre ambas patologías. Esta región ha sido demostrada como implicada en efectos neuronales tóxicos *in vitro* y neurodegeneración *in vivo* **(13)**.

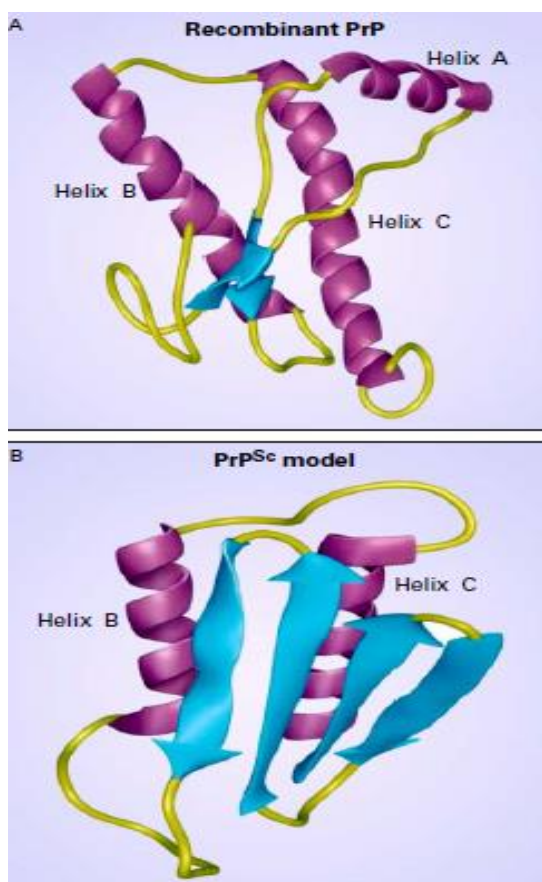


Figura 1. Estructuras de las isoformas de la Proteína Priónica (PrP). El Panel **A** muestra la predominancia de hélice alfa (en morado) de la PrP^c, mientras que el panel **B** muestra la predominancia de hoja beta (en azul) en la isoforma patológica PrP^{Sc}. Ambas formas de estructura secundaria proteica se unen mediante lazos de color amarillo. Imagen: Prusiner S, N Engl J Med, 2001.

1.2.3 Conversión, replicación e infectividad/propagación/transmisión.

1.2.3.1 Conversión y replicación.

Las prionopatías comparten como base primaria el evento central de conversión de la forma fisiológica PrP^c en PrP^{Sc} anormal mediante un proceso post-traslacional, en el que la forma fisiológica sufre cambios en su estructura secundaria, enriqueciéndose en hoja beta, adquiriendo nuevas propiedades físico-químicas, como la resistencia a la acción de proteasas (**8**). Dicho cambio conformacional puede ocurrir de forma espontánea, por mutaciones dominantes en el gen *PRNP* (cada mutación se relaciona

con un fenotipo diferente de enfermedad) o por infección por fuentes exógenas de la forma patógena PrPsc (8).

En lo que hay pleno consenso en la comunidad científica es en afirmar que la forma PrPc sirve de sustrato para la conversión a PrPsc, de forma proporcional además, que posteriormente se acumulará en el tejido cerebral, siendo clave en la neuropatogénesis. Del mismo modo que entender la patogenia es elemental para el desarrollo de futuras técnicas terapéuticas, el comprender los mecanismos básicos de conversión, replicación y transmisión priónica resulta esencial para poder comprender la propia patogenia. (8).

Basándose en modelos experimentales realizados con modelos murinos transgénicos se han postulado dos posibles modelos para este cambio conformacional clave. En el primero de ellos, denominado “*Nuclear Polymerization Model*”, propuesto por Jarrett y Lansbury, sugiere que existe un equilibrio termodinámicamente estable pero potencialmente reversible entre PrPc y PrPsc, pero que en presencia de agregados oligoméricos de PrPsc se inclina la reacción de conversión hacia la formación de más PrPsc a través de PrPc. La PrPsc interactuaría con más moléculas de PrPsc que servirían como “semillas” (“*seeds*”, en inglés) que reclutarían más moléculas de PrPsc para ir formando las fibrillas y depósitos posteriores de amiloide (que no tienen poder de replicación *per se*, pero sí al fragmentarse y dar nuevos oligómeros tóxicos, constituyendo la base de la replicación).

En el segundo modelo, denominado “*Template-directed conversion model*” y propuesto por el padre de los priones, Prusiner, se postula que la base de la conversión y la replicación priónica reside en la interacción entre la PrPc endógena y la PrPsc exógena, que induciría la conversión posterior de PrPc a PrPsc. Una barrera de alta energía prevendría de la formación espontánea de este fenómeno. Una vez convertido el heterodímero PrPc-PrPsc en el homodímero PrPsc-PrPsc, éste se disociaría para formar más heterodímeros y proseguir con el cambio conformacional y la replicación priónica. (14). A diferencia del modelo anterior, en éste no se consideran los agregados proteicos esenciales para la replicación. En la **Figura 2** se observan ambos modelos mencionados.

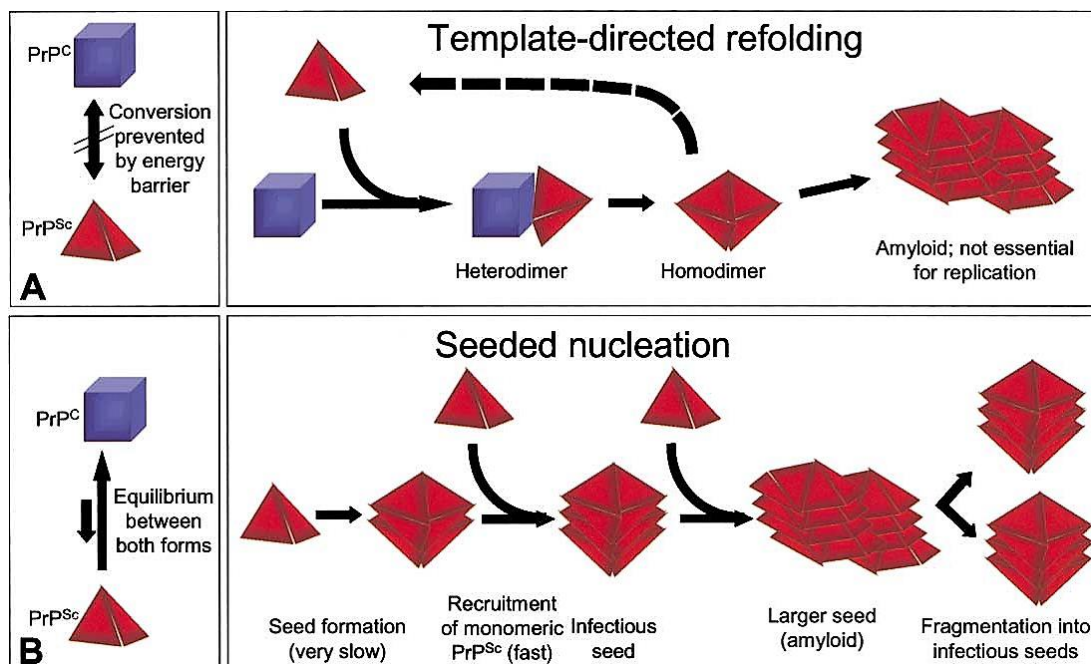


Figura 2. Ilustración esquemática de los modelos explicados previamente de **A)** "Template-directed refolding and seeding model". El modelo de "replegamiento" postula una interacción entre la PrP^{Sc} introducida exógenamente y la PrP^C endógena, a la cual se induce a transformarse en otra PrP^{Sc}. Una barrera de alta energía puede prevenir la conversión espontánea de PrP^C en PrP^{Sc}. **B)** "Seeded nucleation model". El modelo de "siembra-nucleación" propone que PrP^C y PrP^{Sc} están en un equilibrio termodinámico reversible. Sólo si varias moléculas de PrP^C monoméricas se montan en una semilla altamente ordenada, se puede reclutar más PrP^C monomérica y eventualmente agregarse, formando amiloide. Dentro de las semillas, que son similares a cristales, PrP^C se estabiliza. La fragmentación de los agregados de PrP^C aumenta el número de núcleos, que pueden reclutar más PrP^C y, por lo tanto, dan lugar a la replicación del agente. Imagen: Aguzzi A, Cell, 2004.

En ambos modelos, agrupados bajo el término "Seeding Nucleation" (por actuar los oligómeros como semillas para la replicación y propagación de la enfermedad) (15), existen varias fases descritas. En la primera de ellas, denominada fase de nucleación o "lag phase" se forman los oligómeros que *a posteriori* resultarán claves. En la segunda fase, fase exponencial, las semillas oligoméricas inducen un rápido reclutamiento de la proteína normalmente plegada, para posteriormente transformarla en la proteína patogénica. Se ha observado que añadiendo semillas *in vitro* de PrP^{Sc}, la "Lag phase" se puede acortar significativamente. A este tipo de nucleación de la misma proteína se le denomina Nucleación Homóloga, pero se ha visto que también

puede tener lugar la Nucleación Heteróloga o “*Cross-seeding*”, cuando una proteína favorece la proliferación de otra proteína patológica diferente, como ocurre en casos de prionopatía y el AD, donde la PrPsc favorece el acúmulo de beta amiloide. Este fenómeno de “*Cross-seeding*” explica diversos hallazgos que resultan claves en nuestro trabajo, como son la presencia de más de una proteína de conformación anómala en el mismo cerebro, la existencia de “*Protein Misfolding Diseases*” (PMDs) concomitantes, el hecho de que epidemiológicamente el padecer una PMD suponga un mayor riesgo de desarrollar otra en el futuro y/o la exacerbación de la clínica cuando existe agregación de varias proteínas mal plegadas **(15)**.

1.2.3.2 Infectividad/Propagación/Transmisión

Antes de comenzar, conviene determinar las diferencias entre términos a menudo mal empleados en este ámbito. Así, emplearemos infectividad exclusivamente para el transporte de proteínas priónicas de animal a animal (humanos inclusive); el término transmisión para el transporte de todo tipo de proteínas, no sólo las priónicas, y por último, los términos de propagación y expansión se podrán emplear indistintamente para designar el paso de la proteína en un determinado área e incluso de célula a célula **(16)**.

Por todo lo consiguiente existen varias cuestiones por resolver que asaltan a la comunidad científica: saber si se transmiten los agregados proteicos a través de conexiones neuronales, cuál es su mecanismo, y en ese caso, saber cómo se transmiten de célula a célula y cómo se pueden internalizar en las mismas para inducir la agregación proteica y por tanto, la propagación de la patología. Además, sería importante determinar si otras proteínas no-priónicas poseerían también esa cierta y controvertidamente llamada infectividad que los priones poseen.

Por el momento no ha habido estudios que demuestren la transmisión de las proteínas patológicas a través de tractos neuronales a distancia, pero sí la expansión localizada de la misma. No obstante, tampoco hay evidencia que descarte este hecho, por lo que será esencial en el futuro el estudio del mismo mediante mejores modelos de ratones transgénicos. **(16)**. Decir que la proteína priónica, al igual que el beta amiloide de la AD está expuesta al espacio extracelular por lo que en principio no tendrían que

atravesar en dos ocasiones las bicapas lipídicas de la membrana para llegar a otra célula, únicamente tendrán que hacerlo en una ocasión. Por lo tanto, en el caso de las proteínas citosólicas, se requerirán mecanismos de transporte activo (consumidor de energía) como la exocitosis (exosomas), endocitosis (endosomas), pinocitosis...etc. para la secreción y la internalización de estas proteínas, si bien también se ha descrito la excreción pasiva de estas partículas al espacio intercelular tras la lisis celular (17). Además de los mecanismos descritos y de forma independiente a ellos, también se ha descrito la posibilidad del transporte priónico intercelular mediante nanotubos tunelizantes, hecho que ya ha sido demostrado por Gousset *et. al.* en 2009. Por si fuera poco, en el caso exclusivo de los priones sí que se ha descrito el transporte axonal bidireccional, probablemente influido por la actividad sináptica (16).

En cuanto al mecanismo por el que partículas exógenas al internalizarse inducen polimerización de proteínas endógenas de la célula colonizada, destacar que se ofrecen dos teorías. La primera defiende una interacción intracelular que haga proliferar las proteínas homotípicas y la segunda, en cambio, argumenta que los agregados internalizados suponen una situación de estrés para los mecanismos de control de la proteostasis intracelular, lo cual hace que se empiece a nuclear la proteína patógena y anómala. Otras teorías de menor importancia añaden las posibilidades de que los agentes exógenos internalizados inhiban la función mitocondrial alterando la proteostasis o que éstos produzcan un microambiente inflamatorio que contribuya a la agregación y al daño celular mediante la liberación de componentes como oxígeno reactivo, óxido nítrico y citoquinas. (16).

Lo que aún se desconoce es cómo las distintas variantes priónicas, que a su vez acarrearán polimorfismos estructurales del amiloide, pueden codificar diferentes fenotipos patológicos. Este hecho es tan desconocido como su infraestructura atómica (18), que se cree clave para descubrir el porqué del inicio de la conversión de formas fisiológicas a formas patológicas, ya que se desconoce la base del gatillo que dispara todo el proceso (19).

El hecho más relevante y novedoso de este apartado consiste en que según los últimos estudios, la capacidad de nucleación que hemos explicado no es únicamente propia de los priones. Nuevas investigaciones apuntan a que en enfermedades

neurodegenerativas relacionadas también con el depósito proteico anómalo, como el AD con el beta amiloide, la enfermedad de Parkinson (PD) con la alfa-sinucleína o la Enfermedad de Huntington con la huntingtina, también se da este proceso, de ahí que se haya acuñado el término “*Prion-like Spreading*” para la forma de propagación de estas patologías a nivel celular (3). En estas enfermedades todavía no se ha valorado la “infectividad” que en ocasiones se otorga a las patologías priónicas, pero tampoco se descarta la posibilidad, ya que *in vitro* e *in vivo* (moviéndose de zonas cerebrales afectadas a las no afectadas o mediante la colonización de injertos neuronales en el PD) (17) se han observado indicios de que podría darse, por lo que se requiere una investigación más profunda en este ámbito (18). Se cree que el fracaso obtenido por el momento a la hora de demostrar la infectividad del beta amiloide, tau o alfa-sinucleína se debe a la dificultad de elaborar dichos componentes *in vitro* y a su fragilidad en el medio externo. Por ello, Aguzzi y sus colaboradores acuñaron el término de “Prionoides” para este tipo de proteínas patológicas transmisibles (8) y distinguirlas así de los auténticos priones por el momento. Esta transmisión no siempre tendría por qué implicar patología, también podrían estar implicadas estas proteínas transmisibles en procesos biológicos normales o incluso podrían suponer una ventaja en la adaptación evolutiva frente a cambios ambientales de corta duración y súbitos (8, 18). No obstante, en el caso de la amiloidosis de amiloide A, sí que se ha podido probar que la introducción oral o parenteral de fibras AA de amiloide obtenidas de hígados de ratones que padecen la enfermedad aceleran el desarrollo de la enfermedad en sujetos sanos, hallazgo que juega a favor de la infectividad y que muestra comportamientos priónicos en otras proteínas, como bien demostraron Lundmark *et al.* en 2002 (18). En el AD también se han demostrado daños cerebrales tras la inyección peritoneal de beta amiloide, pero en todos los casos experimentados con proteínas no priónicas, exceptuando la amiloidosis AA, lo que se observa es una aceleración de un proceso ya empezado, no una generación “*de novo*” de una enfermedad. (8). A modo de resumen se puede afirmar que los priones son considerados infecciosos porque pueden transmitir la enfermedad entre seres vivos empleando rutas naturales, como la ingestión, mientras que los prionoides aún no han demostrado eso de forma rotunda. (19)

El hecho clave para la infectividad es que la PrP^{sc} se comporta como una semilla para la conversión de PrP^c, lo cual hace que proliferen la enfermedad. (8). Imaginar por un momento que patologías como el AD o el PD podrían ser infecto-contagiosas parece utópico e inverosímil, a la par que ciertamente terrorífico, pero se está trabajando en probarlo. Para ello, y como último elemento clave de este apartado, una proteína debe cumplir estas cuatro condiciones para poder ser transmisible: debe tener una eficiente auto-replicación, debe resistir los métodos convencionales de degradación proteica, debe tener buenos métodos de transmisión y propagación para disponer de una gran biodisponibilidad y deberá transmitir cambios fenotípicos respecto a la forma fisiológica de la proteína (8)

1.2.4 Genotipos y sus diversos histotipos histológicos.

Una vez analizada la bioquímica priónica, es elemental la mención a la existencia de diversos genotipos priónicos que acaban constituyendo diferentes “cepas de priones”, y que generan diversos fenotipos tisulares (histotipos). Estos genotipos se caracterizan por poseer propiedades físico-químicas características como pueden ser la diferencia de tamaño tras someter las proteínas a la acción de la proteasa, distinto grado de resistencia a la proteasa e incluso la proporción de glicosilación de cada proteína. Estos hechos, a su vez, otorgan a cada genotipo una correlación fidedigna con la heterogeneidad fenotípica encontrada en la enfermedad y también con su transmisibilidad. Esto supuso un hallazgo histórico, que permitió ahondar aún más en la comprensión de las enfermedades priónicas y entender el porqué de que una misma secuencia proteica dé lugar a variantes de enfermedad fenotípicamente diferentes (20).

En la actualidad, la clasificación aceptada por la comunidad científica de este campo es la de Parchi *et al.*, del año 1999, que posteriormente ha tenido varias modificaciones. Así las cosas, el pilar molecular de esta clasificación se basa en primer lugar, en la diversidad de tamaño de los fragmentos proteicos no glicosilados del extremo C-terminal resistentes a la acción de la proteasa K originados tras la proteólisis (a los de 21kDa se les denomina tipo 1 y a los de 19kDa tipo 2). En segundo lugar, la clasificación de subtipo molecular de Parchi se basa en el genotipo codificado en el gen *PRNP* del cromosoma 20, en concreto en el codón 129 (el más

relacionado con las prionopatías), dependiendo de si codifica para Metionina (M) o Valina (V). En el caso de que el codón codifique para MM (metionina), será más frecuente que nos encontremos fragmentos proteicos de 21 kDa o tipo 1, mientras que en el caso del codón VV serán predominantes los de 19 kDa o tipo 2 (21). Por lo tanto, la combinación de estas dos características clasifica los priones en estos seis histotipos principales en la enfermedad de Creutzfeldt-Jakob esporádica (en inglés sCJD): MM/MV1, VV2, VV1, MM/MV 2C (cortical), MM 2T (talámica) y el último más diferenciado del resto, el MV 2K (del Kuru) (21). En cuanto al MM 2V o vCJD, decir que esta enfermedad tiene subtipo o cepa priónica propia. Mencionar también que en algunos casos se dan combinaciones entre subtipos o pequeñas modificaciones, generando subtipos menores como los subtipos combinados MM/MV 1+2C o MV 2K+C, ya que ambos fragmentos proteicos, de tipo 1 y 2 pueden coexistir en el mismo cerebro, como ya se ha demostrado (21, 22). Destacar que recientemente se ha publicado en el “*The New England Journal of Medicine*” el primer caso de vCJD no MM (es un MV) (23).

El otro pilar de la Clasificación de Parchi consiste en los hallazgos histopatológicos principales de los histotipos que se han enumerado previamente basados en la clasificación molecular. *Grosso modo*, cada subtipo tiene una característica histopatológica propia que los define. De este modo, el subtipo MM/MV1 destaca por poseer depósitos sinápticos difusos; el subtipo VV2 destaca por poseer depósitos de tipo placa cerebelares y perineuronales; el subtipo MM 2C lo definen las vacuolas corticales confluentes; el subtipo MM 2T, muy relacionado con el Insomnio Familiar Fatal (FFI) se caracteriza por la atrofia tálamo-olivar; el subtipo molecular VV1 lo marcan los depósitos sinápticos corticoestriatales y el subtipo MM 2V o vCJD lo definen las denominadas “placas floridas”, que son patognomónicas. Además, el subtipo del Kurú (MV 2K) posee unas placas características denominadas “*Kuru plaques*”, y los subtipos combinados MM/MV 1+2C y el MV 2K+C poseen depósitos difusos sinápticos y vacuolas corticales confluentes combinadas con las “*Kuru plaques*” respectivamente, como bien se puede deducir al desgranar los subtipos que las conforman y bien se observa en la **Figura 3** adyacente.

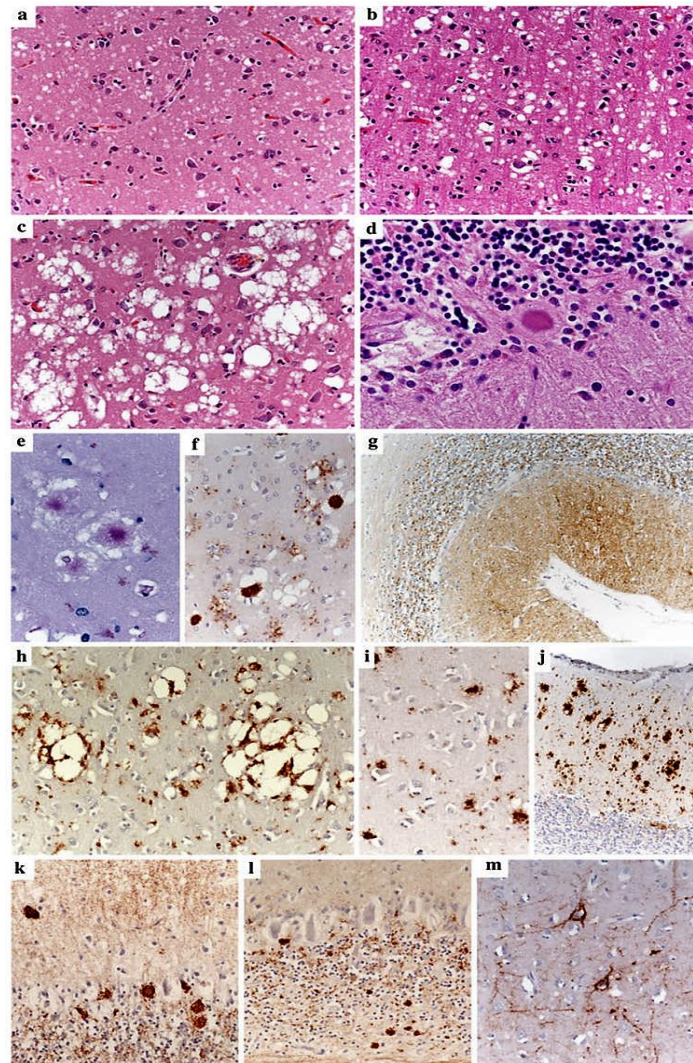


Figura 3. Diferentes características histopatológicas de subtipos de prionopatías humanas esporádicas. **a)** Típico patrón de cambio esponjiforme caracterizado por pequeñas y finas microvacuolas en una pieza de corteza cerebral de sCJD MM1, tinción H&E. **b)** Cambio esponjiforme caracterizado por vacuolas de mediano tamaño, típicas del corteza cerebral de sCJD VV1, tinción H&E. **c)** Cambio esponjiforme caracterizado por vacuolas confluentes relativamente grandes, en corteza cerebral de muestra de sCJD MM 2C, tinción H&E. **d)** placa amiloidea unicéntrica del “kuru-type”, en muestra de cerebelo de sCJD MV2K, tinción H&E. **e) y f)** placas floridas en corteza cerebral de vCJD con tinción PAS e inmunohistoquímica (IHQ) para PrP respectivamente. **g)** patrón de depósito sináptico en cerebelo de sCJD MM1, donde se aprecia una ligera tinción difusa en la capa molecular, mientras que los glomérulos cerebelosos se tiñen en la capa granular, IHQ. **h)** Tinción perivacuolar y **i)** gruesa de PrPsc, típica en casos mixtos de MM 2C MM/MV 1+2C sCJD. El cerebelo en el caso de MM 2C puede ser PrP negativo o mostrar un patrón focalmente irregular/grueso de tinción, IHQ. **j), k)** Depósitos de PrP de tipo placa en las capas moleculares y granulares del cerebelo en un caso de MV 2K sCJD, IHQ. **l)** Depósitos más pequeños de PrP de tipo placa en las capas granular y molecular de cerebelo en un caso de sCJD VV2, IHQ.

Estos depósitos no son visibles en secciones de rutina con tinciones de H&E o PAS. **m)** Tinción perineuronal de PrPsc en capas corticales cerebrales profundas en un caso de sCJD VV2. Todas las imágenes tienen la misma magnificación (x200), excepto **d)** (x400) y **g)** (x100). Imagen: Parchi P, Acta Neuropathol, 2013.

1.2.5 Patogenia.

Actualmente, se puede afirmar que la mayoría de la patogénesis de los priones continúa siendo enigmática para el saber humano. Es sabido que está relacionada con la propagación priónica de alguna manera, pero como los priones pueden propagarse sin dar lugar a patogénesis, se presupone la existencia de factores desconocidos por ahora que hagan posible que esos dos procesos de propagación y patogénesis puedan tener lugar independientemente **(14)**. Se sabe que la base de todo el proceso patogénico reside en la formación de amiloide extracelular, siendo amiloide el término genérico para las masas anormales de proteínas fibrilares de unos 10nm de grosor, que en nuestro caso serían fibrillas de PrPsc. **(3)** Estas fibrillas tienen la capacidad de proliferar, en base a la proliferación de los oligómeros solubles que las forman, que son los verdaderos agentes proliferativos y tóxicos en estas patologías **(3)**.

Estas patologías se dan tanto en animales como en humanos con cierta frecuencia, no habiendo en ninguno de ellos una respuesta inmune del huésped, debido a la tolerancia lógica de este sistema frente a una proteína fisiológica y ubicua como la PrPc. Asimismo, todas las prionopatías tienen un denominador común de su patogénesis a nivel histopatológico, la espongiosis, término acuñado para el resultado microvacuolar de la reacción patológica no inflamatoria que estas patologías provocan **(24)**, además de la gliosis (proliferaciones astrocíticas y de la microglía en zonas de lesiones/cicatrices gliales). Esto provoca la muerte neuronal y la consiguiente e invariablemente letal alteración de las conexiones eléctricas a nivel encefálico **(5)**. Es por tanto que la toxicidad de PrPsc se produce en relación con algún proceso PrPc-dependiente, de fatal desenlace por muerte neuronal y muerte del individuo. **(7)** Esto se deduce del hecho de que parece que la PrPsc se difunde por el

espacio extracelular en vez de propagarse por transporte axonal y que se ha probado que requiere de PrPc transmembrana (GPI) para desarrollar la enfermedad, ya que actúa como transductora de señal y activadora de la cascada de señalización.

Como última anotación, se debe considerar que los priones no son sinónimo de agente patógeno en todos los casos ni en todas las especies (4), ya que por ejemplo en el caso de algunas levaduras, la “infección priónica” otorga a estas especies de hongos la posibilidad de variar su genética a lo largo de la evolución de su especie, constituyendo los priones formas alternativas de transmisión genética, ya que podrían actuar como agentes epigenéticos modulando la transcripción de ciertos genes. Estos hallazgos fueron descritos por François Lacroute en la década de los 70 al ver algunos rasgos en especies de levaduras que no se transmitían de forma no mendeliana: la proteína Sup35p, encargada de la terminación de la translación y la proteína Ure2p, reguladora del metabolismo del nitrógeno.

En resumen, y a modo de conclusión, recalcar los tres pilares conocidos hasta ahora sobre los que asienta la base del saber humano en la patogenia priónica: la alteración de la transducción de señales mediada por PrPc, la localización errónea de PrPc (sale al citosol) y la toxicidad propia generada por los oligómeros de PrPsc (que se cree que sean las verdaderas subpartículas tóxicas), (20) que formarán fibrillas de amiloide responsables necesarias pero no suficientes del daño neuronal letal. (7)

1.2.6 Diagnóstico.

Como no se debe realizar una biopsia de tejido cerebral a los pacientes sobre los que tengamos la sospecha de una prionopatía por razones obvias, se debe tratar de llegar a un diagnóstico de presunción empleando los criterios establecidos por la OMS. Es elemental la estratificación de la certeza del diagnóstico en estos tres niveles en función de los diversos criterios que cumpla el caso: enfermedad definitiva, probable o posible (ordenados de mayor a menor grado de evidencia).

Hoy en día, los principales pilares del diagnóstico de las prionopatías están constituidos en primer lugar por la valoración de los síntomas clave (los prodrómicos suelen ser inespecíficos, como cansancio, cefalea, trastornos del sueño, malestar...etc.). Además, se incluyen otra serie de pruebas diagnósticas que ayudan

con sus resultados a reafirmar la sospecha, como pueden ser el Electroencefalograma (EEG), en el que se observan, aunque no siempre, alteraciones del ritmo de actividad basal encefálica, como la aparición de descargas de ondas delta periódicas intermitentes o la Polisomnografía, en el caso del Insomnio Familiar Fatal. (25).

Además, en la actualidad se están discutiendo nuevos métodos diagnósticos adyuvantes a los que ya existen y que están proporcionando resultados prometedores, como puede ser el estudio de la proteína 14.3.3 mediante técnicas moleculares en líquido cefalorraquídeo (LCR). Esta proteína, que es posible que sea reguladora de funciones celulares, se libera en el LCR ante situaciones que supongan una extensa destrucción de tejido cerebral, como ocurre con la vacuolización y gliosis de las prionopatías. En España, se estima que se ha estudiado su presencia en el 90% de los cerebros con prionopatía que se han recogido, y sólo ha resultado positiva su presencia en un escaso 10%, a lo que si le unimos que no es específica de una prionopatía en concreto y que hay otras situaciones patológicas que acarrearán una elevación de la proteína 14.3.3 como las metástasis, los ictus o los síndromes paraneoplásicos, entre otros, nos muestra que no es un método muy fiable para emplear de “*screening*” (26), sino una prueba que suma algo de evidencia a nuestra sospecha en caso de resultar positiva. La sensibilidad y la especificidad del test de detección de esta proteína son del 90% y el 87% respectivamente, mediante el Western Blot, siendo especialmente abundante en la sCJD.

Otro de los métodos pujantes en el apartado diagnóstico de la patología que nos incumbe serían las técnicas de imagen, en concreto la RMN (en las secuencias FLAIR, como se ve en la **Figura 4** y DWI, de difusión) y el 18FDG-PET, donde parece que, según los últimos estudios, algunas prionopatías tienen un patrón característico de zonas de hiperintensidad en el caso de la RMN, o de hipocaptación/hipometabolismo en el caso del 18FDG-PET. Cada patrón se explicará posteriormente de forma breve en el apartado de cada enfermedad priónica. Tal ha sido la repercusión de la aparición combinada de estos nuevos métodos diagnósticos (con sensibilidades y especificidades entre el 70-95%) (27) que algunos autores ya reconocen que debería ser incluido el PET en los criterios de la OMS para el diagnóstico de prionopatías y que incluso su valor diagnóstico combinando ambas

técnicas es superior al de la 14.3.3 y el EEG juntas, siempre teniendo en cuenta que nos proporcionarán el diagnóstico probable o posible, y nunca el definitivo.

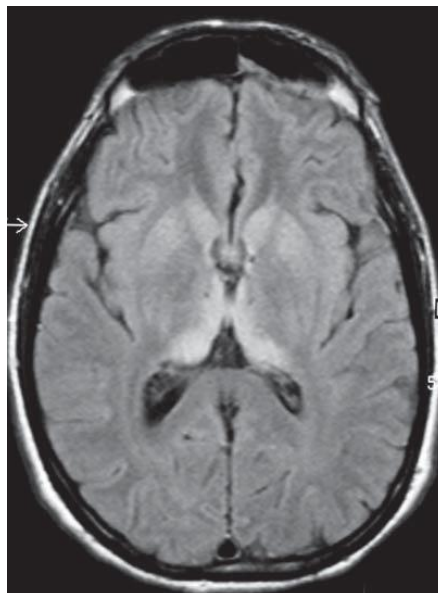


Figura 4. Secuencia de RMN-FLAIR de un corte axial a nivel de ganglios basales que muestra el típico patrón de imagen de la vCJD con la hiperintensidad bilateral simétrica del tálamo a nivel dorsomedial y pulvinar. Imagen: Dr. David Summers, cedida a Diack A, Prion, 2014.

Por otra parte, los métodos que proporcionan un diagnóstico de mayor precisión son el análisis genético de la proteína priónica (analizando el codón 129 en el gen PRNP tras biopsia de tejido cerebral) y el análisis anatomopatológico que proporciona mediante la necropsia un diagnóstico de certeza (enfermedad definitiva). **(25)**.

En suma, recalcar el hecho de que hoy por hoy la única técnica “*gold standard*” diagnóstica de certeza es el examen anatomopatológico del tejido afecto. Destacar, a su vez, el largo elenco de técnicas accesorias y contributivas que existen y están ganando su sitio en la actualidad, como las técnicas bioquímicas o las pruebas de imagen, entre otras. En conclusión, el futuro debe traer consigo la disponibilidad de técnicas diagnósticas más sencillas, sensibles y precisas, como por ejemplo la

detección en analíticas sanguíneas de la PrP elevada, ámbito en el que ya se está trabajando y que resulta esencial (26).

1.3 PRINCIPALES ENFERMEDADES PRIÓNICAS.

A lo largo de su corta historia, el estudio de las enfermedades priónicas ha venido marcado por cuatro características que hacen a estas entidades algo tan único como llamativo. En primer lugar, porque los priones son el único patógeno carente de ácido nucleico. En segundo lugar, porque se desconoce la existencia de otro grupo de patologías que partiendo de un mismo agente etiopatogénico puedan ser infecciosas, genéticas o esporádicas. Tercero, debido a que la patogenia radica en la acumulación de PrP^{sc}, que posee una conformación diferente a la de la forma fisiológica PrP^c, y en cuarto lugar porque los diferentes genotipos observados en la propia PrP^{sc} que pueden dar diversos histotipos de lesión en el sistema nervioso central. Estos hechos han dotado a las prionopatías de un interés especial dentro de la comunidad científica, interés que a menudo se ha visto mermado por la poca inversión realizada por la farmacindustria en este campo, debido a su baja prevalencia. (12)

Actualmente se estima que la incidencia de estas raras e irremediamente fatales enfermedades ronda el 1-2 casos por cada millón de habitantes a nivel mundial (10, 14) si bien es cierto que hay muchas zonas en las que los biobancos y los grupos de investigación, así como los registros de estos casos son muy primitivos, como se muestra en la **Figura 5**. En cuanto a la prevalencia, decir que no es muy elevada, ya que como son enfermedades que desde el momento del diagnóstico suelen acabar con la vida del sujeto en menos de un año a nivel general, por lo que es difícil que se acumulen muchos de estos pacientes.

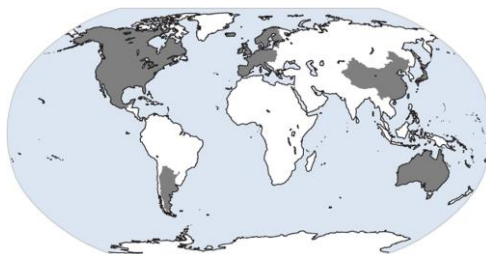


Figura 5. En gris, países que poseen sistemas de registro oficiales de CJD pertenecientes a la Red Internacional de Vigilancia de la CJD. Imagen: Chen, Dong, Infectious Diseases of Poverty, 2016.

De momento, son enfermedades únicamente descritas en diversas especies de mamíferos además de los humanos, como ovejas, vacas, renos, alces... etc. Como se ha dicho previamente, pueden ser patologías esporádicas, genéticas e infecciosas o iatrogénicas. Las prionopatías esporádicas de humanos incluyen la sCJD(esporádica), el Insomnio Fatal Esporádico y la recientemente descubierta Prionopatía Variable Sensible a Proteasas, y son las más frecuentes, constituyendo un 85% de las prionopatías, siendo la sCJD la más frecuente con diferencia. Las prionopatías genéticas están causadas por mutaciones autosómicas dominantes en el gen *PRNP* codificante para la proteína PrPc y engloban la gCJD (genética o familiar), el Insomnio Familiar Fatal (FFI) y el Síndrome de Gerstmann-Sträussler-Scheinker (GSS), y constituyen un 10-15% de las prionopatías. Por último, las prionopatías adquiridas/infecciosas representan el 2-5% de las prionopatías e incluyen al Kurú, CJD iatrogénica y la nueva variante de CJD (vCJD) también conocida vulgarmente como “Enfermedad de las Vacas Locas” (10, 14).

En el caso de España, según datos del Registro Nacional de Encefalopatías Espongiformes Transmisibles Humanas, fueron diagnosticados 1163 casos de prionopatías en el periodo comprendido entre 1993 y octubre de 2009. De todas ellas la más frecuente fue la CJD con 934 casos, de los que 885 casos fueron de la forma esporádica y sólo 6 de la iatrogénica, siendo la edad media de diagnóstico de 60 años en varones y de 70 años en mujeres. (25). A continuación se detallarán los elementos descriptivos fundamentales de las principales prionopatías:

1.3.1 Prionopatías esporádicas.

1.3.1.1. Enfermedad de Creutzfeldt-Jakob Esporádica (sCJD).

Se trata de la principal forma de la CJD, por ello se ha incluido la CJD dentro de las prionopatías esporádicas, por lo que además de esporádica también se le llama clásica. La forma esporádica es la forma de presentación que ocupa el 80-85% de los casos de CJD, mientras que la forma genética o familiar derivada de la herencia autosómica dominante de una mutación en el gen *PRNP* (generalmente la mutación E200K, 14) que condiciona la herencia de la proteína anómala, es el 10-15% de los casos aproximadamente y por último la forma iatrogénica (iCJD) ocupa un escaso

1% de los casos (unos 400 casos en todo el mundo, **14**) y afortunadamente es casi inexistente y con tendencia a la desaparición dados los nuevos últimos métodos de control de trasplantes de córnea (que dio lugar al primer caso de iCJD en 1974, **10**) e injertos de duramadre, y controles microbiológicos de tratamientos con hormona del crecimiento, donaciones de sangre e instrumental neuroquirúrgico, así como el control y esterilización de agujas de EEG (**25, 10**).

La sCJD es más incidente en varones, con una supervivencia media de unos 5 meses, siendo ésta algo superior en mujeres. Su diagnóstico es difícil de efectuar y se suele realizar entre los 57 y los 62 años. Se basa en la clínica y cursa con pródromos inespecífico de fatiga, pérdida de peso, cefalea...etc. para posteriormente desarrollar una demencia rápidamente progresiva, con ataxia, extrapiramidalismo, convulsiones, alteraciones visuales, mioclonias, con mutismo acinético al final de la enfermedad ...etc. (**10**); EEG (enlentecimiento del ritmo de fondo y descargas periódicas de ondas agudas, conocidas como actividad delta rítmica intermitente frontal); análisis del líquido cefalorraquídeo (suele ser normal o con leve elevación de proteínas, entre las que destaca la elevación de la proteína 14.3.3 en el 10% de los casos y no es específico) (**25**); y pruebas de imagen (mediante RMN se ven áreas hiperintensas en caudado, tálamo y globus pallidus), análisis genético de la proteína priónica (valorando el polimorfismo en el codón 129 del gen PRNP, pudiendo ser MM, MV o VV). Por último, el diagnóstico anatomopatológico proporcionará mediante la neurohistopatología y la inmunohistoquímica el diagnóstico de confirmación, ya que hasta ahora sólo nos hemos manejado entre diagnóstico posible y probable. (**25**)

Existen una serie de factores relacionados con un peor pronóstico, como la existencia de signos típicos en el EEG, la homocigosis M/M en el codón 129 y la presencia de proteína 14.3.3 elevada en LCR. (**25**)

1.3.1.2 Nueva Prionopatía Variable Sensible a Proteasa.

Descrita en 2008, se trata de una gran novedad en el ámbito de las prionopatías, con sólo 30 casos descritos hasta el momento (**10**), con una edad media al diagnóstico de 62 años y una supervivencia media de 20 meses. A diferencia del resto de prionopatías, la proteína anómala de este caso es sensible a la acción de las proteasas.

(10) Entre sus características principales destacan la clínica psiquiátrica, ataxia, parkinsonismo y demencia, además de poseer un EEG enlentecido y degeneración espongiiforme a nivel histopatológico en corteza, tálamo y ganglios de la base. (25, 28, 29).

1.3.2 Prionopatías genéticas/familiares.

1.3.2.1 Insomnio Familiar Fatal (FFI).

Se trata de un trastorno autosómico dominante debido a la mutación autosómica dominante D178N unida al polimorfismo M129V en el codón del gen *PRNP* codificante para la proteína anómala. Se han descrito unos 100 casos en el mundo y su edad de presentación presenta un rango muy amplio, comprendido entre los 23 y los 73 años (lo que hace que la mayoría de las veces los pacientes debuten tras haber tenido descendencia, elemento clave en la no erradicación hasta ahora de la enfermedad). La supervivencia puede oscilar entre los 8 y los 72 meses, con una media de 18 meses (10). Lo más característico de la semiología de este cuadro es el inicio de la presentación mediante insomnio, con pérdida del ritmo circadiano del mismo que desemboca en pérdidas cognitivas en el ámbito de la atención, la concentración y la memoria. Los pacientes no consiguen alcanzar la fase NREM (profunda del sueño) y se sumen en un letargo terrorífico con alteraciones psiquiátricas y disfunción autonómica marcada, caracterizada por hipertensión arterial, taquicardia, hipertermia e hiperhidrosis. A nivel hormonal presentan disminución de la secreción de hormona adrenocorticotropa (ACTH), aumento del cortisol basal y pérdida de la secreción circadiana de somatotropina, melatonina y prolactina. La enfermedad progresa con mioclonias, ataxia y espasticidad. La polisomnografía muestra alteraciones claras del ritmo del sueño y el PET un descenso en la captación a nivel talámico. La neurohistopatología observa gliosis, espongiosis y pérdida neuronal a nivel del tálamo. Destacar que una de las regiones del mundo con mayor incidencia de esta fatal enfermedad es el Condado De Treviño (Burgos, Castilla y León), región integrada dentro del espacio geográfico del País Vasco, con una mutación muy característica, la mencionada D178N (12, 34), con 40 casos de los 100 descritos en todo el mundo, postulando el posible origen de la

enfermedad en estas tierras hace unos 1000 o 2000 años, según los estudios de Ana Belén Rodríguez *et al.*, que rastreó la mutación en esta área hasta el Siglo XVII (30).

1.3.2.2 Síndrome de Gerstmann-Straüssler-Scheinker (GSS).

Con una ínfima incidencia anual de 1 caso por cada 100 millones de habitantes (10), se trata de una prionopatía familiar de herencia autosómico dominante en el 40% de los casos. Su debut clínico tiene lugar entre la tercera y la sexta década de la vida y como particularidad tiene el hecho de que no acaba con la vida del paciente en un plazo breve de meses como el resto de las prionopatías descritas; en ésta, la evolución hacia la fatalidad conlleva un periodo aproximado de 5 años, pudiendo llegar hasta los 9 años de supervivencia (10). Existen algunos cuadros clínicos como si de subtipos de la enfermedad se tratase (25) y dependiendo de la mutación puede haber variaciones fenotípicas en la expresión de la enfermedad (10). La clínica debuta con debilidad proximal en EEII junto a hiporreflexia y disestesia. A esto le acompañan la torpeza motora, disdiadococinesia, paraparesia espástica, signos extrapiramidales y ataxia, que condiciona una degeneración del tracto corticoespinal. Otra característica distintiva es que la demencia no siempre está presente, si bien la agresividad, la apatía y la labilidad emocional son frecuentes. El EEG demuestra complejos onda-punta similares a los de la vCJD y la RMN demuestra leve hipointensidad en T2. El diagnóstico más preciso se efectúa por la detección de la mutación, ya que la neurohistopatología es similar a la del Kuru, con placas similares, pero espiculadas-radiadas además de tener cambios microgliales en este caso. (25).

1.3.3 Prionopatías adquiridas/infecciosas.

1.3.3.1 Kuru.

Fue la primera prionopatía en demostrar transmisibilidad de un individuo a otro tras inoculación de extractos cerebrales de pacientes de Kuru a chimpancés sanos. (10) Se trata de una enfermedad descrita a principios de siglo XX entre los nativos de la tribu Fore de Papúa Nueva Guinea, que tenían por costumbre el canibalismo tras la muerte de sus familiares, con ingesta de carne y vísceras humanas entre las que se

encontraba el cerebro. Las medidas tomadas por el Gobierno al respecto han hecho que sea una enfermedad casi erradicada desde 1950 en adelante (14) cuyos últimos diagnósticos se efectuaron a finales de los 90, con menos de 15 diagnósticos anuales (14). La enfermedad principalmente se daba en niños y mujeres, ya que los hombres adultos comían la carne y dejaban los restos de menos calidad para mujeres y niños, es decir, las vísceras y el cerebro. La clínica se inicia con trastornos ansioso-depresivos acompañados de ataxia, disdiadococinesia, mioclonias, coreoatetosis y fasciculaciones, seguidas de debilidad motora e incontinencia. En los últimos estadios de la enfermedad aparecen la disartria, demencia y el encamamiento. La supervivencia desde el diagnóstico varía entre los 9 y 2 meses. Tiene un EEG anómalo totalmente diferente al del resto de prionopatías e histopatológicamente se observa pérdida neuronal no inflamatoria, astrocitosis, vacuolización espongiiforme y placas patognomónicas de Kuru que contienen amiloide priónico.

1.3.3.2 Nueva Variante de la Enfermedad de Creutzfeldt-Jakob (vCJD).

Probablemente la prionopatía más mediáticamente conocida por la fobia mundial que provocó hace una década, descubierta en el Reino Unido en 1996 bajo el sobrenombre coloquial de “Enfermedad de las Vacas Locas”. A diferencia de otras prionopatías, debuta en gente joven (en torno a los 28 años), especialmente en aquellos que sean homocigotos M/M en el codón 129 del gen PRNP, a diferencia de la sCJD donde el polimorfismo M/V parece ser el de riesgo (28). Transmitida por la ingesta de carne bovina infectada por el prión de la Encefalopatía Espongiiforme Bovina, constituyó el primer caso de una prionopatía en la que el agente patógeno demostró transmisibilidad inter-especie afectando al humano, hecho demostrado en 1997 tras la inoculación del agente en ratones y la realización de estudios histopatológicos que filieron la etiología de la vCJD (28). A esta propiedad de los priones se le denominó “*Species Barrier*”, es decir, que los priones de una determinada especie animal pudiesen desarrollar la patología en otra. (31) Su evolución es letal en un periodo medio comprendido entre los 6-24 meses. El país más afectado ha sido el Reino Unido, como se observa en la **Figura 6** con unos 177 casos seguido de Francia con una treintena, con una incidencia actual de 1-2 casos por año a nivel Europeo, como máximo, si bien no se puede subestimar la posible

aparición de un repunte de casos en países que importasen ganado británico de aquellos años y se hayan expuesto al patógeno, dado el elevado periodo de latencia **(14, 26)**

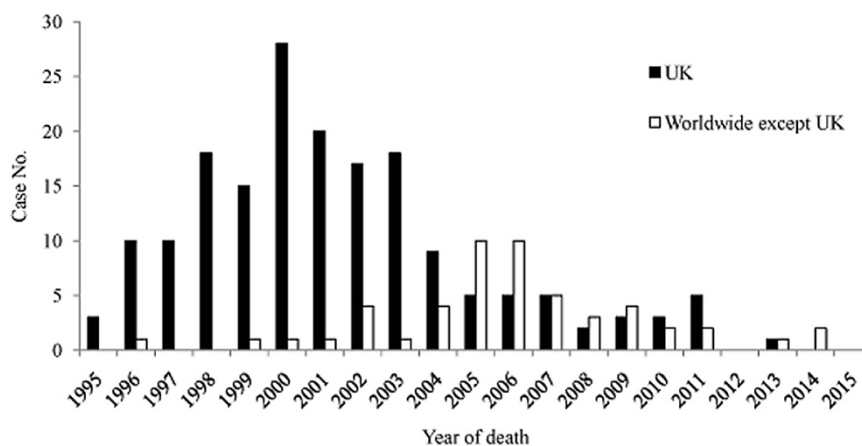


Figura 6. Número de muertes por vCJD en el Reino Unido (UK) y fuera de Reino Unido en el periodo comprendido entre 1995 y 2015, donde se ve el claro decrecimiento mencionado. Imagen: Chen, Dong, Infectious Diseases of Poverty, 2016.

Comienza con clínica psiquiátrica (es lo más característico) como ansiedad, psicosis, depresión... para a continuación seguir con parestesias que pueden afectar a un hemicuerpo entero. La progresión es tan rápida como devastadora, con clínica de ataxia, demencia, inmovilismo y mutismo en estadios terminales. En la RMN es característica la hiperintensidad pulvinar y del tálamo dorsomedial. El EEG muestra un patrón de onda lenta diferente al de la sCJD y anatomopatológicamente se observan las patognomónicas placas floridas (con amiloide central PrPsc rodeado de vacuolas en forma de pétalo) además de cambios espongiiformes en cerebro, cerebelo, ganglios basales y tálamo. Recientemente se ha publicado un caso de vCJD con MV en el codón 129, que ha suscitado que los neurólogos estén preocupados ya que podría haber una segunda ola de casos en personas MV, en los que el periodo de latencia de la enfermedad fuera más largo **(23)**.

1.4 PATOLOGÍA NEURODEGENERATIVA ASOCIADA A PRIONOPATÍAS.

1.4.1 Neurodegeneración y asociación en PMDs.

Entendiendo la neurodegeneración como el fenómeno patológico caracterizado por la progresiva disfunción y deterioro del SNC, son muchas las patologías que comparten este fenómeno, la mayoría de ellas marcadas por una patogenia común, que no es otra que el depósito de la proteína anormalmente plegada en cuestión, de ahí que se les conozca bajo el sobrenombre de PMDs (19). Así, podemos encontrarnos con enfermedades como el AD con sus depósitos de beta amiloide y de Tau, con la ELA y sus depósitos de TDP-43, el PD y sus depósitos de alfa-sinucleína o las propias prionopatías con sus placas de PrPsc, entre otras (19). La mayoría de estos agregados consisten en el denominado amiloide, filamentos de 8-20 nm de espesor, ricos en hoja beta como estructura secundaria que suelen teñirse con tinciones como el Rojo Congo y producir una birrefringencia verde manzana al verlos con luz polarizada. En los últimos años, diversos estudios han demostrado la transmisibilidad intercelular de estas proteínas y su fisiopatología compartida, lo que ha conllevado la formulación y la constatación de hipótesis acerca de la existencia de patología neurodegenerativa concomitante y asociada. (19).

Para justificar la existencia de estas interacciones y la coexistencia (se ha demostrado la presencia de dos proteínas anómalas diferentes en el mismo agregado de amiloide, 31) de estas PMDs se ha postulado la teoría del “*Cross-seeding*” o nucleación heteróloga. Según éste modelo, una “semilla” de una determinada PMD podría servir de molde o tener un “efecto gatillo” para que la nucleación y polimerización de oligómeros de otra PMD comience, de forma que el hecho de padecer una PMD sería factor de riesgo para desarrollar otra. (31) De esta forma, muchas PMDs que son etiquetadas como esporádicas por desconocimiento de su patogénesis podrían ser explicadas, al menos en parte. (9). No obstante, este proceso resulta largo y costoso y requiere de muchos cofactores, hecho que justificaría los largos periodos de latencia que todas estas patologías comparten. De acorde a las últimas investigaciones, parece ser que mecanismos como la inflamación, la sobrecarga de los sistemas dependientes del proteasoma y de las chaperonas, además de la activación de algunas cascadas de

señalización son señalados como responsables de estas interacciones entre diversas proteínas. (31)

Como evidencia epidemiológica de este hallazgo se puede mencionar la positividad para diabetes tipo-2 hasta en un 81% (9) (enfermedad por depósito de amilina en páncreas) en muchos pacientes afectos de AD. Sin embargo no se ha visto aumento de depósito de beta amiloide y por tanto de AD en la misma cantidad de estudios que en el caso previo en pacientes que padezcan diabetes tipo-2, sugiriendo prácticamente la unidireccionalidad del proceso (9). También se podría destacar la coexistencia de beta amiloide y alfa-sinucleína en algunos pacientes afectos de AD que *a posteriori* desarrollan PD o Demencia de Cuerpos de Lewy. En lo que a las prionopatías se refiere, se han hallado acúmulos simultáneos de PrPsc y beta amiloide en pacientes con AD, GSS y sCJD, incluso con beta amiloide dentro de las placas priónicas y viceversa. Este hecho ha revelado un hallazgo de enorme importancia para el objetivo de nuestro trabajo, ya que se ha demostrado que la interacción entre ambas proteínas es inversamente proporcional. Es decir, los pacientes que albergan mayores concentraciones de beta amiloide poseen menores concentraciones de PrPsc y viceversa, bien sea porque el beta amiloide inhiba el acúmulo de PrPsc o porque se emplee la PrPsc como semilla para nuclear el AD, lo cual conduciría a que muchos casos de AD podrían deberse a un inicio priónico, teniendo prionopatías “encubiertas” por el Alzheimer. En este sentido, se deberían realizar estudios en zonas con mayor prevalencia de patologías relacionadas con la PrPsc y ver si la prevalencia de AD es mayor, hecho que apoyaría la hipótesis planteada. (31). Además, todo apunta a que la coexistencia de ambas proteínas patológicas podría desencadenar un efecto tóxico que produjese la enfermedad sin necesidad de acumulación de PrPsc, en un claro efecto sinérgico, ya que ambas proteínas se localizan en tejido encefálico y en el espacio extracelular, haciendo más plausible su interacción.

Sin embargo, también ha habido dos estudios que han demostrado que la función de PrPc podría ser la de ser un receptor para el beta amiloide, contribuyendo a su patogénesis, mientras que el otro estudio reveló que PrPc podría ser un factor protector frente al AD inhibiendo la beta-secretasa, lo que hace que una investigación más profunda sea requerida para arrojar luz sobre este ámbito (31). En resumen, si

bien en el pasado se empleaba el término concomitante o asociado para designar la patología no neurodegenerativa que se asociaba a estos trastornos, por ejemplo la patología vascular o metabólica, hoy en día parece que caminamos hacia la demostración de que la concomitancia de PMDs neurodegenerativas sea más la norma que la excepción. (32).

Por último, mencionar que la coexistencia de múltiples proteínas implicadas en la neurodegeneración parece que origina diferentes subtipos clínicos, dificultando en muchas ocasiones un diagnóstico “pre-mortem” certero, e incrementando la utilidad aún más si cabe, de los estudios autopsicos neuroanatomopatológicos (33).

1.4.2 Supervivencia y patología concomitante.

Una de las consecuencias de los avances médicos de los últimos siglos ha sido el progresivo y continuo aumento de la esperanza de vida a nivel mundial, y por consiguiente un aumento también en la incidencia y prevalencia de los trastornos neurodegenerativos asociados a la edad, como el AD o el PD.

Así las cosas, parece ser que la concomitancia en lo que a patologías neurodegenerativas se refiere va a ser la norma a partir de ahora, siendo el AD la patología más asociada a las prionopatías en un 63% de los casos (34). Por ende, varios grupos de investigadores, con Ellen Gelpi como abanderada, (34), trabajan en analizar si el hecho de desarrollar una patología neurodegenerativa asociada/concomitante a una prionopatía tiene algún tipo de correlación clínico-patológica con la misma. Algunos de ellos están focalizados en lo que a duración de la enfermedad o supervivencia se refiere, como nuestro trabajo. Los resultados son contradictorios, debido a que los estudios son muy primitivos y se encuentran en fase de desarrollo primario, otorgando más valor en lo que a novedoso se refiere a nuestro trabajo. Sin embargo, ya empiezan a aportar datos que parecen conducir a la senda de una mayor supervivencia en los casos de prionopatía con patología concomitante, hecho príncipes del trabajo que presentamos. Como causas de esta mayor supervivencia, existen una serie de teorías ciertamente endebles todavía, debido al escaso volumen de estudios que las refrendan; pero hipótesis como una interacción proteica en situaciones de copatología que enlentecería la propagación de la proteína

priónica y su patogénesis, o la participación de la PrPsc en procesos de neuritogénesis que aumentarían la plasticidad neuronal y frenarían en cierto modo el avance del daño priónico empiezan a cobrar fuerza, sustentadas por diversos autores como Gelpi (34), Graner (35) o Chen (36). Este hallazgo es contrario a lo que se ha demostrado en demencias rápidamente progresivas neurodegenerativas no priónicas, como el AD, en las que parece ser que la concomitancia acelera la progresión de la enfermedad (34). Este hecho podría servir como base para cimentar estudios ulteriores a los realizados hasta ahora en el ámbito de la patogénesis y la propagación y transmisiones priónicas, con el objetivo final de descubrir dianas terapéuticas efectivas.

Asimismo, se han hallado otros factores influyentes en la supervivencia de diversas prionopatías, como es el caso de una edad de inicio de la patología precoz, el género femenino, la heterocigosidad en el codón 129 del gen *PRNP*, la ausencia en el LCR de proteína 14-3-3 o que la proteína priónica PrPsc sea del tipo 2a tras su digestión por proteasas, factores todos ellos vinculados a una supervivencia más larga (6). Además, estos datos podrían servir como ayuda para estratificar a los pacientes en función de su gravedad y urgencia de su patología, para emplear unas estrategias terapéuticas u otras. (6).

2. OBJETIVOS.

- -Objetivos generales:
 - Estudio de la patología neurodegenerativa primaria asociada a la enfermedad priónica de Creutzfeldt–Jakob esporádica (sCJD) y su repercusión en la supervivencia, así como en el histotipo MM1: determinación de la expresión de Tau hiperfosforilada, Tau-3R y 4R, Beta amiloide, Alfa-sinucleína y TDP43.
- -Objetivos específicos:
 - Realizar una base de datos con todos los casos registrados con sCJD del Banco de Tejidos Neurológicos del País Vasco en su nodo de Álava.
 - Análisis estadístico de los resultados del ensayo.
 - Revisión temática de la literatura sobre el ámbito priónico.

3- MATERIALES Y MÉTODOS.

3.1- MATERIAL PATOLÓGICO Y DEL PACIENTE.

Treinta cerebros con prionopatía confirmada fueron almacenados en el Banco de Tejidos Neurológicos del País Vasco en su Nodo del Hospital Universitario Araba siguiendo un programa de donación de cerebro aprobado por el Comité Ético del Centro Nacional de Investigación, mediante investigación bajo licencia de la Autoridad de Tejidos Humanos. Se extrajo el encéfalo en la autopsia y se realizaron estudios neuropatológicos. A la mayoría de casos se le hizo análisis genético y bioquímico.

Se efectuó un detallado análisis de cada caso empleando toda la información médica disponible, así como la vinculada al riesgo, obtenida de documentos médicos, personal sanitario y entrevistas con familiares del caso. Las características clínicas fueron revisadas retrospectivamente, focalizando especialmente la atención en aspectos como el sexo, edad al fallecimiento y duración de la enfermedad. El inicio de la enfermedad fue calculado comenzando con la presentación de signos y/o síntomas neurológicos sugestivos de daño orgánico. Síntomas prodrómicos tales como el cansancio, la depresión, alteraciones del sueño, anormalidades en el apetito, pérdida de peso y cefalea no fueron considerados en este aspecto. La duración de la enfermedad se valoró desde el inicio de la enfermedad hasta la muerte del sujeto por la misma. En todos los casos fue valorada la existencia de historia familiar de enfermedad neurodegenerativa o de exposición iatrogénica potencial (por ejemplo, de implantes de duramadre, queratoplastias corneales o bien hormonas pituitarias procedentes de cadáver humano).

3.2 HISTOLOGÍA E INMUNOHISTOQUÍMICA.

Esta sección fue realizada por laboratorio del Banco de Tejidos Neurológicos del País Vasco en su Nodo dentro del Hospital Universitario Araba. De manera acorde con las guías internacionales de seguridad, todos los cerebros fueron fijados durante un mes en solución al 4% de formalina y cortados tomando muestras de localizaciones diferentes para el examen histopatológico, empleando los protocolos estandarizados para ello. Se tomaron muestras de corteza occipital, frontal, parietal y

temporal, así como los de la sustancia blanca profunda de diferentes lóbulos, caudado, putamen/globo pálido, tálamo, sistema límbico, tronco del encéfalo y cerebelo. Además, cada muestra fue tratada con ácido fórmico al 98% durante 60 minutos y posteriormente fijada en formalina, para finalmente ser embebida en parafina. A continuación, se obtuvieron secciones de 4µm de grosor empleando un micrótopo. Después, se tiñeron dichas muestras con tinción de hematoxilina-eosina y método de tinción de Klüver-Barrera y/o fueron procesadas para inmunohistoquímica. Detallando brevemente el paso previo, decir que las secciones fueron incubadas con peróxido de hidrógeno al 2% y metanol al 10% durante 30 minutos a temperatura ambiente, para *a posteriori* incluirlas en suero fisiológico al 5% durante 2 horas más. A continuación, las secciones obtenidas fueron incubadas durante una noche con uno de los siguientes anticuerpos empleados: proteína fibrilar acídica de la glía o GFAP (diluida a 1:500, Dako), neurofilamentos (diluida al 1:200; Menarini), CD68 (diluida a 1:500; Dako) para microglía, epítomos hiperfosforilados de Tau (anticuerpo AT8; diluido a 1:100; Innogenetics) como se puede ver en la **Figura 7 (C)**, 3Rtau (anticuerpo anti-repeticiones de Tau3, diluido a 1:100; Millipore), β-amiloide (diluida a 1:200; Dako), α-sinucleína (diluida a 1:50; Menarini), αβ-cristalina (diluida 1:100; Leica Biosystems), ubiquitina (diluida a 1:500; Dako) y TDP-43 (diluida a 1:1000; Abnova, Tebu-Bio, Barcelona, España). Se realizó la inmunohistoquímica para el anticuerpo monoclonal anti-PrP 3F4 (1:200; Millipore, Billerica, MA), seguida de incubación con proteinasa K. Tras el lavado, las secciones fueron procesadas con el denominado método estreptavidina-biotina (Dako). Finalmente, algunas secciones fueron teñidas sin el anticuerpo primario o únicamente con el anticuerpo secundario, con el fin de descartar inmunoreactividad no específica. Las secciones de tejido fueron ligeramente contrateñidas con hematoxilina. Se aplicó un criterio establecido para el estudio neuropatológico de CJD y también se siguieron guías internacionales para el diagnóstico del resto de enfermedades neurodegenerativas primarias coexistentes. Todos los casos fueron revisados por Aitzol Miguélez, tutorizado por el Dr. Iván Fernández Vega.

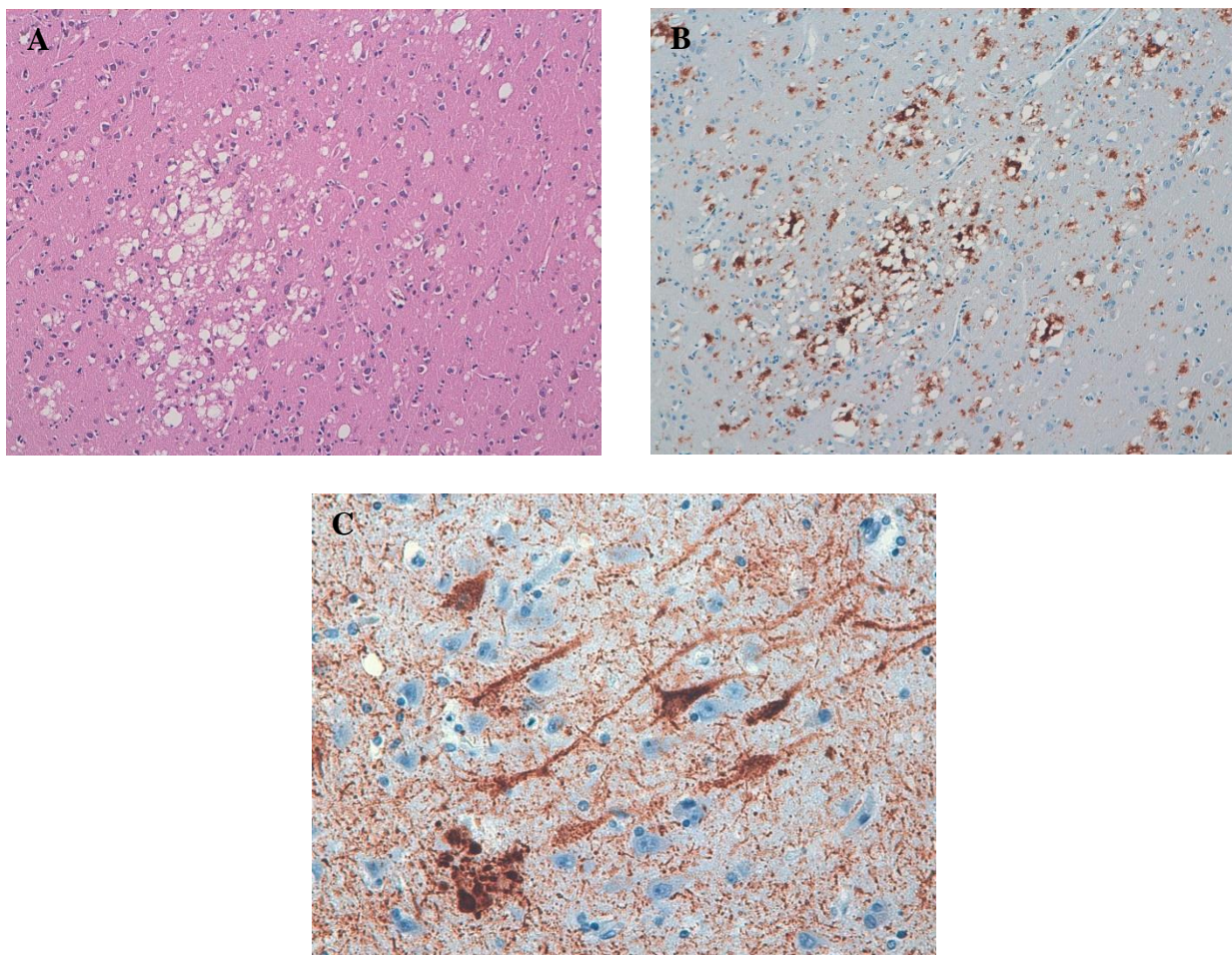


Figura 7. A) Tinción de H&E de una de nuestras muestras cerebrales de sCJD, donde se puede observar la típica agregación vacuolar o espongiosis. **B)** IHQ para PrP en una de nuestras muestras afectas de sCJD, donde se observan depósitos perivacuolares de PrP. **C)** Tinción inmunohistoquímica (IHQ) con anticuerpo AT8 que detecta los depósitos de proteína Tau hiperfosforilada, en una de las muestras de sCJD analizadas en nuestro estudio, demostrando la existencia de patología concomitante.

3.3 ANÁLISIS GENÉTICO.

El análisis genético de los casos de CJD fue realizado en la sección de Biología Molecular, integrada dentro del Departamento de Anatomía Patológica del Hospital Universitario Araba. El marco de lectura completo del gen *PRNP* fue amplificado por reacción en cadena de polimerasa (PCR), empleando DNA genómico extraído de

tejido cerebral fresco. La PCR fue llevada a cabo en un volumen final de 25µl con 45ng de DNA, 0,1mM dNTP, 1mM MgCl₂, 0,2µM de cada “primer” (Forward: 5'-CCATTGCTATGCACTCATTC-3'; Reverse: 5'-CGGGACAAAGAGAGAAGAAA-3'), 0,2mg/ml de suero bovino albúmina BSA, 0,5 unidades de Taq Polimerasa y 1x Taq buffer, bajo las siguientes condiciones: primer paso de desnaturalización a 95°C durante 10 minutos, 35 ciclos de desnaturalización a 95°C durante 45 segundos, templado a 60°C durante 30 segundos y elongación a 72°C durante un minuto, para finalmente realizar una elongación final a 72°C durante 10 minutos. El análisis de la secuencia fue realizado directamente por secuenciación automática y los resultados se incorporaron a la base de datos.

3.4 ANÁLISIS DE LA PROTEÍNA PRIÓNICA.

El análisis de la proteína priónica fue realizado en un laboratorio externo al Hospital Universitario Araba, con medidas de seguridad P3. El tejido cerebral congelado fue almacenado a -80°C y escrutado acerca de la presencia de la PrP resistente a proteasa (PrP^{res}) mediante técnicas de Western Blot. Brevemente, los homogenados de cerebro al 10% fueron sometidos a una proteólisis limitada mediante digestión con una concentración final de Proteinasa K (PK) de 440µg/ml. La electroforesis fue realizada en un formato mini-gel al 12%T acrilamida SDS-PAGE (Bio-Rad Laboratories) y las proteínas fueron transferidas a unas membranas Hybond ECL (Amersham Pharmacy Biotech). La detección fue realizada mediante el uso del anticuerpo monoclonal 3F4 (Dako), en una dilución al 1:3000, empleándola en diferentes regiones del cerebro tratadas previamente con PK, como fueron la corteza occipital, el putamen/globo pálido, cerebelo, corteza parietal, tálamo, corteza frontal y corteza temporal. Para la detección se emplearon reactivos ECL+ e Hyperfilm ECL (Amersham Pharmacy Biotech) y se incluyeron, a su vez, casos control de CJD tipo 1 y tipo 2. Los resultados de cada caso fueron incluidos en la base de datos.

3.5 CLASIFICACIÓN DE SUBTIPO DE sCJD.

Los casos de sCJD fueron clasificados acorde con los estamentos de Parchi *et al.* (26), basados en los resultados combinados del examen neuropatológico, isotipado de la proteína priónica y genotipo del codón 129.

3.6 ANÁLISIS ESTADÍSTICO.

Se ha realizado un análisis descriptivo de las características de los pacientes y de las lesiones mediante la determinación de la media y desviación estándar para las variables cuantitativas y la distribución de frecuencias para las variables cualitativas. El potencial asociación entre las diferentes variables cuantitativas se ha determinado mediante la aplicación de técnicas no paramétricas (U de Mann Whitney) tras la determinación de la normalidad de las variables mediante la prueba de Saphiro Wilk. Se realizó un análisis de supervivencia, determinándose las diferencias entre las distintas curvas de supervivencia mediante la aplicación del test de log Rank. Por último, se realizó la prueba de regresión de Cox para calcular los riesgos que afectan a la supervivencia de nuestra población de sujetos. El análisis estadístico fue realizado empleando el software SPSS Statistics versión 21 (IBM) con un valor de significación de $p < 0,05$.

4. RESULTADOS.

4.1 ANÁLISIS DESCRIPTIVO MUESTRAL Y COPATOLOGÍA.

Tabla 1. Descripción muestral de los casos de sCJD del estudio. Con * y subrayado se han marcado los datos de las hipótesis testadas en nuestro trabajo, resultando verdaderas de forma estadísticamente significativa.

	TOTALES	CON COPATOLOGÍA	SIN COPATOLOGÍA
Totales (nº y %)	30	16 (53,3%)	14 (46,7%)
Edad media (años)	70,30	72,75	67,86%
Sexo (Masculino) (nº y %)	19	10 (52,63%)	9 (47,37%)
Intervalo medio de supervivencia (meses)	6,76	9,18	4,35
Peso medio del encéfalo (g)	1269	1245	1294
Histotipo MM1 (nº y %)	13 (43%)	7 (53,85%)	6 (46,15%)
*Supervivencia media global (meses)	<u>6,93</u>	<u>9,8</u>	<u>4,36</u>
*Supervivencia media MM1 (meses)	<u>4,44</u>	<u>6,71</u>	<u>2,17</u>

En los 16 casos de sCJD con copatología se ha identificado 23 patologías neurodegenerativas primarias asociadas preferentemente en estadios iniciales o moderados de evolución. De todas las enfermedades neurodegenerativas primarias identificadas, la AD fue la más frecuente con 9 casos (56%), seguida de la angiopatía amiloide y de la enfermedad por granos argirófilos con 2 casos cada una (12,5% cada una). Por otra parte, de los 16 casos de sCJD y teniendo en cuenta la proteinopatía subyacente a cada enfermedad, 15 casos mostraron patología por tau hiperfosforilada, 10 tuvieron depósito de beta amiloide, 3 casos mostraron depósito de Tau 4R y se identificó un caso con depósito de alfa-sinucleína (ver tabla en apartado de material complementario).

Asimismo, el examen microscópico que hemos realizado de las muestras ha proporcionado una visión nítida de la concomitancia de diversas enfermedades neurodegenerativas primarias asociadas a la sCJD (**Figura 8**).

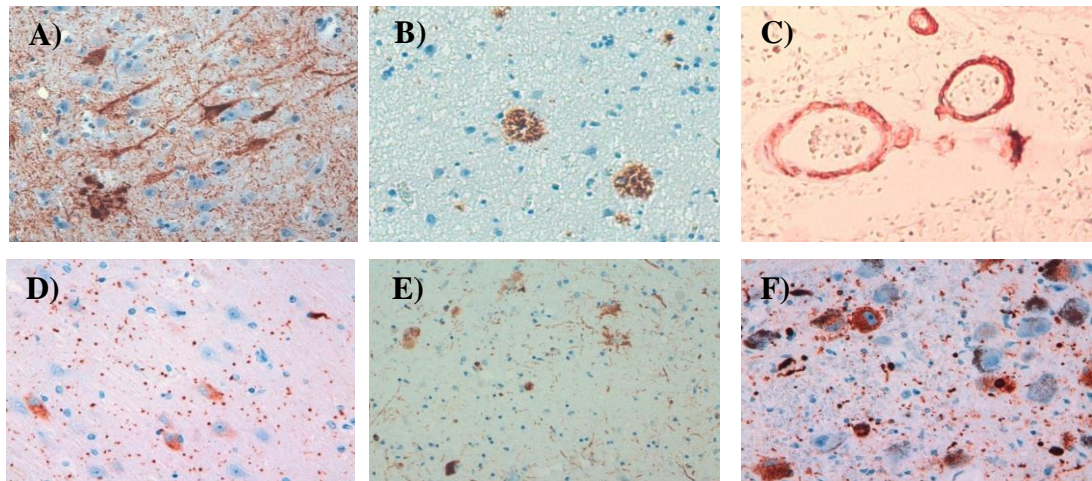


Figura 8. Imagen con diversos marcajes tincionales que muestra la presencia de copatología asociada a sCJD en nuestras muestras. **A)** Tau hiperfosforilada mostrando patología de AD. **B)** Beta amiloide mostrando placas neuríticas en una AD. **C)** Beta amiloide mostrando angiopatía amiloide (**AA**). **D)** Tau 4R mostrando granos argirófilos en el hipocampo. **E)** Tau 4R mostrando patología de PSP (Parálisis Supranuclear Progresiva). **F)** Alfa-sinucleína mostrando patología de PD.

4.2 ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE LOS RESULTADOS.

En las **Tablas 2 y 3** se muestran los resultados obtenidos a la hora de efectuar el contraste de hipótesis para las supervivencias de los grupos con y sin patología asociada en la sCJD, mediante la prueba no paramétrica de U de Mann-Whitney. De acuerdo con lo obtenido se rechaza la hipótesis nula (que dice que no hay diferencias entre las supervivencias de uno y otro grupo), ya que existen diferencias estadísticamente significativas con un intervalo de confianza del 95% ($p < 0,05$) en los casos de supervivencia global relacionada con la presencia de patología neurodegenerativa primaria asociada y en el caso de supervivencia global relacionada con la patología neurodegenerativa asociada a los diferentes histotipos de sCJD, en concreto con el histotipo MM1.

Tabla 2. Contraste de hipótesis mediante U de Mann-Whitney que muestra de forma estadísticamente significativa ($p < 0,05$) que la supervivencia varía en función de existencia o no de patología neurodegenerativa asociada a la prionopatía.

Hypothesis Test Summary				
	Null Hypothesis	Test	Sig.	Decision
1	The distribution of Age (years) is the same across categories of Associated pathology.	Independent-Samples Mann-Whitney U Test	,154 ₁	Retain the null hypothesis.
2	The distribution of Disease intervale (months) is the same across categories of Associated pathology.	Independent-Samples Mann-Whitney U Test	,043 ₁	Reject the null hypothesis.
3	The distribution of Brain's Weight (g) is the same across categories of Associated pathology.	Independent-Samples Mann-Whitney U Test	,142 ₁	Retain the null hypothesis.

Asymptotic significances are displayed. The significance level is ,05.

₁ Exact significance is displayed for this test.

Tabla 3. Contraste de hipótesis mediante U de Mann-Whitney que muestra de forma estadísticamente significativa ($p < 0,05$) que la supervivencia varía en función del histotipo.

Hypothesis Test Summary				
	Null Hypothesis	Test	Sig.	Decision
1	The distribution of Age (years) is the same across categories of Histotype.	Independent-Samples Mann-Whitney U Test	,592 ₁	Retain the null hypothesis.
2	The distribution of Disease intervale (months) is the same across categories of Histotype.	Independent-Samples Mann-Whitney U Test	,028 ₁	Reject the null hypothesis.
3	The distribution of Brain's Weight (g) is the same across categories of Histotype.	Independent-Samples Mann-Whitney U Test	,934 ₁	Retain the null hypothesis.

Asymptotic significances are displayed. The significance level is ,05.

₁ Exact significance is displayed for this test.

Se han realizado múltiples análisis estadísticos cruzando las diferentes enfermedades neurodegenerativas primarias asociadas a la CJD, no identificando repercusión en la supervivencia del paciente de manera estadísticamente significativa para ninguna, de manera individualizada.

4.3 ANÁLISIS DE SUPERVIVENCIA Y CÁLCULO DEL RIESGO.

El análisis de supervivencia realizado para la presencia o ausencia de copatología neurodegenerativa asociada a sCJD ha sido estadísticamente significativo ($p=0,031$) (Figura 9).

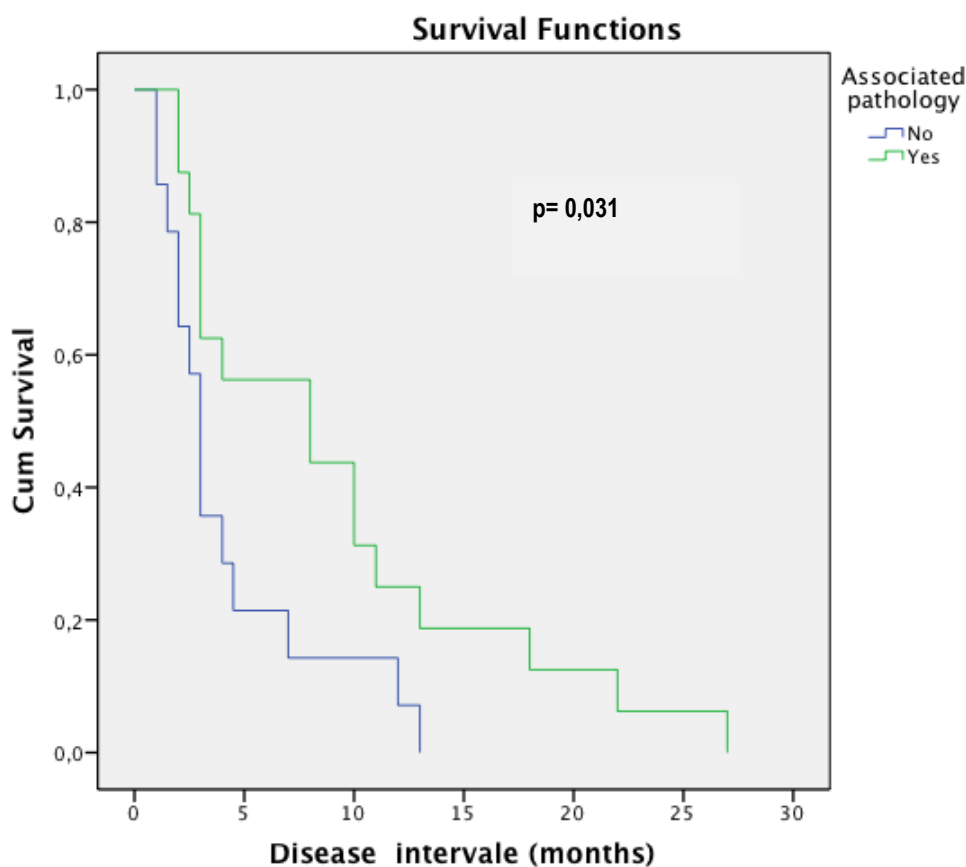


Figura 9: Análisis de la curva de supervivencia de los casos de CJD según la presencia o ausencia de patología neurodegenerativa primaria asociada.

El análisis de supervivencia realizado para la presencia o ausencia de copatología neurodegenerativa asociada dependiendo de los histotipos de sCJD ha sido estadísticamente significativo para el grupo MM1 ($p=0,042$) (**Figura 10**)

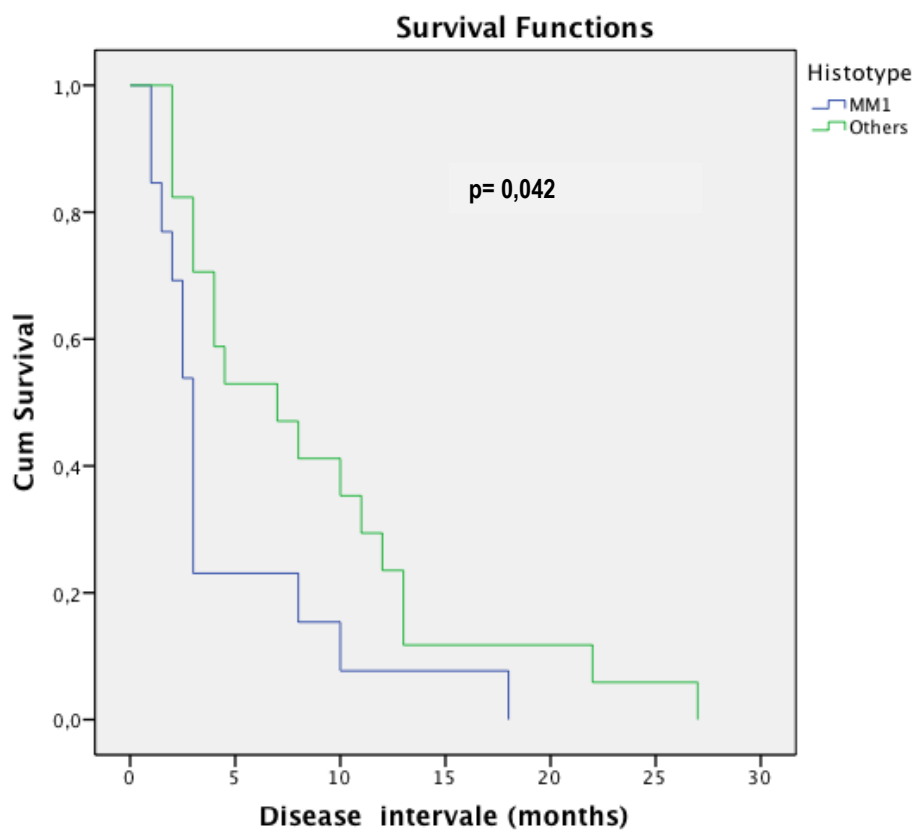


Figura 10: Análisis de la curva de supervivencia de los casos de CJD según la presencia o ausencia de patología neurodegenerativa primaria asociada en relación con los histotipos, destacando el MM1.

Se observó significación estadística ($p= 0,031$) para los casos de prionopatías con patología neurodegenerativa asociada con una media de $9,156 \pm 1,905$ de error estándar y también se ha podido apreciar significación estadística ($p= 0,042$) con una media de $4,5 \pm 1,343$ de error estándar para una menor supervivencia en el caso del histotipo MM1 de sCJD.

Asimismo, se realizó la prueba de regresión de Cox para calcular los riesgos que afectan a la supervivencia de nuestra población en sujetos con sCJD en relación con la presencia de patología neurodegenerativa primaria asociada (**Tabla 3**).

Tabla 3. Regresión de Cox. Análisis del cociente de riesgos.

	Significación	Cociente de riesgo	Intervalo de confianza	
			Inferior	Superior
Patología Neurodegenerativa primaria asociada a sCJD	,010	5,932	1,543	22,804
Patología Neurodegenerativa primaria asociada al histotipo MM1 de sCJD	,003	,266	,111	,639

5. DISCUSIÓN.

Las prionopatías humanas son patologías neurodegenerativas invariablemente fatales que hoy por hoy suponen un reto para el conocimiento científico actual. Pese a ser de baja incidencia, la ausencia de tratamiento y el gran número de lagunas sobre sus características patogénicas, proliferativas...etc. las convierten en una amenaza para el ser humano. Asimismo, el paradigma priónico supone un reto aún mayor si atendemos a cuatro características claves que lo diferencian y lo hacen único respecto a cualquier otro patógeno conocido hasta el momento. Dichas características son que los priones constituyen el único patógeno conocido hasta ahora despojado de ácido nucleico. En segundo lugar, las prionopatías constituyen el único ejemplo de enfermedades que pueden ser genéticas, esporádicas o adquiridas/infecciosas. Tercero, las prionopatías son consecuencia del cambio conformacional de una proteína fisiológica cuya función aún está por esclarecer. Como cuarta propiedad, destacar que en función de las variaciones de PrPsc se puede originar una gran variedad fenotípica en lo que a patología priónica se refiere (12). A su vez, los avances inagotables de la biomedicina de las últimas décadas han prolongado la esperanza de vida hasta una media que ronda e incluso supera los 80 años en muchos países del primer mundo. Este hecho ha conllevado un aumento de la prevalencia de las enfermedades neurodegenerativas, enfermedades que hoy en día carecen de tratamientos más allá de los enlentecedores de enfermedad o los paliativos (3).

Son muchas las patologías neurodegenerativas, entre las que destacan el AD, el PD, la Demencia frontotemporal (FTD), Demencia por Cuerpos de Lewy (LBD), ELA...etc., todas ellas de gran variedad de presentación clínica pero de mecanismo patogénico común: la nucleación basada en “semillas” (“*seeds*”) de sus proteínas patológicas características. Dicho modelo se ha desarrollado empleando como patrón canónico el paradigma replicativo priónico de Prusiner, Jucker, Walker Guo, Lee *et al.*, 2013. (3) Asimismo, nos encaminamos a una era en la que la concomitancia y asociación de varias enfermedades neurodegenerativas en el mismo individuo será perfectamente plausible, basándose en el modelo ya mentado y convirtiéndose más en norma que en excepción. Es por ello, que una extensa amalgama de estudios se está llevando a cabo sobre diversas variables consecuentes de la concomitancia de

patologías neurodegenerativas, por ejemplo, sobre la existencia o no de sinergismos y aceleraciones de la patogenia, sobre transmisibilidad interespecie e intraespecie (la supuesta infectividad de las enfermedades neurodegenerativas está bajo estudio aunque de momento ha sido rechazada como norma general) e incluso sobre la influencia de la asociación de patología neurodegenerativa en la supervivencia (34), éste último, uno de los objetivos de nuestro trabajo. Por ende, es evidente que los investigadores no deberán concluir los procesos diagnósticos tras el hallazgo de la prionopatía, sino que deberán profundizar en la investigación de una probable patología neurodegenerativa primaria asociada. (37).

El trabajo presentado ha demostrado que en nuestra muestra la patología neurodegenerativa asociada a una prionopatía alarga el intervalo de enfermedad o la supervivencia de forma estadísticamente significativa en unos 5 meses de media. La AD fue enfermedad neurodegenerativa más frecuentemente asociada a la prionopatía en nuestra muestra, hecho que concuerda con la literatura existente (37). Este resultado va en concordancia con los primeros postulados de Ellen Gelpi y sus colaboradores, que de forma muy tangencial apuntan a que puede haber una relación positiva entre la concomitancia y una supervivencia mayor en los casos de prionopatías (34). El estudio en profundidad de este hallazgo, tan novedoso que apenas hay bibliografía consistente redactada sobre el mismo, conllevaría un subsiguiente mayor entendimiento de la patogenia y la expansión de estas enfermedades, y en consecuencia proporcionaría la posibilidad de descubrir nuevas dianas terapéuticas para unas enfermedades tan fatales como invalidantes a día de hoy. Existen algunos autores como la mencionada Ellen Gelpi que afirman que la relación positiva entre la copatología y una mayor supervivencia en las patologías priónicas es debida a una interacción proteica que dificulta o ralentiza la propagación de la proteína priónica, pero no hay gran volumen de estudios relevantes que amparen dichas afirmaciones. Otros autores, como Graner (35) o Chen (36) atribuyen este aumento de la supervivencia a la capacidad de la proteína priónica de provocar neuritogénesis (proliferación de neuritas), aumentando las conexiones neuronales y la plasticidad neuronal, enlenteciendo el progreso de la prionopatía y su consiguiente patogénesis. Nuestro trabajo no prueba de forma fehaciente ninguna de esas hipótesis, pero sí que demuestra de forma meridiana el aumento de la supervivencia

en casos de copatología neurodegenerativa asociada a prionopatía y la menor duración de enfermedad en casos del histotipo MM1 de sCJD. Además, la interrelación de patologías neurodegenerativas podría dar a luz a estrategias terapéuticas combinadas que retrasen el avance de las mismas. (13).

Hemos demostrado una menor supervivencia (de unos 4 meses de media) de forma estadísticamente significativa para los casos de sCJD con histotipo priónico MM1, hecho ya descrito por el grupo de Parchi *et al.* (22). La utilidad práctica de este resultado podría conllevar, al igual que la descripción de la correlación clínico-patológica ya mencionada de la asociación de patología neurodegenerativa concomitante, a una mejor estratificación de los pacientes afectados de prionopatía, con el objetivo final de optimizar el rendimiento de nuestras estrategias terapéuticas e incluso modular las mismas, en función de factores bioquímicos, histológicos y propios del paciente que influyan en el pronóstico.

Este largo elenco circunstancial hace de nuestro trabajo algo novedoso y apenas poseedor de precedentes, lo cual le añade valor. Se trata de un trabajo que quiere contribuir al desarrollo posterior de teorías que puedan ser fructíferas en el ámbito no ya sólo de las prionopatías, mortales por necesidad a día de hoy, sino también del campo de la neurodegeneración, que constituirá probablemente el caballo de batalla de lo que resta de siglo XXI, dado el alargamiento de la esperanza de vida.

6. CONCLUSIÓN.

En este trabajo se ha observado que la patología neurodegenerativa primaria concomitante a casos de sCJD muestra una clara influencia en el alargamiento de la supervivencia o de la duración de la enfermedad de forma estadísticamente significativa.

Asimismo, se ha demostrado que los diferentes histotipos de enfermedad priónica en la sCJD poseen diferentes intervalos de enfermedad, siendo el histotipo MM1 el de menor supervivencia de forma estadísticamente significativa respecto al resto de histotipos priónicos de la clasificación de Parchi.

Por último, mediante la revisión sistemática de la temática priónica, se ha pretendido establecer una actualización así como un análisis crítico con el fin de esclarecer los mecanismos de propagación y replicación priónica, así como su patogenia, con el claro y firme objetivo final de desarrollar métodos terapéuticos para unas enfermedades de rápida progresión e infausto pronóstico, que suponen un auténtico reto para el conocimiento bioquímico, biológico, epidemiológico, genético y médico del ser humano.

7- BIBLIOGRAFÍA.

1. Nelson DL, Cox MM. Lehninger: Principios de Bioquímica. 5ª ed. Omega: Barcelona; 2009.
2. Genome.gov (Internet). Bethesda, MD. National Human Genome Research Institute. Actualizado 25 Ene 2017, citado 12 Feb 2017. Disponible en: <https://www.genome.gov/>
3. Walker LC, Jucker M. Neurodegenerative diseases: expanding the prion concept. Annual review of neuroscience. 2015 Jul 08; 38:87-103. PubMed PMID: 25840008. Pubmed Central PMCID: 4803040.
4. Prusiner SB. Prions. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America. 1998 Nov 10; 95(23):13363-83. PubMed PMID: 9811807. Pubmed Central PMCID: 33918.
5. Aguzzi A, Weissmann C. Prion research: the next frontiers. Nature. 1997 Oct 23; 389(6653):795-8. PubMed PMID: 9349807.
6. Aguzzi A, Polymenidou M. Mammalian prion biology: one century of evolving concepts. Cell. 2004 Jan 23; 116(2):313-27. PubMed PMID: 14744440.
7. Aguzzi A, Calella AM. Prions: protein aggregation and infectious diseases. Physiological reviews. 2009 Oct; 89(4):1105-52. PubMed PMID: 19789378.
8. Soto C. Transmissible proteins: expanding the prion heresy. Cell. 2012 May 25; 149(5):968-77. PubMed PMID: 22632966. Pubmed Central PMCID: 3367461.
9. Luo JJ, Dun J. Neurodegenerative disorders and Prionopathies. Neurol Neurophysiol 2013; 4:2.
10. Imran M, Mahmood S. An overview of human prion diseases. Virology journal. 2011 Dec 24; 8: 559. PubMed PMID: 22196171. Pubmed Central PMCID: 3296552.
11. Rubio González T, Verdecia Jarque M. Enfermedades priónicas. [Artículo en línea]. MEDISAN 2009; 13(1).Disponible en: http://bvs.sld.cu/revistas/san/vol13_1_09/san08109.htm. Consultado: 03-12-2016]
12. Prusiner SB. Shattuck lecture--neurodegenerative diseases and prions. The New England journal of medicine. 2001 May 17; 344(20):1516-26. PubMed PMID: 11357156.
13. Nygaard HB, Strittmatter SM. Cellular prion protein mediates the toxicity of beta-amyloid oligomers: implications for Alzheimer disease. Archives of neurology. 2009 Nov; 66(11):1325-8. PubMed PMID: 19901162. Pubmed Central PMCID: 2849161.

14. Huang WJ, Chen WW, Zhang X. Prions mediated neurodegenerative disorders. *European review for medical and pharmacological sciences*. 2015 Nov; 19 (21):4028-34. PubMed PMID: 26592824.
15. Morales R, Moreno-Gonzalez I, Soto C. Cross-seeding of misfolded proteins: implications for etiology and pathogenesis of protein misfolding diseases. *PLoS pathogens*. 2013 Sep; 9(9):e1003537. PubMed PMID: 24068917. Pubmed Central PMCID: 3777858.
16. Lee SJ, Lim HS, Masliah E, Lee HJ. Protein aggregate spreading in neurodegenerative diseases: problems and perspectives. *Neuroscience research*. 2011 Aug; 70(4):339-48. PubMed PMID: 21624403. Pubmed Central PMCID: 3912578.
17. Brundin P, Melki R, Kopito R. Prion-like transmission of protein aggregates in neurodegenerative diseases. *Nature reviews Molecular cell biology*. 2010 Apr; 11(4):301-7. PubMed PMID: 20308987. Pubmed Central PMCID: 2892479.
18. Cushman M, Johnson BS, King OD, Gitler AD, Shorter J. Prion-like disorders: blurring the divide between transmissibility and infectivity. *Journal of cell science*. 2010 Apr 15; 123 (Pt 8):1191-201. PubMed PMID: 20356930. Pubmed Central PMCID: 2848109.
19. Guo JL, Lee VM. Cell-to-cell transmission of pathogenic proteins in neurodegenerative diseases. *Nature medicine*. 2014 Feb; 20(2):130-8. PubMed PMID: 24504409. Pubmed Central PMCID: 4011661.
20. Collinge J, Clarke AR. A general model of prion strains and their pathogenicity. *Science*. 2007 Nov 09; 318 (5852):930-6. PubMed PMID: 17991853.
21. Jansen C, Parchi P, Capellari S, Ibrahim-Verbaas CA, Schuur M, Strammiello R, *et al*. Human prion diseases in the Netherlands (1998-2009): clinical, genetic and molecular aspects. *PloS one*. 2012; 7(4):e36333. PubMed PMID: 22558438. Pubmed Central PMCID: 3340342.
22. Parchi P, de Boni L, Saverioni D, Cohen ML, Ferrer I, Gambetti P, *et al*. Consensus classification of human prion disease histotypes allows reliable identification of molecular subtypes: an inter-rater study among surveillance centres in Europe and USA. *Acta neuropathologica*. 2012 Oct; 124 (4):517-29. PubMed PMID: 22744790. Pubmed Central PMCID: 3725314.
23. Variant Creutzfeldt-Jakob Disease in a Patient with Heterozygosity at PRNP Codon 129. *N Engl J Med*. 2017 Jan 19; 376 (3):292-294.
24. Brandel J-P. Transmissible Spongiform encephalopathies. *Orphanet Encyclopedia*. 2004 Dec.
25. Arranz-Martínez E, Trillo-Sánchez-Redondo G, Ruiz-García A, Ares-Blanco S. Prionopatías: las encefalopatías por priones. *Semergen*. 2010; 36 (8): 443-448.

26. World Health Organization. Global Surveillance, Diagnosis and Therapy of Human Transmissible Spongiform Encephalopathies: Report of a WHO Consultation. Geneva, Switzerland. 1998, 9-11 Feb.
27. Ortega-Cubero S, Pagola I, Luquin MR, Viteri C, Pastor P, Gallego Perez-Larraya J, *et al.* Clinical and neuroimaging characteristics of 14 patients with prionopathy: a descriptive study. *Neurologia*. 2015 Apr; 30 (3):144-52. PubMed PMID: 24581735.
28. Diack AB, Head MW, McCutcheon S, Boyle A, Knight R, Ironside JW, *et al.* Variant CJD. 18 years of research and surveillance. *Prion*. 2014;8 (4):286-95. PubMed PMID: 25495404. Pubmed Central PMCID: 4601215.
29. Gambetti P, Dong Z, Yuan J, Xiao X, Zheng M, Alshekhlee A, *et al.* A novel human disease with abnormal prion protein sensitive to protease. *Annals of neurology*. 2008 Jun; 63 (6):697-708. PubMed PMID: 18571782. Pubmed Central PMCID: 2767200.
30. Rodríguez-Martínez, A. B., Zarranz, J. J., Digón, A., Galdós L., Ibáñez, A., de Pancorbo, M. Estudio Genealógico del Insomnio Familiar Letal en el País Vasco. *Antropo*. 2007; 15, 41-47.
31. Morales R, Green KM, Soto C. Cross currents in protein misfolding disorders: interactions and therapy. *CNS & neurological disorders drug targets*. 2009 Nov; 8 (5):363-71. PubMed PMID: 19702573. Pubmed Central PMCID: 2804467.
32. Kovacs G. Current Concepts of Neurodegenerative diseases. *EMJ Neurol*. 2014; 1:78-86.
33. Fernández-Vega I, Ruiz-Ojeda J, Juste RA, Geijo M, Zarranz JJ, Sánchez Menoyo JL, Vicente-Etxenausia I, Mediavilla-García J, Guerra-Merino I. Coexistence of mixed phenotype Creutzfeldt-Jakob disease, Lewy body disease and argyrophilic grain disease plus histological features of possible Alzheimer's disease: a multi-protein disorder in an autopsy case. *Neuropathology*. 2015 Feb;35(1):56-63.
34. Grau-Rivera O, Gelpi E, Nos C, Gaig C, Ferrer I, Saiz A, *et al.* Clinicopathological Correlations and Concomitant Pathologies in Rapidly Progressive Dementia: A Brain Bank Series. *Neuro-degenerative diseases*. 2015; 15 (6):350-60. PubMed PMID: 26523804.
35. Graner E, Mercadante AF, Zanata SM, Forlenza OV, Cabral ALB, Veiga SS, *et al.* Cellular prion protein binds laminin and mediates neuritogenesis. *Molecular Brain Research*. 2000 3/10/; 76 (1):85-92.
36. Chen S, Mangé A, Dong L, Lehmann S, Schachner M. Prion protein as trans-interacting partner for neurons is involved in neurite outgrowth and neuronal survival. *Molecular and Cellular Neuroscience*. 2003 2//; 22(2):227-33.

37. Kovacs GG, Alafuzoff I, Al-Sarraj S, Arzberger T, Bogdanovic N, Capellari S, *et al.* Mixed brain pathologies in dementia: the BrainNet Europe consortium experience. *Dementia and geriatric cognitive disorders*. 2008; 26(4):343-50. PubMed PMID: 18849605.

8-ANEXOS.

8.1 ABSTRACT CONGRESO NACIONAL DE ANATOMÍA PATOLÓGICA (MAYO 2017).

TÍTULO: ESTUDIO DE LA PATOLOGÍA NEURODEGENERATIVA ASOCIADA A LAS ENFERMEDADES PRIÓNICAS: RELEVANCIA CLÍNICO-PATOLÓGICA Y REVISIÓN DE LA LITERATURA.

INTRODUCCION: Modelos establecidos sobre la neurodegeneración afirman que la proteinopatía subyacente en cada caso de enfermedad neurodegenerativa (Enfermedad de Alzheimer, Enfermedad por cuerpos de Lewy...) se propaga en el cerebro conforme lo hace un prion. Además, en dichos modelos experimentales se describe que la presencia de una proteinopatía facilitaría la agregación de otras proteínas de la neurodegeneración. La enfermedad de Creutzfeldt-Jakob (ECJ) es la prionopatía por excelencia, siendo la más frecuente de todas las enfermedades por priones.

MATERIAL: Estudio retrospectivo de 30 casos con ECJ confirmado con estudio neuropatológico durante el período 2010-2015 en el Banco de cerebros del País Vasco (nodo de Álava). Se analizaron mediante IHQ las principales proteínas implicadas en la neurodegeneración (Tau AT8, alfa- sinucleína, TDP43, y amiloide beta). Se revisaron también los principales datos clínicos.

RESULTADOS: La base de datos muestra una edad media de $70,5 \pm 8,5$ años, un intervalo de duración de la ECJ de $6,9 \pm 6,5$ meses, un peso del encéfalo de $1267,9 \pm 121,6$ gramos y un porcentaje del subtipo MM1 del 43,3%. De los 30 casos, 16 mostraron proteinopatía asociada (53,3%). Además, el 43,8% de los ECJ MM1 han mostrado proteinopatía asociada. Se ha observado una mayor supervivencia estadísticamente significativa para aquellos ECJ con proteinopatía asociada ($p=0,031$), con una supervivencia media de $9,2 \pm 1,9$ meses frente al grupo sin proteinopatía ($4,2 \pm 1,0$ meses). Además, se ha observado también una mayor

supervivencia estadísticamente significativa para aquellos ECJ de histotipo MM1 con proteinopatía asociada ($p=0,042$) con una supervivencia media de $8,7\pm 1,7$ meses frente al grupo ECJ MM1 sin proteinopatía ($4,5\pm 1,3$ meses).

CONCLUSIONES: La presencia de proteinopatía asociada a la ECJ muestra un incremento significativo de la supervivencia tanto de la ECJ como del subtipo MM1, independientemente del tipo o cantidad de proteína depositada.

AUTORES: José Javier Aguirre Anda, Aitzol Miguélez Rodríguez, Ikerne Vicente-Etxenausia, Isabel Guerra-Merino e Iván Fernández-Vega.

CENTRO: Servicio de Anatomía Patológica. Hospital Universitario de Araba. Sede Txagorritxu. Universidad del País Vasco. Hospital Universitario Central de Asturias. Biobanco Vasco para investigación (O+eHun).

TEMA: Neuropatología.

8.2 ABSTRACT CONGRESO EUROPEO DE ANATOMÍA PATOLÓGICA (SEPTIEMBRE 2017).

TITLE: STUDY OF NEURODEGENERATIVE PATHOLOGY ASSOCIATED WITH PRIONIC DISEASES: CLINICOPATHOLOGICAL RELEVANCE AND LITERATURE REVIEW.

INTRODUCTION: Established models on neurodegeneration state that the underlying proteinopathy in each case of neurodegenerative disease (Alzheimer's disease, Lewy Body Disease...) spreads in a prion-like way. In addition, in these experimental models it is described that the presence of a proteinopathy would facilitate the aggregation of other proteins of neurodegeneration. Creutzfeldt-Jakob disease (CJD) is the prionopathy par excellence, being the most frequent of all prion diseases.

MATERIAL: Retrospective study of 30 cases with confirmed CJD with neuropathological study during the period 2010-2015 in the Brain Bank of the Basque Country (Álava node). The major proteins implicated in neurodegeneration (Tau AT8, alpha-synuclein, TDP43, and beta amyloid) were analyzed by IHC. The main clinical data were also reviewed.

RESULTS: The database showed a mean age of 70.5 ± 8.5 years, an interval of duration of the CJD of 6.9 ± 6.5 months, a brain weight of 1267.9 ± 121.6 grams and a percentage of the MM1 subtype of 43.3%. Of the 30 cases, 16 showed associated proteinopathy (53.3%). In addition, 43.8% of MM1 CJDs have found associated proteinopathy. An statistically significant higher survival ($p = 0.031$) has been observed with an average survival of 9.2 ± 1.9 months compared to the non-proteinopathy associated group (4.2 ± 1.0 months). Furthermore, an statistically significant higher survival ($p = 0.042$) has been found in the cases of CJD MM1 histotypes with associated neurodegenerative proteinopathy, with an average survival of 8.7 ± 1.7 months compared to the CJD MM1 group without associated proteinopathy ($4.5 \pm 1, 3$ months).

CONCLUSIONS: The presence of CJD-associated proteinopathy shows a significant increase in survival for both the CJD cases and also specifically the MM1 histotype, regardless of the type or quantity of deposited protein.

AUTHORS: José Javier Aguirre Anda, Aitzol Miguélez Rodríguez, Ikerne Vicente-Etxenausia, Isabel Guerra-Merino and Iván Fernández-Vega.

CENTRE: Service of Pathological Anatomy. University Hospital of Araba. Txagorritxu headquarters. University of the Basque Country. Central University Hospital of Asturias. Basque Biobank for research (O + eHun).

BACKGROUND: Neuropathology.

8.3 CONTRIBUCIONES.

Este trabajo forma parte de un proyecto de investigación realizado por el Servicio de Anatomía Patológica del HUA, bajo la tutorización del Dr. Iván Fernández Vega y la dirección de la Dra. Isabel Guerra Merino y será expuesto en el **XVIII Congreso de la Sociedad Española de Anatomía Patológica (SEAP)**, que se celebrará en Valencia del 24 al 26 de Mayo de 2017 y en el 29th European Congress of Pathology de la European Society of Pathology, que se celebrará en Amsterdam del 2 al 6 de Septiembre de 2017.

8.4 MATERIAL COMPLEMENTARIO.

Resumen de casos

	Género	Edad(años)	Supervivencia (meses)	Patología asociada	Peso cerebral (g)	Histotipo
1	Masculino	80	27	LBD LIMBICO;AD II, A, 2; AGD II.	1230	MM2C
2	Femenino	80	22	SOLO TAU	1150	MM2C
3	Masculino	83	18	PSP, AGD III, AD I,B,1, ANGIOPATÍA AMILOIDE	1500	MM/MV1
4	Femenino	80	13	AD II,B,1	1200	MM/MV2C
5	Femenino	75	13		1290	VV2
6	Masculino	68	12		1300	MM2C
7	Masculino	60	11	ANGIOPATIA AMILOIDE I	1350	ATÍPICO
8	Femenino	65	10	AD II,A,1	900	MM2C
9	Masculino	63	10	AD III, C, 1; ANGIOPATIA AMILOIDE I Y II	1050	MM/MV1
10	Femenino	65	8	AD II,A,2.	1040	MM1
11	Masculino	67	8	SOLO TAU	1500	VV2
12	Masculino	60	7		1300	VV2
13	Masculino	70	5		1250	MM/MV2C.
14	Masculino	65	4		1350	VV2
15	Masculino	80	4	AD II,A,1	1300	MM/MV 2K+C
16	Femenino	76	3	AD II,C.	1250	MM1
17	Masculino	72	3	SOLO TAU	1200	MM1
18	Femenino	78	3		1300	MM/MV1
19	Masculino	77	3		1300	MM2C
20	Femenino	57	3		1330	MM/MV1.
21	Masculino	64	3	SOLO TAU	1250	VV1

22	Masculino	77	3	AD II,B,3, ANGIOPATIA AMILOIDE I	1450	MM1
23	Masculino	72	3		1290	MM/MV1.
24	Masculino	76	2		1268	MM/MV1+2C
25	Masculino	76	2	PSP	1250	MM1
26	Femenino	76	2	SOLO TAU	1300	MM/MV2C
27	Femenino	73	2		1290	MM/MV1+2C
28	Femenino	45	2		1250	MM/MV1.
29	Masculino	65	1		1300	MM/MV1
30	Masculino	69	1		1300	MM/MV1
