



**ANLIS**

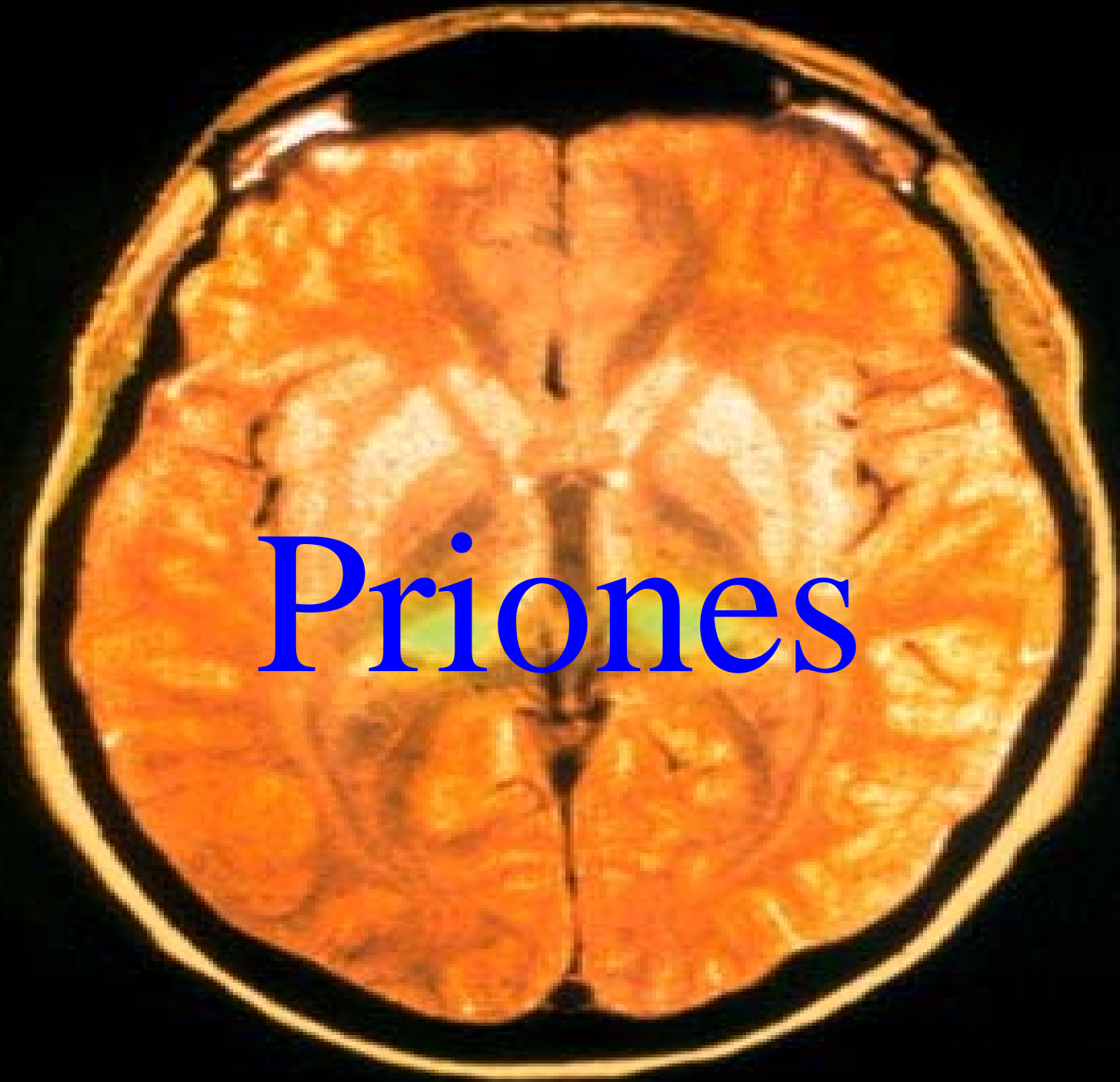
**Dr Carlos G. Malbrán**



# Priones

**Residencia del I.N.P.B**

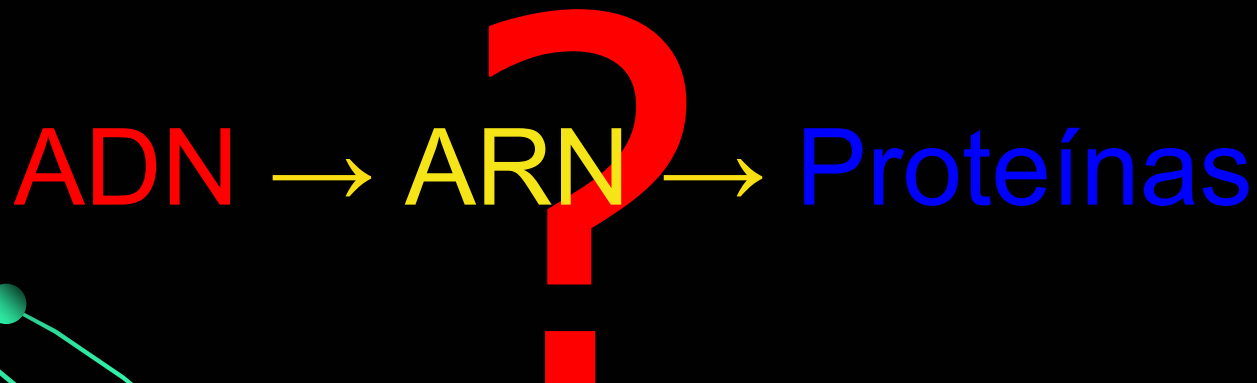
**Farmacéuticas: Stella Maris Albarenga, R 3 / año: 2008**  
**María Noel Puentes, R2 / año 2008**



# Priones

# “Dogma central de la biología”

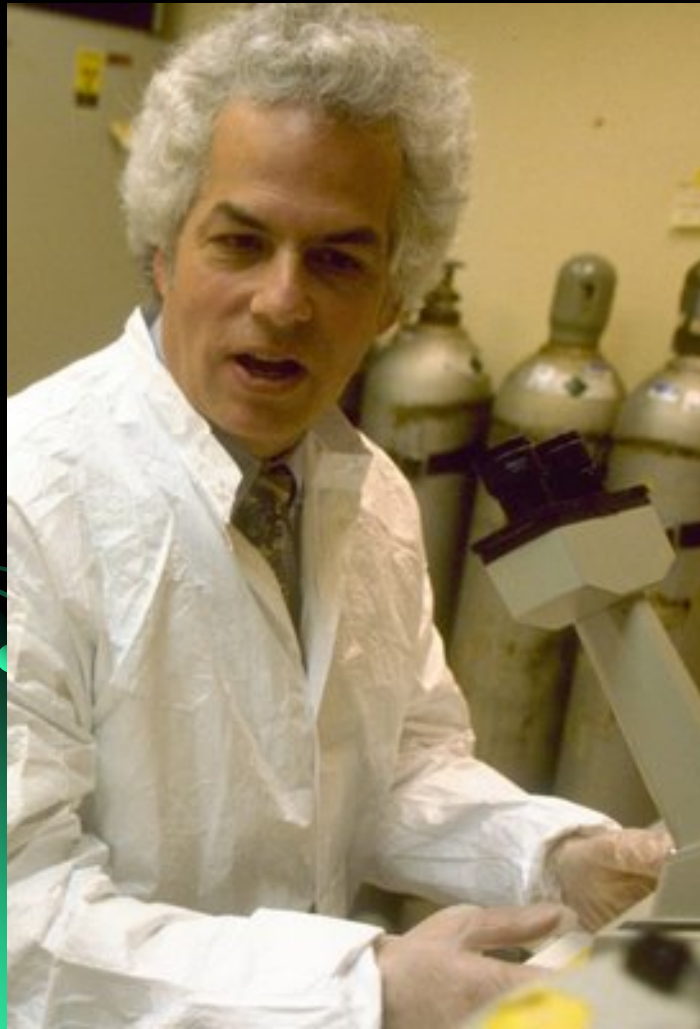
En la década del 50, Crick sintetizó la idea del flujo de información celular en lo que él llamó el “dogma central de la biología”:



1971: descubrimiento de los retrovirus (ej. HIV). Ese proceso ocurre en el sentido contrario al esquema de Crick.

1974: descubrimiento de la etiología de las enfermedades producidas por priones.

# STANLEY Prusiner



Químico y neurólogo ganador del premio Nobel de medicina en 1997 por su descubrimiento de la etiología de las enfermedades producidas por priones en 1982.

# Reseña histórica

**1700s:** primera descripción del **Scrapie**

**1966:** Gajdusek comprobó que los monos enfermaban de **Kuru** al ingerir tejido cerebral infectado

**1967:** Griffith postuló la **hipótesis** de que el BSE se debe a cambios conformacionales de proteínas

**1982:** Primer **aislamiento** de priones. Uso del **término prión** por primera vez.

**1985:** Aislamiento del **gen PrP** y **secuenciación** de las proteínas sanas y enfermas

**1989:** Prusiner descubrió una mutación del gen PrP en una víctima de GSS.

**1993:** Aguzzi observó que los ratones knockout para el gen PrP no se enferman al inyectarles priones

**1994:** obtención de **priones in vitro**

**1994:** Prusiner creó el **primer ratón transgénico** con mayor predisposición a contraer una patología espongiforme

**1995 en adelante:** Mucho más!!!!

# Postulados de Koch

Los postulados de Koch establecen las condiciones necesarias para demostrar la etiología infecciosa de una enfermedad. Estos postulados son los siguientes:

- El microorganismo debe poder ser aislado de las muestras provenientes de pacientes enfermos.
- Debe poder ser cultivado in vitro.
- Cuando un cultivo puro se inocula en una especie susceptible, debe producirse la enfermedad típica.
- El microorganismo debe poder ser nuevamente aislado del animal al cual se le administró.

# Prión

## Definición

Prión: "PRoteinaceous Infectious particle" (Prusiner, 1982).

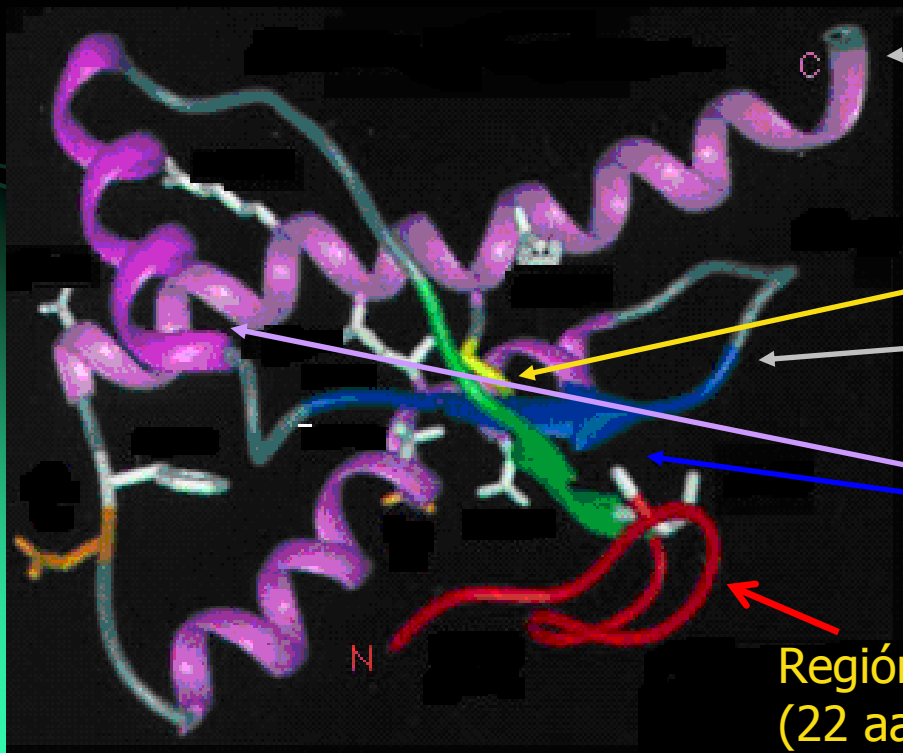
Es el agente infeccioso responsable de varias enfermedades neurodegenerativas encontradas en los mamíferos, formado por una proteína y **carente de genoma y ácidos nucleicos**

Las enfermedades por priones son todas producidas por la forma alterada de una proteína celular funcional (PrPC) que ha podido perder su función normal pero que ha adquirido la capacidad de transformar la forma normal en patológica.

# Proteína PrP<sub>c</sub> o el origen del prion

## Estructura

La cadena está formada por 250 aminoácidos. Tiene un puente disulfuro intracatenario y 2 residuos glicosilados. MUY RICA EN ALFA-HÉLICES.



Región C-terminal hidrofóbica (32 aa)

Puente disulfuro

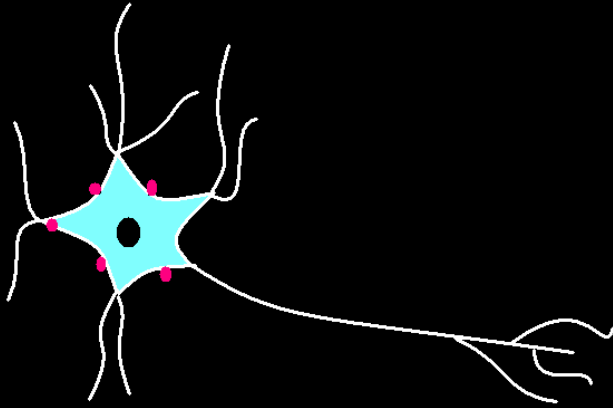
Serie de repeticiones de 1 octapéptido

4 segmentos altamente conservados: 3  $\alpha$ -hélices y 2 láminas  $\beta$   
Las hélices forman segmentos transmembrana

Región N-terminal (22 aa)

# PrP<sub>c</sub>

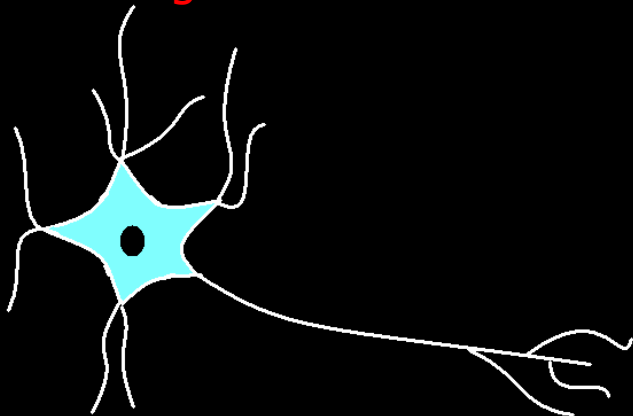
## Funciones



Los priones son proteínas observadas comúnmente en la superficie de las neuronas de todos los mamíferos estudiados.

Hasta las **70 semanas** de vida: **normales**.  
Luego: pérdida de coordinación, temblores al andar, incapacidad de mantener una trayectoria  
90 semanas, incapacidad de mantenerse y movimientos espasmódicos en sus patas traseras.

Ratones knockout del gen PRNP



Lesión cerebolosa con deficiencia de las neuronas de Purkinje.

Los niveles de las células de Purkinje eran normales en los ratones jóvenes; estas células podían sobrevivir cierto periodo de tiempo sin ayuda, pero morían al poco tiempo sin la presencia del producto del gen PrP.

# PrP<sub>c</sub>

## Funciones

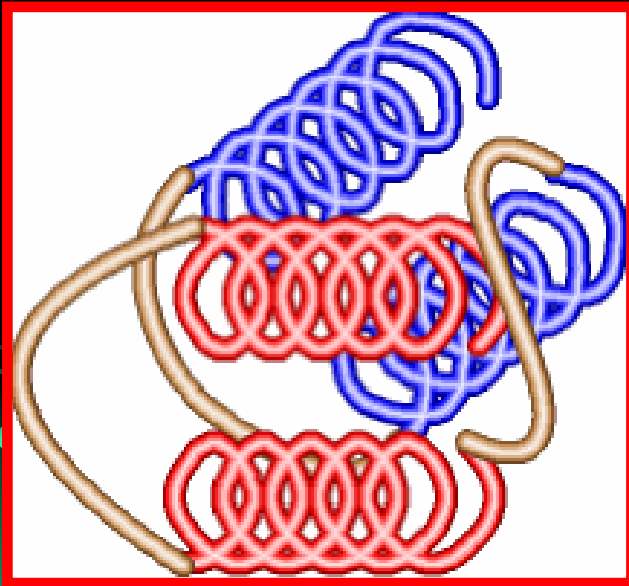
Se le podría atribuir un papel en la supervivencia de las neuronas de Purkinje en el cerebelo, aunque se desconoce el mecanismo.

Algunos mecanismos propuestos son:

- ❖ Al ser capaz de unir  $\text{Cu}^{2+}$  específicamente se le ha asignado un papel activo en la homeostasis de este catión implicado en procesos de oxido reducción.
- ❖ Superóxido dismutasa
- ❖ Proteína de transducción de señal
- ❖ Adhesión celular
- ❖ Regulación y distribución de los receptores de acetilcolina

# Prión

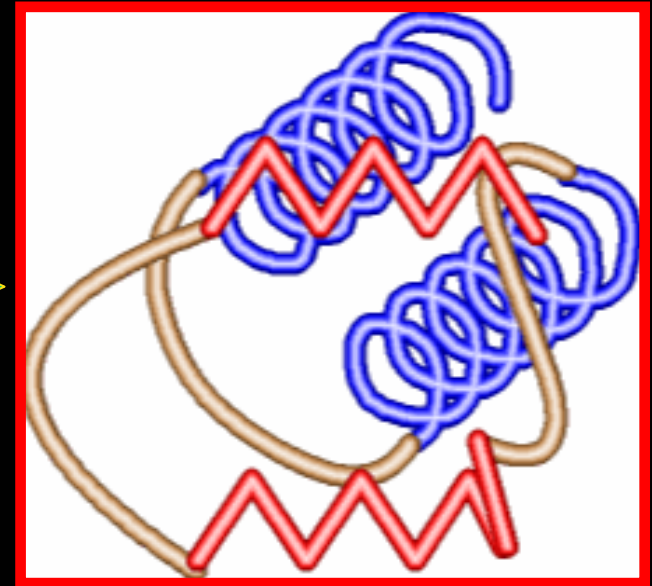
La proteína PrP<sup>c</sup> cambia de conformación



42% Hélice  
3% Lámina



Cambio  
conformacional  
en 106 - 126



30% Hélice  
43% Lámina

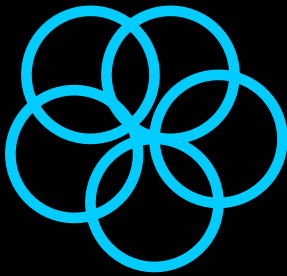
# PrP<sub>c</sub> vs prP<sub>sc</sub>

	PrP <sub>c</sub>	PrP <sub>sc</sub>	PrP <sub>sc</sub> tratada con proteinasa K
PM	33-35 KDa	33-35 KDa	27-30 KDa
Localización	Membrana	Se acumula en citoplasma y se agrega.	Placas extracelulares
Degradación por proteasas	Normal	Proteólisis limitada	Es infecciosa y resistente a proteasas

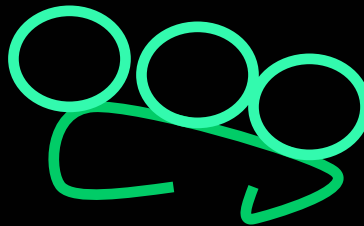
# Patogénesis

## Multiplicación

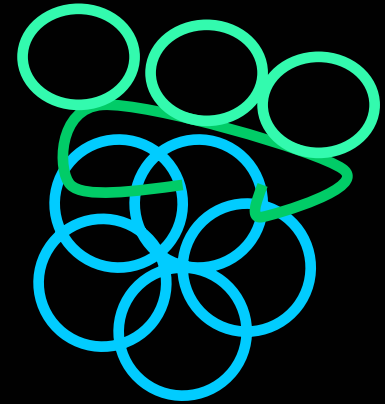
Proteína normal



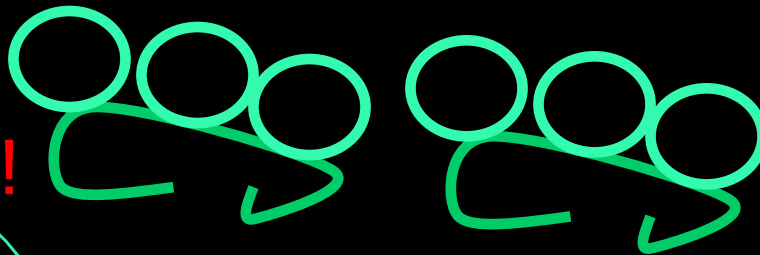
Prión



Prión infectando



2 priones



**DESARROLLO  
EXPONENCIAL!**

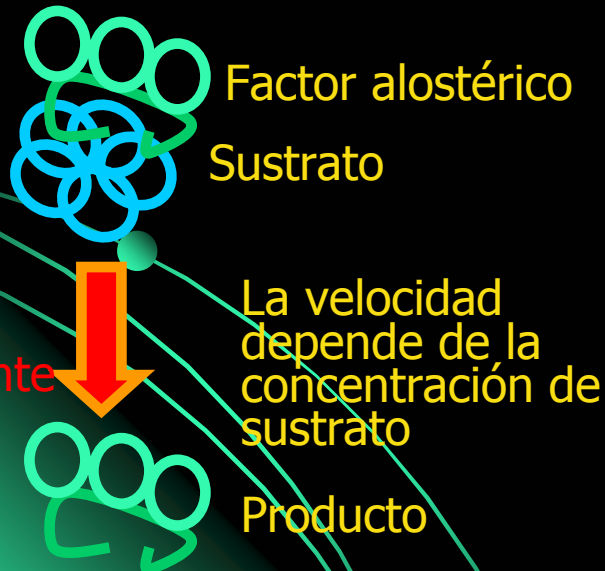


Los residuos **90-141** de PrP son suficientes para iniciar o bloquear la transformación de PrPc, probablemente porque constituyen el principal sitio de interacción durante el proceso de conversión. Posteriormente, se identificó un segundo dominio entre los residuos 180-205 que parecen modular la interacción entre PrPc y PrPSc.

# Patogénesis

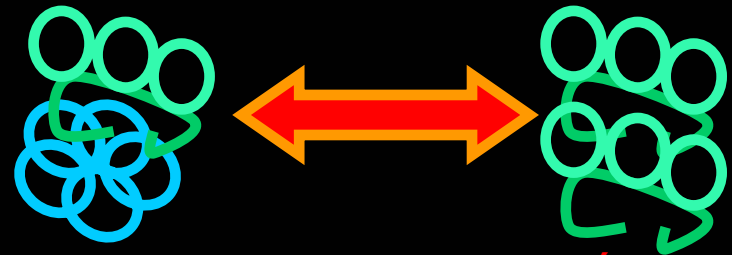
## Modelos de autopropagación

Modelo de desnaturalización-renaturalización catalizada (Prusiner et al. 1996).



una PrPc de distinta especie será un análogo de sustrato y, por tanto, puede retrasar la conversión

Modelo de polimerización nucleada por condensación no covalente (Kocisko et al. 1995).



equilibrio de asociación




Estabilización de la isoforma patológica por la formación de un núcleo que, una vez constituido crece por adición. La formación del núcleo sería la etapa lenta del proceso.

# Prión

## Propiedades

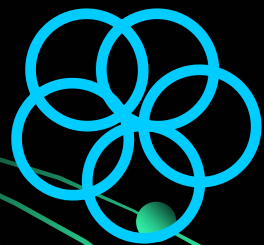
Propiedades físicoquímicas	Propiedades biológicas
<p>Filtrable con poros de 25 nm</p> <p>Es invisible al microscopio óptico y electrónico.</p> <p>Resistente a:</p> <ul style="list-style-type: none"><li>Formaldehido</li><li>EDTA</li><li>Proteasas ( Tripsina, pepsina ), aunque reducen la infectividad</li><li>Nucleasas ( ribonucleasas A y III, desoxiribonucleasa I )</li><li>Radiación ultravioleta ( 2540 Å )</li><li>Radiación ionizante</li></ul>	<p>Largo periodo de incubación ( meses, años, décadas).</p> <p>No producen respuesta inflamatoria</p> <p>No antigénicos.</p> <p>Patología crónica progresiva.</p> <p>Fatal en todos los casos.</p> <p>Carecen de cuerpos de inclusión.</p> <p>Pueden existir en múltiples formas moleculares</p> <p>Periodo de adaptación a nuevos hospedadores.</p> <p>Control genético de la susceptibilidad de algunas especies.</p> <p>Existencia de distintas cepas.</p>

# Transmisión

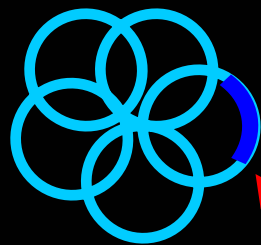
- Hereditaria
  - Infectocontagiosa
  - Espontánea
- 

# Transmisión HEREDITARIA

- o 15% de todos los casos de enfermedades por priones
- o Herencia autosómica y dominante
- o La mutación es responsable de una **mayor susceptibilidad** a la enfermedad



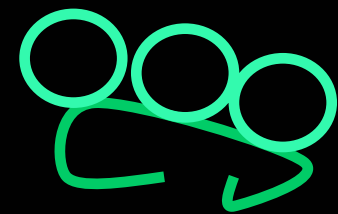
PrP normal



PrP mutada  
(1 aa)

Esponáneamente

Mutación

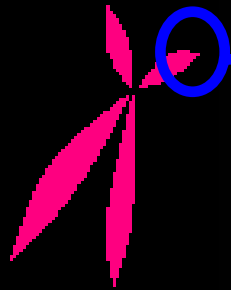


Prión

Según la mutación, se dan unos síntomas u otros. En general la mutación más crítica es el reemplazo de la valina por otro aminoácido.

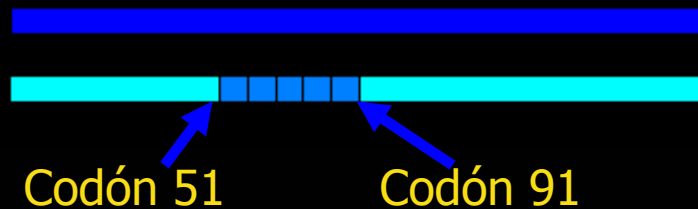
# Gen PrP

Cromosoma 20



Gen PRNP

Único exón



Codón 51

Codón 91

La aparición de mutaciones puede ser espontánea

Inserciones adicionales de octarepeticiones: ECJ familiar

Mutaciones puntuales: otras enfermedades familiares por prion

La expresión del gen es constitutiva en tejidos neuronales y no neuronales de animales adultos, aunque es más importante en neuronas. Durante el desarrollo su expresión está altamente regulada. Los mayores niveles de PrPC se detectan en cerebro, especialmente en hipocampo.

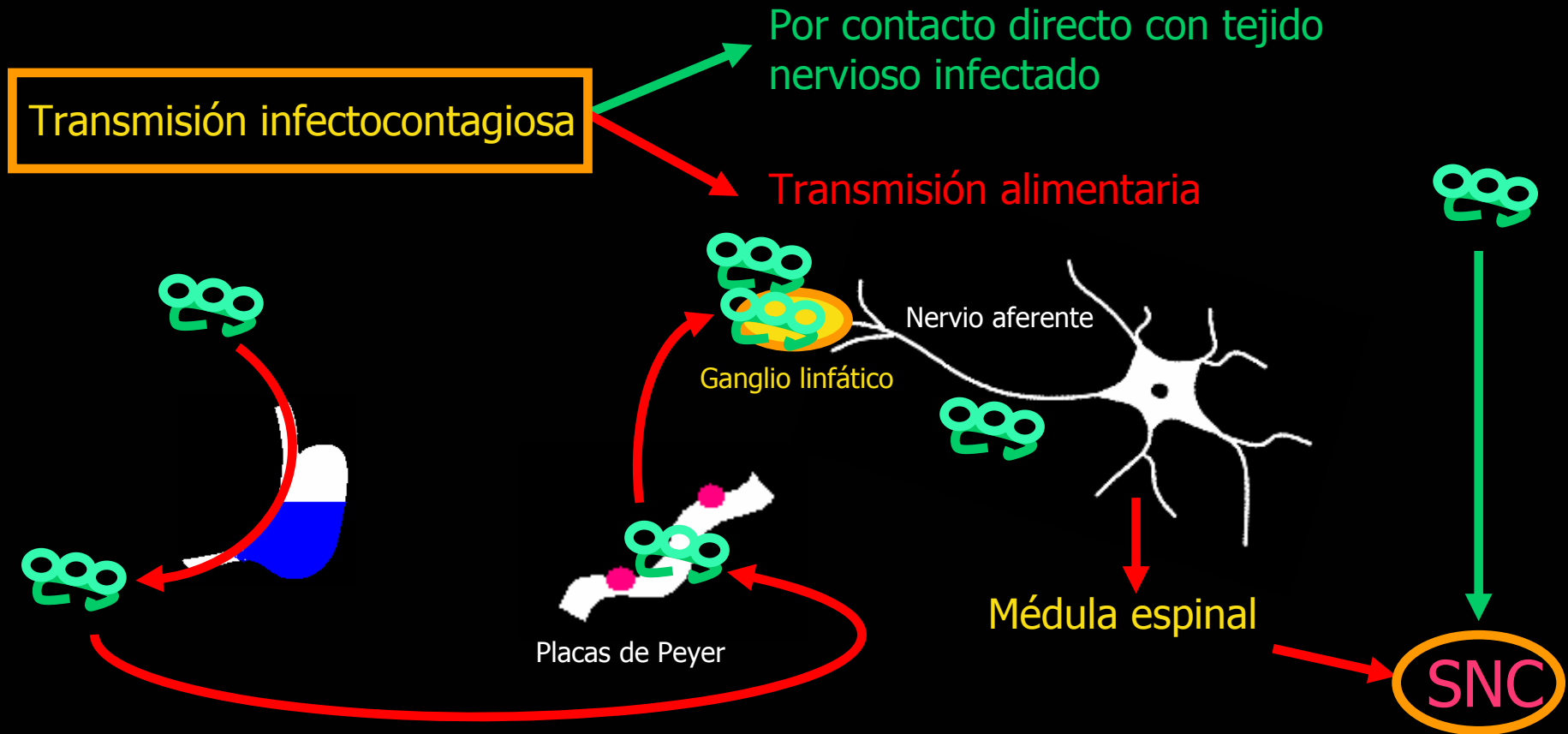
Existen argumentos suficientes para pensar en la existencia de genes PrP anteriores a la especiación de mamíferos.

# Prión

## Rol como agente infeccioso

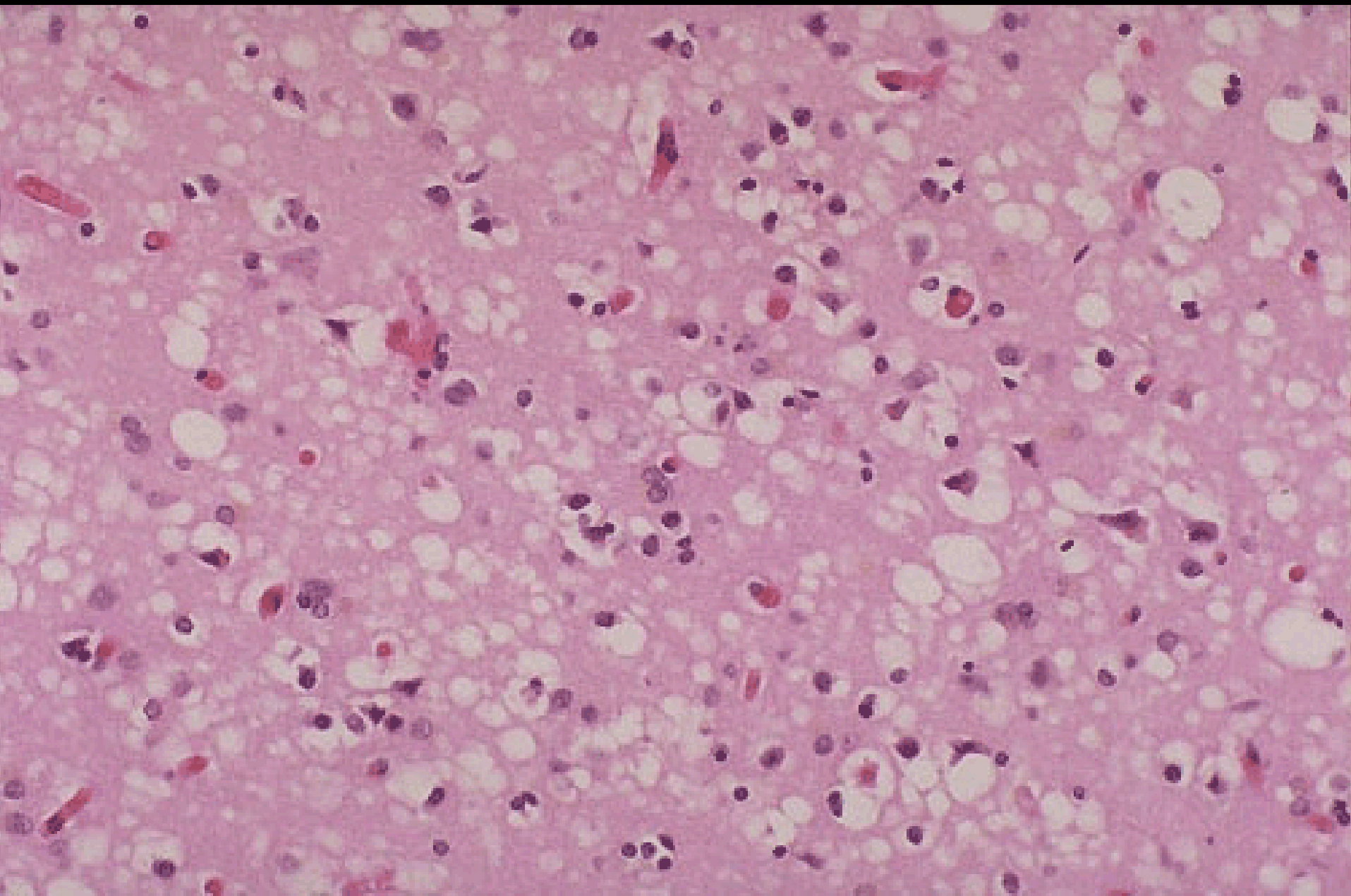
Comprende:

- La aparición de la partícula infecciosa en el huésped.
- El desarrollo de la enfermedad o proliferación del patógeno.



# ENCEFALOPATIAS ESPONGIFORMES TRANSMISIBLES

- ❑ Son enfermedades de humanos y animales que afectan primariamente el SNC
- ❑ No es una respuesta inmune
- ❑ Agentes causales tienen propiedades inusuales
- ❑ Presencia de vacuolización microscópica del tejido cerebral y del depósito de una isoforma anormal, resistente a las proteasas, de una glicoproteína de membrana denominada proteína priónica.



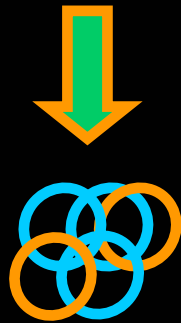
# Enfermedades por priones en animales

Enfermedad	Huésped natural	Prion
Scrapie	Ovejas y cabras	Scrapie
Prionencefalopatía transmisible del visón (TME)	Visón	prion TME
Chronic wasting disease (CWD)	Mulos, ciervos y Alces	prion CWD
Encefalopatía espongiforme de los bovinos (BSE)	Vacas	prion BSE
Encefalopatía espongiforme de los felinos (FSE)	Gatos	prion FSE
Encefalopatía de los ungulados Exóticos (EUE)	Nyala y el gran Kudu	prion EUE

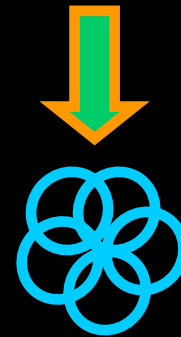
# La barrera de las especies

Los genes PRNP son diferentes según las especies

VACUNO



HUMANO



La transmisión interespecífica de una enfermedad prion depende de que el prion patógeno del donante sea suficientemente similar a la proteína prion huésped como para poder unirse a ella e inducirle el plegamiento. El grado de compatibilidad de ambas proteínas determina el tiempo de incubación de la enfermedad (meses, años, décadas). Como mejor se transmite la enfermedad (menor tiempo de incubación), es entre animales de la misma especie.

# Enfermedades por priones Humanas

## Esporádicas

- ❖ Enfermedad de Creutzfeldt Jakob
  - ❖ Clásica
  - ❖ Algunas de sus variantes

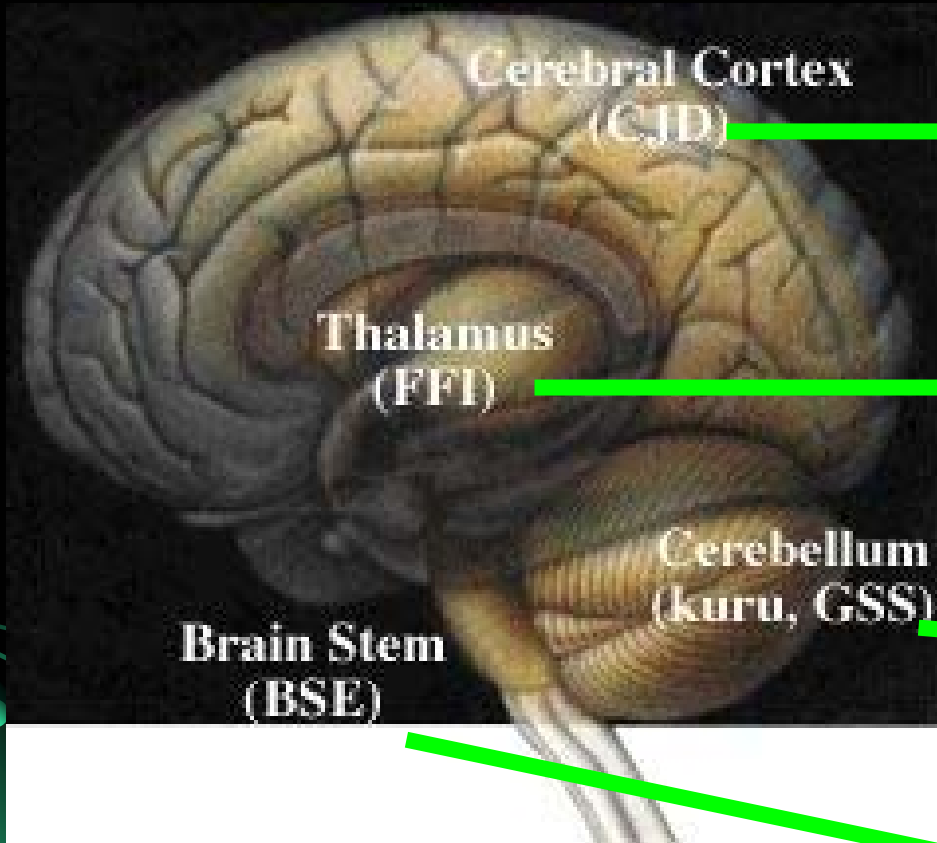
## Adquiridas

- ❖ Kuru (canibalismo)
- ❖ Enfermedad de Creutzfeldt Jakob yatrogénica
- ❖ Nueva variante británica ?

## Familiares

- ❖ Enfermedad de Creutzfeldt Jakob familiar
- ❖ Síndrome de Gerstmann – Straussler – Schneiker
- ❖ Insomnio familiar fatal
- ❖ Atípicas (mutaciones)

# Variaciones clínicas



Pérdida de memoria y agudeza mental, y a veces compromiso visual

Resulta en insomnio

Problemas con coordinación y la marcha

Comprometido en bovinos

La clínica depende de cuáles son las áreas afectadas. La PRPc es en todos los casos el origen del prion.

# Enfermedades humanas

<b>ECJ</b>	<b>Kuru</b>	<b>IFF</b>	<b>GSS</b>
Corteza cerebral	Cerebelo	Algunos núcleos talámicos	Cerebelo y corteza cerebral
1 en 1.000.000	Según alimentación	?	1 en 50.000.000
60 – 70 años con variaciones	5 – 60 años	30 – 60 años	35 – 55 años
1 año	0,5 - 1 año	7 – 25 meses	2 – 10 años
Demencia, mutismo, mioclonias	Ataxia, temblores	Insomnio, alucinaciones, disautonomía	Ataxia y demencia
Familiar, espontánea, yatrogénica	Canibalismo	Familiar	Familiar

# ECJ

## variantes

Existen 4 variantes principales:

- **Esporádica:** cuando el paciente no presenta factores de riesgo conocidos, y es la más común (85% de los casos). Etiologías posibles: mutación somática, conversión espontánea a PrPsc, infección exógena.
- **Hereditaria o familiar:** con historia familiar o mutación génica confirmada. Son del 5 al 10 % de los casos.
- **Adquirida o iatrogénica:** transmitida por exposición a tejido nervioso infectado, usualmente por prácticas terapéuticas. Son alrededor del 1% de los casos.

No hay diferencias clínicas entre esas 3 formas

- **"Variantes muy raras"**

- Nueva variante: se dio en Gran Bretaña y Francia desde la década de los 90'.

- Japonesa o panencefálica: se diferencia de las demás en que su curso es más lento, y puede durar varios años.

# ECJ iatrogénica

- ❖ Transplante corneal
- ❖ Uso de duramadre cadavérica
- ❖ Electrodo de EEG estereotáxico
- ❖ Hormona de crecimiento. (1963 -1985)
- ❖ Gonadotrofinas
- ❖ Neurocirugía
- ❖ No se ha notificado transmisión por sangre y derivados, aunque el riesgo existe.

# Diagnóstico

1

**Clínica:** cuando se sospecha a causa de un rápido deterioro neurológico se trata de descartar otras enfermedades, empezando por las tratables. Exámenes complementarios: punción lumbar, EEG, TAC, RMN.



No deben existir alteraciones metabólicas, lesiones estructurales cerebrales, infecciones ni tumores que puedan ser responsables de la encefalopatía y el deterioro mental.

2

El diagnóstico definitivo depende del **examen anatomopatológico** directo del tejido cerebral. No se recomienda una biopsia por consideraciones éticas.

3

Métodos confirmatorios

Tinción histoquímica con anticuerpos contra la PrPSc

Enzimoimmunoensayo - WB

Ambos con  
proteínasa K

Detección de la proteína 14-3-3 o la S100

También es importante la exploración de mutaciones en el gen PRP. Hasta hoy, las mutaciones conocidas tienen una penetrancia incompleta y, por tanto, la manifestación en portadores asintomáticos es incierta.

# Prevención

Debe evitarse la transmisión por las vías conocidas: alimentaria y yatrogénica.

## Vía alimentaria

Cumplimiento de buenas prácticas de ganadería, lo cual incluye:

- o Adecuada alimentación, sin derivados de tejidos de origen animal.
- o Inmunoensayos para PrPSc en muestras cerebrales del ganado, pueden darnos una aproximación de cuanta incidencia de BSE de ganado está entrando en la cadena alimenticia humana.
- o Cría de animales que no sean capaces de replicar los priones.

# Vía yatrogénica

- o Para reducir el riesgo ya bajo de transmisión entre personas de la ECJ, debe evitarse que personas que sospechen o hayan confirmado que tienen la enfermedad donen tejidos, sangre u otros órganos. Debe tomarse la misma precaución para los que posean factores de riesgo, como un implante de duramadre o historia familiar asociada a enfermedades por priones.
- o Los procedimientos habituales de esterilización no eliminan los priones. El personal de la salud debe seguir los siguientes procedimientos, muchos de los cuales son habituales:
  - o Lavarse las manos antes de comer, fumar o aplicarse cosméticos.
  - o Cubrir sus heridas con materiales a prueba de agua
  - o Usar guantes de latex para entrar en contacto con tejidos o fluidos de pacientes.
  - o Protegerse de heridas cortopunzantes con material infectado.
  - o Usar elementos de protección para cara cuando hay riesgo de salpicaduras
  - o El instrumental no descartable usado en neurocirugías debe descontaminarse durante una hora en hipoclorito de sodio, y luego autoclavarse por lo menos durante una hora a 134°C y 3 atm.

# RIESGO DE TRANSMISION

- ❖ No se transmite por contacto directo
- ❖ No se transmite por via aerea
- ❖ No hay paso transplacentario

Esterilización normal no lo elimina

# Métodos de inactivación

## Físicos

### No

- ❖ Esterilización convencional por vapor a 121°C
- ❖ Radiación ionizante
- ❖ Radiación UV
- ❖ Radiación gamma
- ❖ Calor seco hasta 360°C 60 minutos

### Si

- ❖ Autoclave >134 °C, 60 minutos a 3 ATM
- ❖ Ultrafiltración mediante sistemas de porosidad inferior a 7 nanómetros

# Métodos de inactivación

No químicos

Si

- ❖ Alcohol
- ❖ Óxido de etileno
- ❖ Formaldehído
- ❖ Glutaraldehído
- ❖ Peróxido de hidrógeno
- ❖ Yodo
- ❖ Amonios cuaternarios
- ❖ Permanganato potásico 2 mM
- ❖ Detergentes enzimáticos

- ❖ Hipoclorito sódico 2% (20°C, 1h.)
- ❖ Hidroxido sódico 2N media hora
- ❖ Fenol 90%
- ❖ Urea 6 M durante 1 hora
- ❖ Sulfododecilsulfato al 10% durante 10 minutos a 80°C

# Material de autopsias

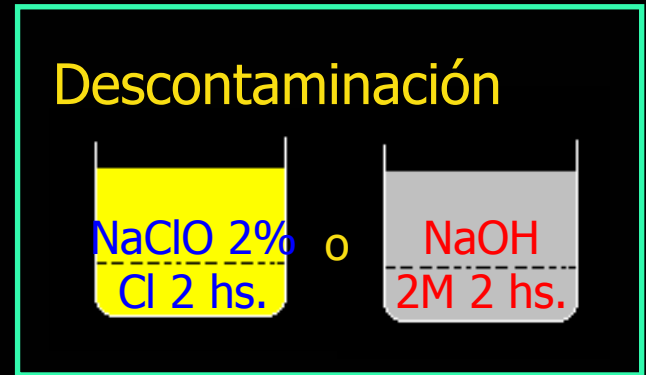
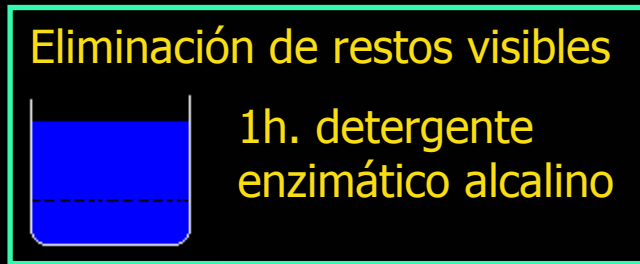
- Se deberá trabajar con la mayor cantidad de **material descartable** posible que luego será incinerado.
- Rodear la camilla, cabezal y el área de trabajo con planchas de plástico (polietileno).
- Los **equipos** que sean utilizados (por ej. sierra circular) deberán estar **cubiertos por una funda plástica** (polietileno) para evitar que salpicaduras de material lleguen a los aparatos, luego esa funda deberá ser incinerada.
- Es imprescindible **no dejar secar el instrumental utilizado** ya que, de haber priones, estos se fijan.  
El instrumental quirúrgico deberá ser de acero inoxidable ya que deberá soportar condiciones fisicoquímicas extremas

Cuando hay sospecha de una infección por priones, la misma debe ser informada al comité de infecciones, quirófano y a esterilización.

# Tratamiento de material infectivo



→ Limpieza →



↓ Enjuague ←

Esterilización



El detergente enzimático deberá ser tratado con 200 g de Hidróxido de Sodio durante 1 hora para la inactivación de los priones. No se podrá usar lavandina en este paso.

Para finalizar, los pisos, paredes y camilla del local donde se realizó la autopsia deberán ser embebidos con una solución de lavandina pura diluida a la mitad. Transcurrida 1 hora se podrá enjuagar. Los líquidos deben ser inactivados con Hidroxido de Na 2Normal, (a 5litros, 400gr) antes de enviar al descartador de líquidos biológicos.

# Servicios de riesgo

## Servicios Quirúrgicos:

En todos los procedimientos de riesgo demostrado y especialmente en los **Servicios de Neurocirugía, Maxilofacial, Otorrinolaringología y Oftalmología:**

## Servicios Médicos :

### **Neurología y Electrofisiología**

Electrodos cutáneos para EEG y soportes plásticos de electrodos deben ser esterilizados o eliminados.

Electrodos SC o IM para EMG o intracraneales deben ser destruidos.

## Obstetricia-Maternidad:

- Precauciones Universales para asistencia a **madres que hubieran recibido hormonas hipofisarias.**
- La placenta y membranas se tratarán como infectadas.

## Laboratorios de Virología:

- Nivel de **seguridad biológica 2**, como mínimo.

# Priones en la Argentina

Año	Definitivo	Probable	Posible	No Who Criteria	Excluido A/B/F.up	Ref. Anual
<b>1980-1996</b>	<b>22</b>	<b>--</b>	<b>--</b>	<b>--</b>	<b>--</b>	<b>22</b>
1997	7	2	3	0	3	15
1998	8	4	5	0	0	17
1999	8	5	4	1	3	21
2000	7	9	4	8	3	31
2001	8	3	16	9	9	45
2002	4	12	14	10	3	43
2003	8	10	5	8	4	35
2004	4	13	11	4	3	35
2005	11	13	17	14	12	67
2006	9	5	12	4	25	55
2007	11	18	8	23	23	83
Mar/2008	1	5	2	1	1	10
<b>TOTAL</b>	<b>108</b>	<b>99</b>	<b>101</b>	<b>82</b>	<b>89</b>	<b>479</b>

# tratamiento

- ❖ Actualmente no hay tratamiento que pueda curar o retardar la progresión de estas enfermedades.
- ❖ Se brinda cuidados paliativos para aumentar el confort de los pacientes (anticonvulsivantes, analgésicos, inductores del sueño, etc.)
- ❖ Existen diferentes terapias en experimentación

# LOONEY TUNES

*"That's all Folks!"*

A WARNER BROS. CARTOON

DIRECTED BY ROSS MACDONALD  
MUSIC BY WARNER BROS. MUSIC DEPARTMENT  
ALL RIGHTS AND CHARACTERISTICS RESERVED BY WARNER BROS.