



▣ [Tabla de contenidos](#)

▣ [Números anteriores](#)

▣ [Portada](#)

▣ [Comité editorial](#)

▣ [Contacto](#)

TecnoVet, Año 2 N° 2, agosto 1996

## ■ Encefalopatías espongiformes transmisibles: el caso de una proteína mortal

### AUTOR(ES)

Arias, José Luis, Dr. (M.V)

Laboratorio de Biología Celular, Departamento de Ciencias Biológicas Animales, Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias, Universidad de Chile.

### CITA

Arias, José Luis. Encefalopatías espongiformes transmisibles: el caso de una proteína mortal. TECNO VET; Año 2 N°2, agosto 1996

[http://www.tecnovet.uchile.cl/CDA/tecnovet\\_articulo/0,1409,SCID%253D9389%2526ISID%253D445,00.html](http://www.tecnovet.uchile.cl/CDA/tecnovet_articulo/0,1409,SCID%253D9389%2526ISID%253D445,00.html)

### Introducción

Un extraordinario revuelo han producido las medidas adoptadas por el gobierno Británico y la Comunidad Europea en cuanto a eliminar parte importante de la masa bovina con el propósito de prevenir un posible contagio de la población humana con el agente causal de la intratable y mortal enfermedad de Creutzfeldt-Jacob. ¿Pero que hay de cierto en todo esto?.

El llamado mal de las vacas locas o encefalopatía espongiforme bovina (BSE) forma parte del grupo de las encefalopatías espongiformes transmisibles. Además de ésta que afecta a los bovinos se cuenta el scrapie o prurito lumbar que afecta a los ovinos y caprinos, otras que afectan al felino, visón, ciervos y hurones, animales de zoológico, y al hombre (Tabla 1).

**TABLA N ° 1**  
**ENCEFALOPATIAS ESPONGIFORMES TRANSMISIBLES**

ABREVIATURA	ENFERMEDAD
•BES ..... =	Encefalopatía espongiforme bovina
•CWDD .. =	Enfermedad devastante del ciervo
•FSE . =	Encefalopatía espongiforme felina
•SCRAPIE .. =	Prurito lumbar ovino
•TME . =	Encefalopatía transmisible del visón
•ZSE .. =	Encefalopatía espongiforme zoológica
•AD .. =	Enfermedad de Alpers
•KURU .. =	Enfermedad Kuru de Papúa, Nueva
•CJD .. =	Enfermedad Creutzfeld-Jacob
•GSS .. =	Enfermedad Gerstmann-Straussler-Scheinker
•FFI ..; =	Insomnio familiar fatal

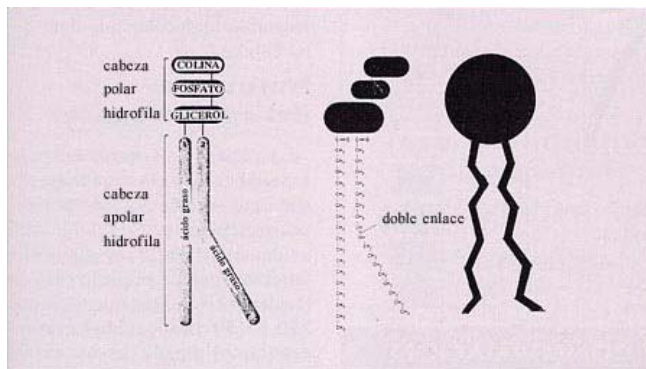
Todas estas enfermedades muestran similitudes en la manera que el daño se produce, en el modo de transmisión y en la naturaleza y propiedades del agente causal.

Los problemas mentales (en la especie humana), las incoordinaciones sensoriales y motoras, y finalmente la muerte sobreviene a una progresiva e intensa vesiculación de las células nerviosas, lo que observado al microscopio se visualiza como un tejido encefálico con lagunas o huecos a modo de esponja.

Mientras el scrapie o prurito lumbar es conocida como enfermedad hace más de 200 años, la enfermedad de Creutzfeldt-Jacob se describió por primera vez en 1920, la encefalopatía del visón en 1947, la de los ciervos en 1978, la bovina en 1986 y la del felino en 1990.

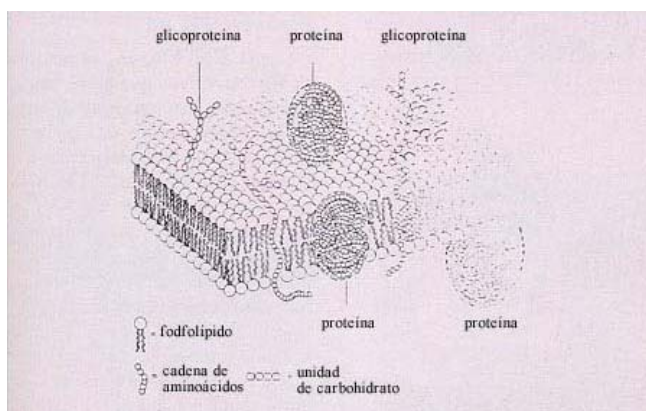
### Organización de la membrana plasmática

Las células poseen una membrana plasmática compuesta por lípidos y proteínas. En las células animales tales lípidos son mayoritariamente fosfolípidos y colesterol. Los fosfolípidos son ésteres de glicerol de naturaleza anfipática, esto es, presentan una región hidrofílica o polar y otra hidrofóbica o apolar (Fig. 1). La región polar está representada por un grupo fosfato unido a otros grupos químicos como la colina o serina, en tanto la región apolar está dada por dos cadenas hidrocarbonadas de ácidos grasos con grados variables de saturación.



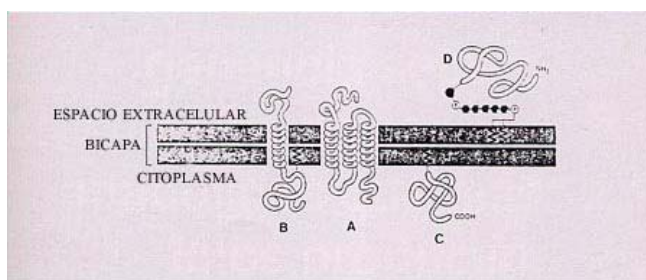
**Fig. 1** Fosfolípidos de membranas

En la membrana plasmática, los fosfolípidos constituyentes se organizan como una bicapa mostrando sus regiones polares hacia el interior y el exterior de la célula, mientras esconden sus regiones apolares formando el interior de la bicapa (Fig. 2).



**Fig. 2.** Estructura de la membrana plasmática

Asociadas, a esta bicapa se encuentran cantidades variables de proteínas. Esta asociación se presenta de variadas formas. Algunas proteínas, llamadas integrales, atraviesan la bicapa en todo su espesor, exponiendo sus aminoácidos hidrofílicos al medio acuoso extra e intracelular, y sus aminoácidos hidrofóbicos hacia las cadenas hidrocarbonadas de ácidos grasos al interior de la bicapa (Fig. 3A). Algunas de estas proteínas tienen su hidrofobicidad aumentada gracias a su unión covalente con una cadena de ácidos grasos que se localiza en la bicapa (Fig. 3B). Otras proteínas se encuentran realmente al interior del citosol, por debajo de la bicapa, pero se asocian con ésta mediante el establecimiento de uno o más enlaces covalentes con una cadena de ácidos grasos (Fig. 3C). Un tercer grupo de proteínas integrales se exponen hacia la superficie exterior de la célula mientras permanecen covalentemente unidas al hidrato de carbono de un glicofosfolípido como el glicosilfosfatidilinositol (Fig. 3D).



**Fig.3** Proteínas de membrana

Las proteínas presentan una estructura primaria constituida por una secuencia de aminoácidos unidos por enlaces peptídicos. Tal secuencia se encuentra codificada en el ADN, información que queda determinada por el proceso de transcripción en el ARN a manera de un triplete de bases nitrogenadas llamado codón. En el proceso de traducción, los distintos codones y su secuencia en el ARN determinará el aminoácido particular, la secuencia de ensamblaje y la terminación de la cadena polipeptídica que constituirá la proteína (Fig. 4).

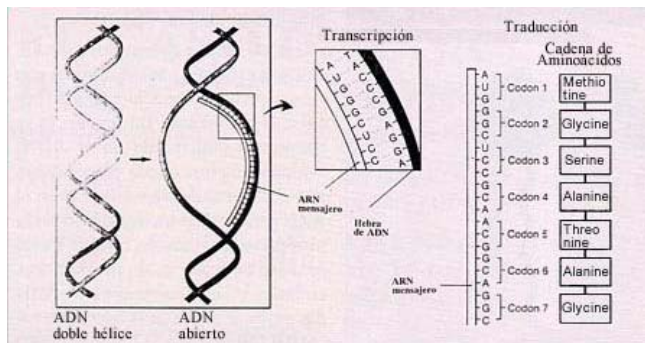


Fig. 4 Síntesis de proteínas

Sin embargo, dependiendo de la naturaleza de las cadenas laterales de los aminoácidos constitutivos, su posición en la secuencia y del medio en que se encuentran (medio acuoso), se establecen distintos tipos de enlaces secundarios a la secuencia peptídica lineal (ej.: enlaces disulfuro, puentes de hidrógeno, etc.), lo cual hace que la cadena polipeptídica se pliegue tridimensionalmente sobre sí misma. Aunque existen diversas formas de plegamiento o conformación, dos patrones estructurales están repetidamente presentes en las proteínas (Fig. 5). Estas son las llamadas estructuras en  $\alpha$  hélice o en hoja plegada  $\alpha$ . Ambas se estabilizan por puentes de hidrógeno que se establecen entre las cargas parciales de enlaces peptídicos cercanos. Mientras la estructura  $\alpha$  consiste en la torsión de la cadena en torno a un eje central de manera helicoidal, la estructura  $\beta$  consiste en el establecimiento de puentes de hidrógeno entre segmentos lineales de una misma cadena polipeptídica. De este modo en una misma proteína coexisten porciones no plegadas  $\beta$  regiones de estructuras  $\alpha$  y  $\beta$

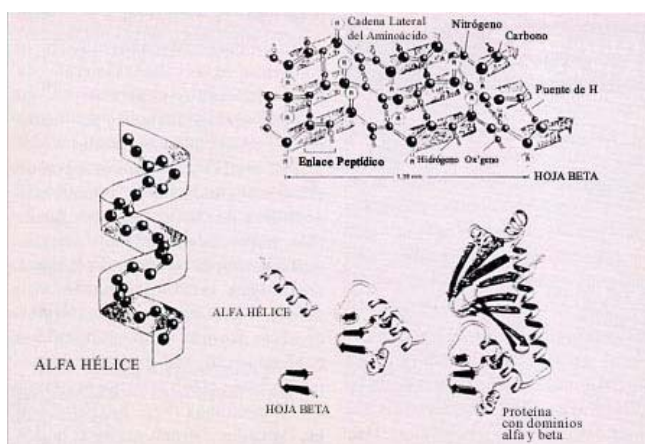


Fig. 5 Estructura y conformación de proteínas

Todas las proteínas de membrana, luego de ser sintetizadas y permanecer por algún tiempo en la membrana, son reincorporadas al interior de la célula y son digeridas (hidrolizadas) en los lisosomas como parte del mecanismo normal de recambio molecular que ocurre en las células.

**Naturaleza del agente causal**

En condiciones normales existe especialmente en la membrana plasmática de las neuronas de mamíferos una proteína integral, del tipo de las unidas a la bicapa por glicosilfosfatidilinositol, de pequeño peso molecular (33-35 kDa), que tiene entre 250 a 750 aminoácidos según la especie, llamada príon celular (PrPc). Esta proteína contiene un 42% de estructura  $\alpha$  y un 3% de  $\beta$ . Como cualquier proteína luego de algún tiempo este príon celular es reincorporado y digerido en los lisosomas (Fig. 6).

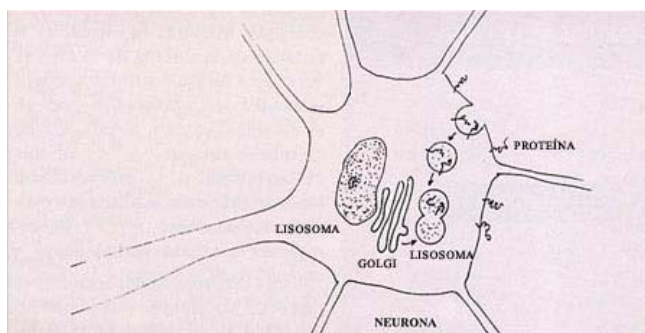


Fig. 6 Digestión lisosomal de proteínas de membranas

Por el contrario, en las neuronas de los individuos que presentan encefalopatías espongiformes transmisibles se encuentra una proteína, llamada príon anormal (PrPsc), de similar peso molecular (34 kDa), pero que contiene un 43% de estructura  $\beta$ . A diferencia del príon celular esta proteína anormal es resistente a la digestión enzimática lisosomal una vez reincorporada al interior de la célula. De esta manera la célula aumenta su presión oncótica lo que lleva a su vacuolización y posterior citolisis neuronal.

Aun más, este prión anormal es resistente a la digestión experimental con proteinasa K, una enzima bacteriana de potente actividad proteolítica. Así mismo el prión anormal resiste a soluciones de formol salino, al hipoclorito de sodio en dosis que normalmente digieren a la mayoría de otras proteínas, al etanol, a las microondas e incluso resiste el autoclave a 134-138<sup>0</sup>C.

Lo que resulta más notable y a la vez dramático es que si ponen en contacto priones celulares con priones anormales, éstos últimos son capaces de modificar la estructura secundaria de los primeros aumentando en estos el contenido de estructura B sin alterar la secuencia primaria de los aminoácidos que los constituyen.

De este modo parece haberse resuelto uno de los misterios más intrincantes que subyacían hasta hace poco tiempo acerca del mecanismo de "reproducción" del agente causal de estas encefalopatías. En efecto, la falta de un ácido nucleico directamente asociado al agente que diera cuenta de la necesaria información para la multiplicación de los pi-iones anormales ponía en tela de juicio el dogma central de la Biología Molecular, cual es la unidireccionalidad del proceso de traducción en la síntesis de proteínas.

Se puede afirmar entonces que la reproducción del prión anormal es un proceso aparente, siendo la transformación de priones celulares normales a su conformación anormal lo que da cuenta de su multiplicación.

De esta manera mientras la resistencia a su digestión proteolítica puede dar cuenta de su transmisibilidad y de sus efectos citopatológicos, la transformación impuesta por los priones anormales a la proteína prión celular da cuenta de su multiplicación.

### **Origen primigenio del prión anormal**

No cabe duda que el origen primigenio del prión anormal en las encefalopatías espongiformes humanas, del ovino y de algunos animales silvestres se debió a una mutación genética. Es así como un 10 a 15% de los casos de Creutzfeldt-Jacob son hereditarios. En la enfermedad hereditaria de GerstmannStraussler-Scheinker se han descrito más de 18 mutaciones puntuales para la proteína prión que tiene algo más de 750 aminoácidos. Una de ellas consiste en la sustitución del aminoácido leucina por prolina en el codón 102.

En ovinos de la raza Cheviot se ha detectado una mutación en el codón 136 en que se ha sustituido alanina por valina, teniendo los homocigotos de tal sustitución una sobrevida de 888 días contra 1482 días que sobreviven los heterocigotos. Por su parte en ovinos Suffolk se describe una mutación en el codón 171 por la que se sustituye una arginina por glutamina. En estos rebaños los homocigotos de glutamina presentan gran riesgo de padecer de scrapie, los heterocigotos menor riesgo y los homocigotos normales de arginina se muestran resistentes.

Tales mutaciones son suficientes para transformar la conformación del prión aumentando su composición en estructuras  $\beta$

### **Transmisibilidad intraespecífica**

Dada la resistencia de los priones anormales a su degradabilidad por agentes físicos o químicos, la transmisibilidad intraespecífica se verifica por dos mecanismos principales, a saber: a través de la cadena alimentaria o mediante un vector mecánico. Ejemplo del primer mecanismo lo constituye el Kuru, una encefalopatía transmisible frecuente entre aquellos miembros de algunas tribus antropófagas de Papúa Nueva Guinea, quienes consumían ritualmente la masa encefálica de sus difuntos. Otro tanto ocurre por las conductas de canibalismo entre los visones.

Transmisibilidad iatrogénica por vectores mecánicos ha sido descrita como causa de la aparición de casos no hereditarios de Creutzfeldt-Jacob. Así se ha transmitido esta enfermedad por trasplante de córnea, implantación de dura madre, y uso común de electrodos, instrumentos quirúrgicos o jeringas contaminadas con priones provenientes de individuos enfermos.

### **Transmisibilidad interespecífica**

Para que exista riesgo de enfermedad por transmisibilidad entre especies, es decir para traspasar la barrera específica, se deben satisfacer al menos dos condiciones: a) que el prión anormal de una especie efectivamente sea capaz de modificar la conformación del prión celular de otra especie, y b) que aquellos tejidos que contienen el prión anormal ingresen al individuo sano ya sea a través de un vector mecánico o por la cadena alimentaria y efectivamente alcancen el tejido blanco. Con respecto a la capacidad de modificación del prión celular por parte de uno anormal de otra especie resulta claro que ello depende del grado de homología, es decir de la semejanza en la secuencia de aminoácidos de estas proteínas en las diferentes especies. Es así como el prión de ratón difiere del prión de hamster en 16 aminoácidos de un total de 254. El prión de bovino difiere en 7 aminoácidos con el del ovino y con el humano en 30.

En condiciones experimentales no es fácil transmitir el prurito lumbar del ovino a ratones. Sin embargo, se han podido generar ratones transgénicos que expresan el gen del prión celular de hamster. Al inyectar estos ratones transgénicos con priones anormales de hamster o de ovinos, éstos enferman antes de dos meses por expresión de priones de hamster anormales. La proteína de ratón es más diferente de la ovina que de la de hamster y es por ello la susceptibilidad interespecífica.

Sólo algunas mutaciones de los priones causantes de las encefalopatías espongiformes humanas son reproducibles en otros primates. Para que éstas sean efectivas en reproducir la enfermedad entre primates la sustitución debe corresponder a aminoácidos situados dentro de los dominios helicoidales, donde su presencia influye la estabilidad de las  $\alpha$  hélices. Por otra parte, las encefalopatías humanas han podido reproducirse en ratones transgénicos que portan ya sea el gen de hamster o el humano.

### **Vías de transmisión experimental o natural**

Experimentalmente la transmisión se hace por inyección intracerebral de priones purificados o tejido cerebral semipurificado provenientes de individuos enfermos. La transmisión de la enfermedad por ingestión de tejido encefálico de otra especie depende del grado de homología interespecífica de los priones.

La dosis infectiva entre especies es mayor que aquella necesaria para reproducir la enfermedad entre individuos de la misma especie (usualmente un millón de veces mayor), y el tiempo de incubación también es mayor. Excepción a esto lo constituyen las dosis requeridas para transmitir scrapie a los visones, las que resultan ser iguales a las necesarias para transmitir scrapie entre los ovinos. Sin embargo, los inóculos de una especie que ha sido infectada con priones de otra especie, son capaces de infectar un amplio rango de nuevas especies las que originalmente resultaban resistentes al prión original y lo hacen a menores dosis.

En condiciones naturales las vías de inoculación se deben a transmisión por vectores mecánicos (jeringas, instrumental,

etc.) o por ingestión de tejidos que contienen los priones anormales. Así se explica la aparición y propagación de las encefalopatías del visón y del bovino. Los visones son animales carnívoros que conviven, en condiciones naturales, con rebaños de ovinos y bovinos, existiendo además entre ellos sangrientas peleas territoriales y canibalismo. Posiblemente esta vía de transmisión haya sido la causante de encefalopatías en animales de zoológico y en el gato. Curiosamente no se describe esta enfermedad en los cánidos.

Las investigaciones han mostrado que el agente pasa a lo largo de los nervios periféricos desde su lugar de absorción hasta el encéfalo. También los macrófagos y linfocitos pueden presentar estos priones. Sin embargo, no resulta absolutamente claro el modo exacto de propagación del agente dentro del organismo ni tampoco de qué depende el largo período de incubación de la enfermedad.

En el caso de la enfermedad bovina, su aparición y propagación en Gran Bretaña se asocia a la ingestión de harina de carne ovina (y posiblemente también bovina) por parte de estos animales. Recordemos que los priones de ambas especies presentan gran homología. Su aparición es consecuentemente coincidente con el cambio en el procesamiento de la harina de carne ocurrido en Gran Bretaña, especialmente en Inglaterra, a fines de los 70, cuando se abandonó la extracción con solventes orgánicos y se eliminó la subsecuente evaporación de éstos a altas temperaturas y vapor al final del proceso, no destruyéndose de esta manera al agente causal.

De todas formas ni natural ni experimentalmente, por ninguna vía ha sido posible transmitir la encefalopatía espongiforme bovina, tanto intra como interespecíficamente, suministrando todo tipo de tejidos o secreciones provenientes de bovinos enfermos, con la sólo excepción de tejido encefálico, médula raquídea y retina. En particular se ha probado que tanto la leche como la carne no son portadoras del agente causal.

Aun más, no existe actualmente ninguna evidencia científica directa que indique que la encefalopatía espongiforme bovina pueda ser transmitida desde el bovino al ser humano, ni menos que ésta sea capaz de desencadenar la enfermedad de Creutzfeldt-Jacob. Experimentos recientes, en los que se inyecta material infectante de origen humano a ratones transgénicos que portan el gen humano para el prión, muestran que los ratones mueren por multiplicación del prión humano. Si dichos ratones se desafían con material infectante bovino, los ratones también mueren, pero esta vez por multiplicación del prión de ratón (Fig. 7). Esto demuestra que el prión humano no se modifica por el prión bovino.

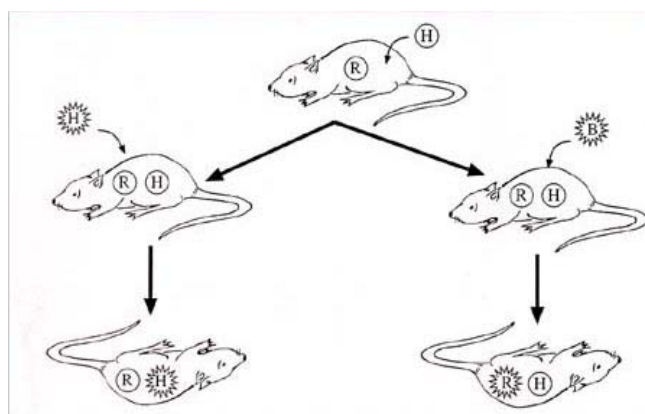


Fig. 7 Infectividad del prión en animales transgénicos

Degraciadamente no es posible demostrar experimentalmente esta falta de asociación directamente en los seres humanos. Tampoco es posible tener certezas derivadas de asociaciones epidemiológicas por cuanto o ellas realmente no existen o no se dispone de los controles poblacionales necesarios. De hecho aunque se demostrara que algunos cientos de pacientes de Creutzfeldt-Jacob en Gran Bretaña tienen en común el haber consumido carne o subproductos bovinos, también los restantes 50 millones de británicos sanos han gozado del roast beef, pie de carne o haggis (plato típico escocés).

Las medidas adoptadas como consecuencia de la existencia de una duda razonable se sustentan por lo tanto en un imperativo político-ético (y a lo mejor comercial también) más que en un fundamento científico. Será necesario entonces aportar nuevos y concluyentes antecedentes producto de investigación científica innovadora y precisa para hacer desvanecer las dudas que subsisten y poder así revertir el daño que se ha producido y de cuyas repercusiones aún no sospechamos.