

Aspectos inmunopatológicos de la infección por priones. Consideraciones en dermatología

Dr. Alberto Paniz- Mondolfi*

RESUMEN

Las enfermedades transmitidas por priones constituyen un grupo de fatales desórdenes neurodegenerativos tales como el Kuru, la enfermedad de Creutzfeldt-Jakob, el síndrome de Gertssman-Sträussler-Scheinker y el insomnio familiar fatal. El agente causal denominado prion, por su original designación partícula infecciosa proteinacea, es una proteína celular aberrante convertida a una isoforma no constitutiva (isoforma scrapie), caracterizada por su anormal resistencia a métodos convencionales de descontaminación y su desconocido mecanismo de conversión a su forma patogénica. Desde el año 1985 estas enfermedades han captado especial atención debido a la epidemia de encefalopatía bovina espongiiforme acontecida en el Reino Unido. El presente trabajo pretende abarcar de una manera general y concisa los aspectos inmunológicos relacionados a estas enfermedades, así como consideraciones básicas en el área de la dermatología.

Palabras clave: Prion. PrP^c (Isoforma constitutiva). PrP^{sc} (isoforma no constitutiva / scrapie). Inmunopatología. Encefalopatías espongiiformes trasmisibles.

SUMMARY

Prion diseases are a group of fatal neurodegenerative disorders such as Kuru, Creutzfeldt-Jakob disease; Gertssman-Sträussler-Scheinker syndrome and fatal familial insomnia. The causative agent termed prion, for proteinaceous infectious particle is an aberrant cellular protein converted to a non-constitutive form (scrapie isoform), characterized by its abnormal resistance against conventional decontamination methods, and unknown mechanism of conversion. Since 1985 prion diseases attracted special attention because of the bovine spongiform encephalopathy epidemic in the United King-

dom. The present work pretends a general and brief approach to the immunological aspects of prion diseases, such as basic considerations in dermatology.

Key words: Prion. PrP^c (constitutive isoform). PrP^{sc} (scrapie isoform), Immunopathology. Transmissible spongiform or subacute encephalopathies.

I. Breviario histórico

La historia nos remonta al año 1953 cuando una extraña enfermedad diezmo a la tribu Fore de Nueva Guinea, en ese entonces colonia australiana; los nativos llamaron a este padecimiento “Kuru” que significa “temblor o estremecerse de frío o miedo y que se atribuía a hechizos y efectos sobrenaturales” (1). Para ese entonces se encontraba de paso por ese país el científico americano Carleton Gajdusek quien permaneció alrededor de tres años estudiando la devastante enfermedad, pudiendo constatar que sólo este grupo étnico desarrollaba la dolencia, incluyendo a aquellos individuos que habían abandonado sus territorios cuando ya la epidemia cobraba más de 600 muertes. Igualmente notó que las mujeres podían transmitirlo a otras comunidades y a través de sus hijos, por lo cual le atribuyó una probable etiología genética (1,2).

En el año 1959 el veterinario W. J. Hadlow dirige una carta a Gajdusek donde le informa acerca de la similitud existente entre el Kuru y una enfermedad que padecían las ovejas desde hacía más de 200 años conocida con el nombre de Scrapie, ya que los animales presentaban un cuadro clínico de ataxia y frecuentemente prurito lo que llevaba a estos animales a rascarse contra los alambrados con la consecuente pérdida de lana. Esto condujo a Gajdusek a experimentar la inoculación en otras especies animales, verificándose el carácter de la

*Médico Investigador
Laboratorio de Estudio de Antígenos. Sección de Genómica y
Proteómica. Instituto de Biomedicina
Apartado 4043, Caracas, 1010 A, Venezuela.

transmisibilidad en unos chimpancés a finales de 1965. En 1976 Gajdusek compartió el premio nobel por descubrir el origen infeccioso del Kuru, adjudicándole la etiología a los llamados virus lentos (1-3).

El misterio de la tribu Fore es al fin resuelto por los antropólogos Robert Glasse y Shirley Lindenbaum quienes descubrieron que esta tribu había comenzado a practicar ritos canibalísticos hacia 1915, lo cual se había mantenido como una práctica exclusiva de las mujeres a lo largo del tiempo. De hecho, al prohibirse estos rituales la incidencia de la enfermedad declinó prácticamente en su totalidad (1,2).

No es sino hasta 1978 cuando Stanley Prusiner inicia sus estudios en el campo, para finalmente en 1981 sugerir que estas enfermedades eran transmitidas por una proteína infecciosa, peculiar en el sentido de poder inducir su replicación y el desarrollo de la enfermedad sin contener en su estructura ácidos nucleicos [Henning J, Paniz A, Hernández E, Kabchi B, Salazar Y, Sánchez L. Actualización sobre la respuesta inmunológica frente a la infección por priones. VI Congreso Venezolano de Estudiantes de Medicina, Universidad de Los Andes, 1997 (Documento no publicado)]. Después de fuertes refutaciones, Prusiner consolida sus teorías y se le otorga el premio Nobel en 1997 (3).

El empleo de nuevas técnicas diagnósticas y la reciente epidemia de la encefalopatía bovina espongiiforme ha contribuido en forma importante a la mayor caracterización y más profunda comprensión de la patogénesis de estas enfermedades, confinadas a la larga lista de los diagnósticos por descarte en el pasado.

II. Encefalopatías espongiiformes subagudas

En el ser humano las encefalopatías espongiiformes subagudas o transmisibles son: 1. El Kuru; 2. La enfermedad de Creutzfeldt-Jakob; 3. El síndrome de Gertssman-Sträussler-Scheinker y 4. El insomnio familiar fatal. Las enfermedades en animales incluyen: 1. El scrapie; 2. La encefalopatía espongiiforme bovina; 3. La enfermedad de desgaste crónico del Cariacú y el alce en cautiverio, así como 4. La encefalopatía espongiiforme felina y 5. De los ungulados exóticos (4).

Etiológicamente las enfermedades humanas producidas por priones se manifiestan por origen

infeccioso, tal como el caso del Kuru y los casos de enfermedad de Creutzfeldt-Jakob iatrogénica; por herencia y mutaciones como las formas familiares de enfermedad de Creutzfeldt-Jakob, Gertssman-Sträussler-Scheinker y el insomnio familiar fatal; o por brotes esporádicos (4).

III. Prion: definición. Aspectos bioquímicos y funcionales

El prion es el término que define el agente causal de las encefalopatías espongiiformes transmisibles (EET) y que describe propiedades no convencionales. Su componente esencial lo constituye una proteína, mas el término no posee implicaciones estructurales (5).

Se describen dos formas de proteínas prionicas: por una parte la PrP^C o PrP-sen define a la forma constitutiva producto del gen Prnp, necesaria, mas no suficiente, en diversos tipos celulares para la replicación del prion; en tanto que la forma PrP^{Sc} o PrP-res constituye una forma anormal, no constitutiva derivada del gen Prnp que se encuentra en los tejidos de pacientes que padecen EET, la cual es resistente a digestión por proteínasa- K bajo condiciones estandarizadas y difiere mayormente de la PrP^C por su estado conformacional. Aun cuando no se ha establecido una terminología convencional, estos términos y conceptos generales son los más utilizados en la literatura del tema (6).

El prion es un agente ampliamente resistente a tratamientos físicos y químicos (formaldehído y glutaraldehído, β-propiolactona, ácido acetiltilindeamina, nucleasas, compuestos cisdiamino platino, temperaturas de 80°C, radiaciones ionizantes y otros) [Henning J y col. VI Congreso Venezolano de Estudiantes de Medicina, ULA, 1997. Documento no publicado)].

Es una sialoglicoproteína de 33-35 kd, proviene de un gen compuesto de dos o tres exones, un marco de lectura simple, y un promotor rico de cimetidina/guanidina. La estructura del gen y la secuencia de la proteína han sido altamente conservados en los mamíferos (5-7).

La traslación de PrP, ARNm y el procesamiento del producto inicial del gen resultan en una proteína de 210 aa anclados en la membrana plasmática a través de una glicoproteína de fosfatidil-inositol ligada a su extremo carboxilo-terminal. Tanto la isoforma constitutiva como la no constitutiva son

transcritas en el mismo gen, lo cual sugiere que cualquier modificación ligada a la enfermedad debe ocurrir a nivel pos-transcripcional (4-6). PrP^{Sc} es el mayor y probablemente el único componente de la partícula prionica infecciosa, su formación es postranslacional involucrando un proceso de cambio conformacional de la PrP^C. Estudios de modelos moleculares han demostrado que estructuralmente la conformación de la PrP^C se compone de cuatro hélices que conteniendo a su vez cuatro regiones de estructura secundaria. Describe un dicroísmo circular que contiene en un 40 % a hélices y en un 3 % bandas β. En el caso de la PrP^{Sc} se describe un 34% a hélices y 43 % bandas β. Existen a su vez cambios estructurales que determinan distintas cepas de priones (7-9).

La localización en la superficie de la membrana celular y otras evidencias bioquímicas indican que la proteína se comporta como: receptor de membrana, factor de crecimiento de células gliales, receptor inductor de acetilcolina, molécula de adhesión linfocitaria, activador de células linfoides, funciones de señalización y transporte (Cuadro 1). Y también se ha descrito su función en las sinapsis, en los procesos de memoria, mantenimiento de ritmos circadianos y regulación de patrones de sueño (5,10). Hasta ahora la función de esta proteína – a pesar de encontrarse ampliamente expresada en tejidos embriológicos y adultos – parece no ser esencial o compartir su función con otras moléculas, ya que se ha descrito en modelos experimentales, que mediante la delección del gen PrP^C murido por recombinación

homóloga de células madres embriológicas, los ratones mutantes que se generan poseen un desarrollo normal (4,9,11).

IV. Hipótesis acerca de su naturaleza infecciosa

Los trabajos de Prusiner para determinar la naturaleza de los priones, comprendieron una serie de fases: primeramente la extracción y purificación, la determinación de la naturaleza química de este agente, las pruebas que condujeron a su identificación y finalmente los ensayos biológicos de infectividad. Todos estos distintos pasos son explicados a continuación.

1. En un principio durante la fase de purificación (utilizando extracción con detergentes y centrifugación) se decidió agregar tres nuevos pasos que consistían en: exposición a nucleasas, exposición a proteasas y análisis electroforético. En este punto Prusiner y su equipo observaron que la infectividad del agente (scrapie) permanecía inalterada tras la digestión con nucleasas (enzimas capaces de intervenir en el proceso de clivaje de ácidos nucleicos), en cambio tras la exposición a proteasas (las cuales cortan secuencias de aminoácidos en una proteína) ocurría una disminución en la infectividad, lo que llevó al planteamiento que la actividad biológica del agente dependía de una proteína (12-14).

Cuadro 1

Comparación entre las isoformas constitutiva y no constitutiva de la proteína prionica.

Características	PrP ^C (Isoforma constitutiva) (sen)	PrP ^{Sc} (Isoforma no constitutiva) (res)
Naturaleza / Función	No patógena - Receptor de membrana. - Factor de crecimiento de células gliales. - Receptor inductor de acetilcolina. - Molécula de adhesión linfocitaria. - Activador de células linfoides. - Funciones de señalización y transporte	Patógena
Infectividad Origen	No infecciosa Natural del gen PrP	Infecciosa Anormal del gen PrP (la modificación parece ocurrir a nivel postranscripcional, aunque se ha descrito susceptibilidad genética)
Conformación estructural	Predominantemente α - helices	Predominantemente bandas β
Agrupación / Dispersión	Monomérica	En forma de agregados (multimérica)

2. En el curso de su trabajo examinaron numerosos reactivos químicos para determinar si eran capaces o no de alterar la infectividad del prion. La base de sus hallazgos se basó en que aquellas sustancias capaces de alterar la naturaleza proteica disminuían la infectividad del prion, en tanto que aquellas sustancias que no jugaban ningún papel en la esfera proteica no alteraban la infectividad (12-14).

Las más claras evidencias provinieron del uso de proteasas. Por lo general las proteasas son altamente específicas y no se describe casi efecto sobre otras moléculas biológicas que no sean proteínas. De los trabajos iniciales se desprenden dos puntos esenciales:

1. Las proteasas reducen la infectividad prionica.
2. Las moléculas PrP poseían resistencia al tratamiento con proteasas si se comparaban con otras proteínas.

De esta forma se utilizaron otros reactivos que no escindían las cadenas de aminoácidos sino que actuaban desplegando a las proteínas (desnaturalización), por ejemplo, el detergente duododecilsulfato de sodio (SDS), urea y ciertas sales lograban disminuir la infectividad biológica de los priones (todas las reacciones mediadas por estas sustancias se describen como irreversibles) (12-14).

Por lo descrito anteriormente se decidió realizar el ensayo con dietilpírocarbonato (DEP) la cual modifica químicamente a las proteínas de una manera que el proceso pueda ser revertido posteriormente mediante el uso de hidroxilamina. Los resultados obtenidos mediante este procedimiento fueron una abolición de la acción prionica y su posterior restablecimiento tras el uso de la hidroxilamina (12-14).

Tras estos experimentos se presumió entonces que el blanco de acción lo constituía la PrP.

A pesar de los resultados obtenidos hasta este momento aún permanecía abierta la posibilidad de que la PrP no fuera un componente estructural del prion sino un producto patológico resultante del proceso infeccioso del scrapie. Sin embargo, se logró determinar que la concentración de PrP era directamente proporcional a los títulos de priones encontrados; el rango obtenido por medio de

digestión en proteasas fue el mismo tanto para PrP como para priones (12-14).

Finalmente por los hallazgos experimentales obtenidos sobre material purificado tratado con proteasas, se determinó que PrP era la única proteína que podía ser detectada, sugiriendo así que los priones se constituían de una única proteína mayor.

3. Habiéndose ya establecido el rol de una proteína en el proceso infeccioso, el paso siguiente consistió en tratar de descartar la presencia de ácidos nucleicos.

Las radiaciones ionizantes por daño directo a los ácidos nucleicos destruyen células y virus. Alper ensayó en esta materia obteniendo como resultado que eran necesarias altas dosis de radiación para eliminar el agente del scrapie; así se concluyó que éste agente carecía de ácidos nucleicos descartando la hipótesis viral (12-14).

Por otra parte Prusiner y su equipo expusieron varias soluciones de priones a un pool de diversas nucleasas, incluyendo enzimas que destruían tanto el ácido desoxirribonucleico (ADN) como el ribonucleico (ARN), sin detectar ninguna disminución en la infectividad.

Una posible objeción a este experimento radicaba en la posibilidad de que la enzima no pudiera ganar acceso al ácido nucleico. Tal era el caso de muchos virus resistentes a las nucleasas por el hecho de que el material genético se encontraba protegido por una cubierta proteica.

A fin de solventar esto, se utilizaron unas moléculas denominadas psoralenos, las cuales tienen la capacidad de traspasar las cubiertas proteicas de la mayoría de los virus y en conjunto a la exposición con rayos ultravioletas es capaz de ligarse a los ácidos nucleicos inactivándolos; de la misma manera tras este procedimiento no se observó pérdida de la infectividad. De igual manera se utilizaron iones de zinc los cuales actúan de una manera similar a los psoralenos, obteniéndose los mismos resultados (12-14).

De todo lo descrito con anterioridad se desprende la siguiente conclusión:

Los métodos usados para modificar la naturaleza proteica inactivaban los priones pero no ejercían efecto alguno sobre los viroides, en tanto que los tratamientos utilizados para atacar ácidos nucleicos

destruían los viroides pero no modificaban la naturaleza de los priones.

V. El problema de la replicación

Para el momento en que Prusiner dilucidaba el por qué de la naturaleza infecciosa de los priones comenzaban a surgir las interrogantes acerca de los mecanismos de replicación utilizados por estos; en principio surgieron tres hipótesis: la primera, planteaba que el prion (a pesar de las evidencias obtenidas para ese entonces) consistía en un virus convencional con un genoma ADN o ARN que codificaba para la estructura completa de la proteína (2,3,13); la hipótesis más radical planteaba que los aminoácidos de la PrP^c de alguna manera determinaban su propia secuencia durante la replicación, proponiéndose indirectamente el proceso de la transcripción reversa (siguiendo la vía proteína – ARN / ADN) interpretándose así por los mecanismos celulares como un incremento en la síntesis proteica (13).

En este sentido se especulaba que la secuencia de aminoácidos de la PrP^c servía como marco y andamio para el ensamblaje directo de una nueva molécula proteica, aun cuando no se conocían enzimas capaces de aproximarse a la construcción de tan complejas estructuras proteicas (12,13). Sin embargo, hoy por hoy se ha demostrado que la conformación de la PrP^{sc} hace las veces de templado para dirigir la formación de PrP^{sc} nacientes, sugiriendo por demás que las distintas cepas de priones se originan en la diversidad nativa encriptada en la PrP^{sc} madre (15).

La tercera hipótesis, aún compartida por muchos investigadores plantea la existencia de una secuencia génica (ADN) que codifica para una secuencia de aminoácidos determinantes del prion. El gen, a pesar de no ser contenido por el prion, constituye un componente normal del genoma y la infección por priones de alguna manera activaría el gen o simplemente lo alteraría (3,12-14). Incluso, podría ocurrir que el prion incluya una pequeña secuencia de ácido nucleico que podría estimular la activación del gen. La secuencia insertada podría fungir como un promotor o activador de la expresión génica. Alternativamente si el prion consiste únicamente de estructura proteica, la misma PrP podría ligarse al ADN celular en alguna región que controle la transcripción del gen PrP, lo cual constituiría una situación excepcional (12-14,16).

Existen en la actualidad múltiples hipótesis acerca de la replicación y la conversión, algunos plantean la existencia de cepas, otros el rearrreglo de genes, sin embargo, no existe un consenso ni unificación consistente de datos experimentales.

VI. Papel de los linfocitos T y B, y, del sistema de complemento

VI. I. El papel de los linfocitos T

Como es bien sabido la expresión de la PrP^c no se restringe únicamente a los tejidos del sistema nervioso central (SNC); y su presencia en tejidos linfoides de ratones y ovejas ha sido demostrada (3,5,17). Los trabajos iniciales enfocados al estudio de la patogénesis del scrapie fueron los primeros en demostrar que los linfocitos T no jugaban un rol determinante en la biogénesis de estas patologías; esto demostrado a través de la timectomización en varios modelos animales donde no se evidenció alteración alguna en lo que respecta al período de incubación posterior a una inoculación periférica del agente (18).

Igualmente, se han realizado estudios en ratas transgénicas e inmunodeficientes, corroborándose que las deficiencias puntuales de células T (CD4 -/-, CD8 -/-, $\beta 2\mu$ -/-, TCR α -/- y perforina -/- en roedores), no alteran en forma alguna la susceptibilidad o acumulación del material infeccioso (priones) en bazo u otros tejidos (19,20).

Sin embargo, es importante destacar que la proteína prionica PrP^c, es decir, la forma constitutiva, juega un papel importante como molécula de superficie en el proceso de activación de células T (17). Lo cual se ha demostrado, entre otras cosas, por su sobreexpresión posterior a la estimulación *in vitro* con el mitógeno no específico de células T. con canavalina A; y su reducción importante tras esta estimulación posterior a la inactivación del gen (PrP -/- en ratas).

Se ha demostrado que la proteína prionica en su forma constitutiva PrP^c juega un papel importante como molécula de superficie en el proceso de activación de células T.

VI. II. Papel de los linfocitos B

El rol de los linfocitos B en la patogénesis de la infección por priones es aún más complejo, ya que se ha demostrado su participación directa e

indirectamente en varios de los mecanismos vinculados al sistema inmunitario.

Se ha demostrado que en ratones, con abolición selectiva de la función de células B, e incluso, en modelos de inmunodeficiencia severa combinada (SCID) (Rag-1 *-/-*, Rag-2 *-/-* y Agr *-/-*) el grado de infectividad y la subsecuente invasión neural se encuentran notablemente afectadas (19-22).

Durante muchos años se planteó la posibilidad de que los mismos linfocitos B eran los responsables de transportar físicamente a estos agentes hasta el sistema nervioso central (SNC) junto a los macrófagos (19,21); sin embargo, los ensayos experimentales fracasaron en demostrar la infectividad en células B circulantes a pesar de la intensa presencia de priones en células del lecho esplénico (24).

En la actualidad cobran importancia aquellas hipótesis que demuestran la acción indirecta de las células B sobre estos procesos patogénicos. Por ejemplo, se ha demostrado que, en ratones deficientes en linfocitos B maduros, ocurre indirectamente una deficiencia a nivel de las células dendríticas foliculares, las cuales requieren de la estimulación por parte de las células B para mantenerse en su estado diferenciado (22); más adelante se analiza el importante papel de las células dendríticas foliculares en el proceso periférico de la infección por priones.

Hasta el momento no existen evidencias que sugieran que las células B secreten por sí solas factores o sustancias que intervengan en el proceso de neuroinvasión o neurodegeneración (25), sin embargo, sí es bien sabido que las células B proveen señales importantes que participan en la maduración y en el mantenimiento de distintos tipos celulares en los centros germinales (22,26).

VI. III. Papel del sistema de complemento

El complemento es un importante sistema de defensa que puede activarse por tres vías diferentes, la vía clásica, dependiente de la unión antígeno-anticuerpo, la vía independiente de anticuerpo, o de las lecitinas, que reconoce monosacáridos expresados sobre las membranas de microorganismos; y por último, la vía alterna; aunque algunos autores sugieren la existencia de una cuarta vía que se iniciaría a partir de C5, facilitando procesos de degranulación plaquetaria (27).

La activación del complemento y la unión a receptores celulares de membrana para el comple-

mento son esenciales para la localización de antígenos en células dendríticas foliculares (22,28). Como es sabido, las células dendríticas no fagocitan al antígeno sino que lo capturan en sus prolongaciones y lo retienen hasta tanto lo puedan presentar a los linfocitos T (27,28) pudiendo permanecer retenidos por largos períodos de tiempo (22).

Recientemente se ha descrito el importante papel que juega el complemento en los procesos de localización y retención del agente scrapie en las células dendríticas foliculares, principalmente en los primeros días posterior a la infección (29-31). Se han realizado experimentos, provocando genéticamente deficiencias del factor C3 (30), así como depletando transitoriamente dicho factor (32) disminuyendo significativamente la acumulación de PrP^{sc} en bazo y prolongando de una manera importante el período de incubación después de la inoculación periférica del agente scrapie (29,32).

Se ha propuesto incluso que la PrP^{sc} puede interactuar directamente con componentes específicos del sistema de complemento, aunque aún no se conoce mecanismo alguno (29). Utilizando modelos con deficiencias del factor C1q (C1q *-/-*), "vía clásica" (33); y modelo de doble *knock out* del factor B y C2 (H2-BF/C2 *-/-*), "vía clásica y alterna" (34); se ha demostrado que la activación de la vía clásica de complemento fue la más propensa involucrando la activación de C3 durante la infección priónica; sin embargo, el período de incubación fue marcadamente más prolongado en ambos modelos (29,32) sugiriendo la vinculación de ambas vías.

VII. Papel de los macrófagos y las células dendríticas foliculares

Tanto los macrófagos como las células dendríticas foliculares juegan un papel esencial en la fase periférica del proceso patogénico de las EET, razón por la cual es necesario en primera instancia hacer mención general de las teorías y evidencias que hasta el momento nos aproximan al entendimiento del proceso que conduce a los priones hasta el SNC (Figura 1).

Los priones demuestran una mayor efectividad cuando son depositados directamente en el cerebro del hospedero, pero ésta no es la ruta usual de infección (3,4,13,14). Por ejemplo en el caso de transmisión de la enfermedad de Creutzfeldt-Jakob,

en la mayoría de los casos ha sido por la administración de productos hormonales contaminados (35), trasplantes de córnea (36) y más recientemente se ha propuesto la posible vía transfusional (37) e incluso la transmisión por vía de secreción nasal (38,39).

Especial mención merece la transmisión por vía oral, como en el caso del Kuru, adquiriéndose la infección posterior a rituales canibalísticos (2,3,35). Es evidente que los priones consiguen un camino a través del cuerpo para finalmente llegar al SNC, pero hasta el momento no se han hallado cambios histopatológicos en otros órganos; lo que sí se ha demostrado es que los priones efectúan una multiplicación silente en zonas de reserva durante la fase de incubación (40). Uno de esos reservorios podría constituirlo el sistema inmune y muchos estudios recalcan la importancia de la replicación prionica en órganos linfoides.

El tipo PrP^{Sc} se acumula en el tejido linfoide amigdalino en grandes cantidades, pudiendo ser fácilmente detectadas por medio de anticuerpos en

preparados histológicos. Igualmente se han detectado grandes cargas a nivel intestinal, específicamente en placas de Peyer, posterior a la administración oral de priones (41).

La naturaleza de las células que soportan la replicación prionica en el sistema linfo-reticular aún permanece incierta. Se ha descrito la acumulación de PrP^{Sc} en células dendríticas foliculares en ciertas cepas de roedores. A pesar de esta implicación, las células del sistema inmune no pueden ser del todo responsables del transporte de los priones hasta el SNC, lo cual plantea la posibilidad que la transmisión se efectúe por vía nerviosa periférica retrógrada como en el caso de la rabia y los herpesvirus.

Así permanece aún la hipótesis de que las células pertenecientes al sistema linfo-reticular transportan los priones a los terminales nerviosos periféricos y de ahí ocurra un proceso trans-sináptico a lo largo de los tractos nerviosos (42,43).

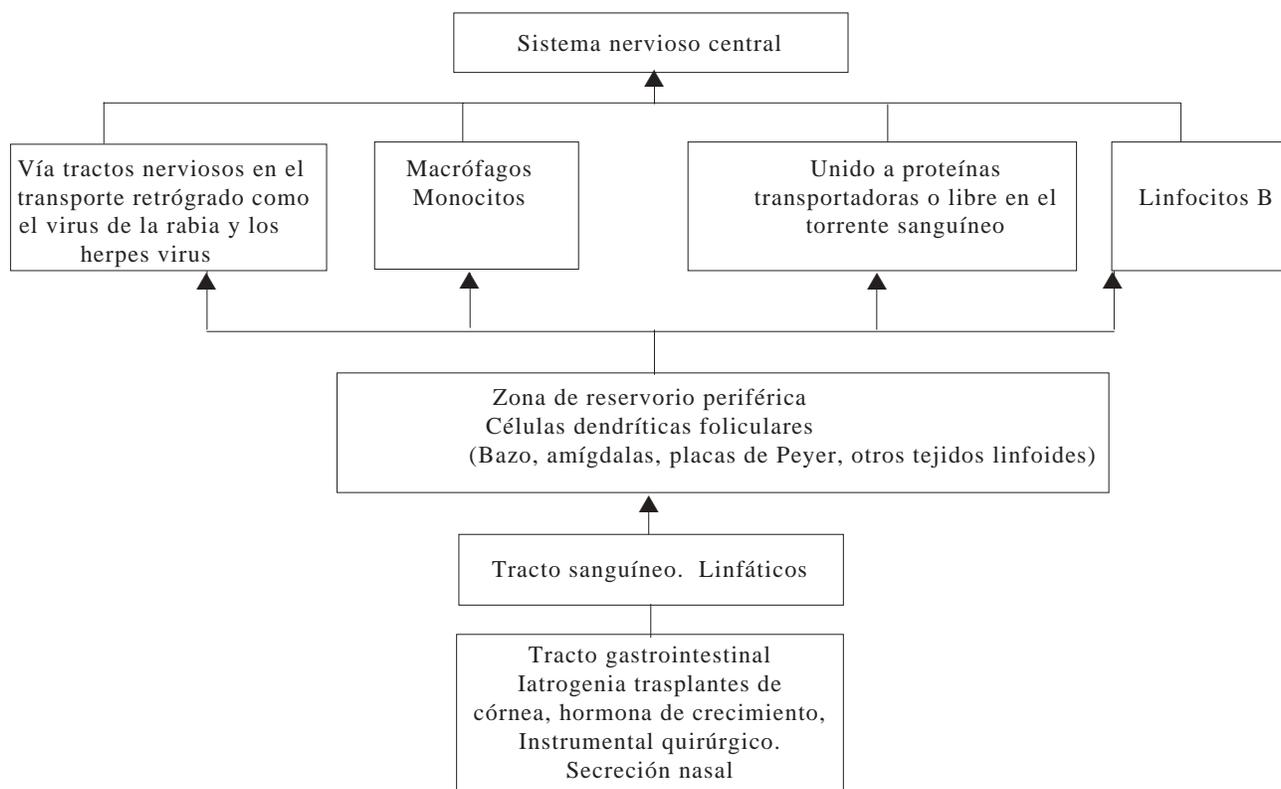


Figura 1. Posibles rutas seguidas por el prion en el proceso patogénico desde el compartimiento periférico al compartimiento central.

VII. I. Propagación del prion en células del sistema linfo-reticular

Aun cuando la infección por priones no parece inducir una respuesta inmunológica crónica, se conoce que los priones colonizan el sistema linforeticular (SLR) antes que ocurra la colonización a nivel del SNC (44). Tras la infección ocurre una ruta de acceso al SLR pero aun permanece sin conocerse que sistema de transporte es utilizado a este nivel periférico.

VII. II. Papel de los macrófagos

Se sospecha que los macrófagos (M ϕ) pueden estar vinculados en este primer paso, debido a su actividad fagocítica y su movilidad, lo cual le permite circular entre órganos linfoides, torrente sanguíneo y parénquimas de distintos órganos (19,44).

Respecto a su papel se han estudiado igualmente el compromiso de los M ϕ esplénicos en los estadios tempranos de la infección por scrapie. Al ocurrir la depleción de los M ϕ esplénicos mediante el uso de la técnica de suicidio (donde se utiliza el difosfonato de diclorometileno incluido en liposomas), se ha observado un incremento en la cantidad de inóculo a nivel esplénico, así como una acelerada replicación del agente en los estadios tempranos de infección. Los resultados experimentales han sugerido que posiblemente los M ϕ juegan un papel como primera línea de defensa y limitan en parte la infección a nivel de tejidos periféricos mediante el secuestro fagocítico del agente y por ende disminuyen la replicación del mismo, al menos a nivel esplénico. Otro fenómeno notable es que el uso de difosfonato de diclorometilo actúa igualmente depletando de manera transitoria a las células dendríticas foliculares y células B, observándose aun replicación, lo cual sugiere inequívocamente la existencia de otros mecanismos compensatorios que contribuyen a la persistencia de la infección en estadios tempranos (45).

Es importante hacer mención de las células con actividad fagocítica dentro del SNC, especialmente el papel de la microglia, destacando que el rol de las células gliales en la patogénesis de las enfermedades prionicas es evidente debido a que la gliosis precede el proceso neurodegenerativo o de neurodegeneración (46,47). Existen evidencias experimentales en modelos de roedores infectados que demuestran a nivel cerebral un incremento de los niveles de ciertas citotoxinas derivadas de la glia, incluyendo

al TNF α , IL-1 α e IL-1 β . Se ha hallado que las áreas de activación microglial coinciden con las áreas de formación de placas PrP en pacientes con síndrome de Gerstmann-Straussler-Scheinker, así como se ha demostrado en la actualidad que para el desarrollo del efecto neurotóxico de la PrP106-126 *in vitro* es necesaria la presencia de la microglia (48-50).

Se ha descrito recientemente mediante sustracción de tejido cerebral de roedores infectados y análisis de ADNc, la sobre-regulación de ciertos genes que codifican para una serie de enzimas, entre ellas hidrolasas lisosomales (lisozima M y ambas isoformas de la β -N acetilhexosaminidasa), peroxiredoxina y en especial una proteína similar a la perforina (gen 1 específico para la proliferación de M ϕ [MPS-1]), lo cual se correlaciona directamente con el desarrollo y progresión de la degeneración esponjiforme, tomando en cuenta la acción específica de cada una de estas enzimas (48).

La función fisiológica de la lisozima M aún no está clara; se conoce que actúa degradando ciertos peptidoglicanos que componen la pared celular bacteriana y funge como un excelente marcador de M ϕ activados. MPS-1 fue aislado como gen específico para M ϕ ; su estructura al ser deducida por secuenciación de nucleótidos expresa un dominio de significativa homología con la perforina, la cual originalmente fue identificada como una proteína granular en Ly T citotóxicos y células NK.

El hecho de que los sistemas lisosomales se encuentren sobreactivados y la posibilidad de que MPS-1 exhiba un potencial citotóxico importante como para provocar directamente muerte neuronal, agrega a la intervención de los M ϕ dentro de la patogénesis de la infección por priones un papel crucial (48).

Las evidencias experimentales han sugerido que para que la infección pueda acceder a nivel de SNC desde el SLR, es necesaria una larga interacción en la cadena celular. Las hipótesis planteadas inicialmente acerca de la infiltración de monocitos a través de la barrera hemato-encefálica y por tanto un rol en el desarrollo de la infección han perdido terreno en la actualidad (41).

VII. III. Papel de las células foliculares

Estudios experimentales utilizando dosis subletales de irradiación gamma (en dosis simples o fraccionadas) antes de inoculación del agente prionico, así como estudios en animales

timectomizados, no han demostrado alteración alguna en el período de incubación de estas infecciones, sugiriendo que la replicación del prion (scrapie) en el SLR depende de un grupo celular radio-resistente y mitóticamente inactivo, apartando de esta manera la posibilidad de intervención de las células T o sus precursores. De esta manera y cumpliendo con los criterios anteriormente descritos, las células foliculares juegan un claro papel como fuertes candidatas para la función de replicación, sumando a esto las evidencias que aun en animales no infectados, exhiben una gran capacidad de ligar anticuerpos para la PrP (41,45,51,52). Las evidencias experimentales que soportan este hecho se describen a continuación:

En cepas de ratones con inmunodeficiencia severa combinada (SCID) la carencia de linfocitos T y B previene la maduración de células dendríticas foliculares; estos ratones tienden a fracasar en la replicación del agente (disminuyendo la infectividad) y se observa una disminución de la acumulación de PrP^{Sc} en bazo, lo que conlleva por último al no desarrollo de la enfermedad posterior a una resistencia periférica. En cambio si estos ratones (SCID) son infectados de manera directa, intracerebralmente, son tan susceptibles al desarrollo de la enfermedad como su contraparte inmunocompetente; incluso luego de la reconstitución de las cepas SCID la resistencia periférica a la infección sucumbe y se denota acumulación de PrP^{Sc} a nivel esplénico (41).

Por otra parte se ha sugerido que los Ly esplénicos pueden adquirir los priones posiblemente de las células dendríticas foliculares, únicamente si expresan la PrP, el mecanismo de cómo sucede esto permanece sin determinar. Se deduce que debido a que los Ly permanecen en estrecho contacto con las células dendríticas foliculares en la intrincada red de los centros germinales, dicha captación se efectúa por interacciones celulares directas. Se especula que los priones pueden encontrarse expresados en la superficie de las células dendríticas como anticuerpos - PrP^{Sc} o complejos complemento - PrP^{Sc} de manera similar a como son retenidos los complejos inmunes por las células dendríticas foliculares para el largo mantenimiento de la respuesta inmune (44).

Se han demostrado altos niveles, por medio de técnicas de atrapamiento de complejos de PrP, en un extenso número de células no relacionadas con tipos neuronales, en órganos linfo-reticulares y páncreas,

tanto de ratones infectados como no infectados. La asociación entre ambas formas de proteína prionica (la forma constitutiva y no constitutiva) con las células dendríticas foliculares en bazo, nódulos linfáticos y placas de Peyer sugiere fuertemente que en estos tejidos, las células dendríticas foliculares constituyen sino el único, el principal sitio de replicación (41,44,52,53).

VIII. Aproximación a un esquema inmunoterapéutico para el control de las EET

Hasta los momentos sólo existen como propuestas para combatir las EET aproximaciones terapéuticas teóricas, las estrategias en la actualidad se han basado en modelos de prevención. De todos modos es importante considerar que para el momento que se reconocen los primeros síntomas de una de estas enfermedades ya ha ocurrido un daño considerable en el SNC, lo cual confiere a la profilaxis pos-exposición un mayor chance de éxito en el tratamiento de la entidad prionica.

Aun cuando los mecanismos fisiopatológicos no están del todo esclarecidos, las evidencias experimentales han trazado una ruta que parte desde su compartimiento periférico (donde intervienen M ϕ , células dendríticas foliculares, células B, etc.) a un compartimiento central (SNC) dejando al descubierto una serie de blancos capaces de ser atacados, manipulados o modulados con el fin último de detener el desarrollo de estas enfermedades, teniendo al sistema inmune un rol protagónico.

Es imprescindible recordar que no existen evidencias claras de una respuesta inmune crónica en estas infecciones; la ausencia de reactividad inmunológica no se encuentra asociada a ninguna disfunción del sistema inmune detectable o a alguna actividad supresora a nivel celular, incluso en los estadíos terminales de la enfermedad (3).

1. El primer paso debe contemplar el ataque en estadíos tempranos de la infección, actuando a nivel periférico; una alternativa sería prevenir la maduración de células dendríticas a través de una supresión linfocítica para de esta manera eliminar lo que hasta ahora se considera la zona principal de reservorio. Igualmente se plantea la esplenectomía como forma de eliminación del reservorio de infectividad, claro está que hipotéticamente serían medidas efectivas pero únicamente de ser aplicadas en una fase inicial

(41).

Se ha comprobado que la ausencia de células B y anticuerpos se correlaciona con el no desarrollo de la infección y se ha vinculado fuertemente con el proceso de neuroinvasión; aun cuando la supresión total de células B está fuera de lugar, es preciso investigar a profundidad su rol y sus interacciones con otros elementos que podrían ser blancos de ataque más factibles (3,19,21,45).

2. Otra estrategia de inmunoterapia sería el uso de moléculas que regulen la respuesta inmunitaria (inmunomoduladores). Al respecto se sabe que en contraste a los efectos que ejercen sobre las patologías infecciosas convencionales, los inmunopotenciadores como la fitohemaglutinina (PHA) más bien potencian la infectividad prionica (casos similares se han descrito con BCG y virus vaccinios) (41).

Otras sustancias que además de su efecto antiviral son capaces de producir otros efectos en la respuesta inmunitaria son los interferones; es bien sabido que en las infecciones virales estos pueden producir una disminución notoria de la inmunidad celular, disminución de receptores y agammaglobulinemias transitorias que de alguna forma influirían en lo descrito en el punto anterior; sin embargo, en una revisión de 20 trabajos no se describe cambio alguno en estas enfermedades e igual sucede para el caso de la ciclofosfamida (3,41).

Sin embargo se ha descrito experimentalmente la efectividad de ciertas sustancias como el acetato de prednisona, el aceite de arachis y los polianiones; estos últimos proveen un largo período de ventana a la infección, reduciendo los títulos de infección hasta en un 90 % siempre y cuando se administre continua y constantemente durante un rango estricto (semanas) antes o después de la infección. En todo caso es necesario comprender que ninguno de estos tratamientos son efectivos cuando se ha instalado la infección en el SNC.

3. El uso de ciertas sustancias como el glicerol, dimetilsulfoxido (DMSO) y el trimetilamonio (TMAO) han demostrado tener funciones de gran importancia como son la propiedad de estabilizar las proteínas en su conformación nativa (lo cual impediría modificaciones pos-transcripcionales), proteger a las proteínas de la desnaturalización térmica y como hecho curioso estas sustancias además de evitar la agregación *in vitro*,

estabilizan a la PrP disminuyendo su conversión a la forma no constitutiva (3).

Este grupo de sustancias reciben, en general, el nombre de moléculas chaperonas y no son más que proteínas que facilitan el plegamiento de los polipéptidos que se sintetizan en el retículo endoplasmático para asegurar su estabilidad. Otras como las proteínas de stress o *shock* térmico, se sintetizan cuando aumenta la temperatura, ocurre trauma u otro *stress* físico. Estas moléculas protegen otras proteínas propias de las células de los procesos de degradación, pero su papel en estas patologías no ha sido determinada (3,5).

Es importante citar a este nivel el papel de la proteína X. Utilizando células de neuroblastoma de ratón infectadas con scrapie y transfectadas con el gen quimérico HU/MO PrP se extendieron los estudios acerca de esta proteína. La sustitución de un residuo HU en la posición 214 ó 218 prevenía la formación de PrP^{SC}. Las cadenas laterales de estos residuos protrúan de la misma superficie del extremo COOH-terminal de la hélice a formando un epitope discontinuo con los residuos 167 y 171 en asas adyacentes. Sustitución de residuos básicos en las posiciones 167,171 ó 218 prevenían la formación de PrP^{SC}, éstas PrP's mutantes parecen actuar como "dominantes negativas" ligando a la proteína X e inactivándola para el proceso de propagación del prion. Estos resultados experimentales parecen explicar el efecto protector de los residuos básicos polimórficos en las PrP tanto de humanos como de animales.

Pudiendo constituir éstas un área de importante potencial terapéutico, debe ahondarse más. Como es sabido la PrP transcurre en una profunda transición estructural, durante la propagación del prion, muchas proteínas como las chaperonas participan en este proceso, cabe preguntarse entonces si la proteína X funge como una chaperón molecular clónico, otorgando ventajas protectoras o facilita el rol patógeno de la PrP. Lo cierto es que los estudios son sugestivos y que hasta el momento no se ha descrito chaperón molecular alguno que intervenga en la formación del prion (35,42,54).

Hasta el momento interferir en la conversión de PrP^C a PrP^{SC} parece ser la alternativa terapéutica más atractiva. De esta manera las estrategias más razonables serían: estabilizar la estructura de la PrP^C vía formación de un complejo droga-

PrP^C o mediante la modificación de la acción de la proteína X, la cual podría fungir como un chaperón molecular. Aun está por determinarse si resulta más efectivo diseñar una droga que se ligue a la PrP^C al sitio de unión de la proteína X o una droga capaz de mimetizar la estructura de la PrP^C con residuos polimórficos básicos capaces de prevenir la infección (35,42,54).

4. Dentro del esquema de inmunoterapia debe considerarse también el rol de las interleuquinas y citoquinas. Aun cuando no existe mayor información experimental al respecto, si hay ciertos detalles que son esenciales a considerar y que plantean la manipulación con TNF α como alternativa terapéutica, especialmente en la fase inicial periférica de la infección como se describe en el experimento a continuación.

Utilizando ratones inmunodeficientes, se investigaron los tipos celulares a nivel esplénico que intervenían en el proceso infeccioso y su propagación. En los ratones carentes de TNF (TNF α ⁻¹) se evidenció la carencia de centros germinales y células dendríticas foliculares. En contraste en los tejidos de ratones carentes de Il-6 (Il-6⁻¹) las cuales expresaban centros de conexión y células dendríticas foliculares con centros germinales inconstantes. Cuando ambas cepas de ratones TNF α ⁻¹ e Il-6⁻¹ fueron inoculados directamente al SNC (con la cepa Sc ME7) 100 % de ellos fueron susceptibles desarrollando la enfermedad en un corto período de incubación; no obstante al ser inoculados periféricamente la mayoría de los TNF α ⁻¹ no desarrollaron enfermedad en tanto que los Il-6⁻¹ sucumbieron en su totalidad. Todo esto indica el importante papel de las células dendríticas foliculares en la replicación periférica y como la neutralización del TNF α constituye una alternativa terapéutica (49).

La sobre-expresión de TNF α ha sido interpretada como una llave inicial en el desarrollo de patologías inflamatorias, infecciosas y autoinmunes del SNC (incluyendo la meningitis, esclerosis múltiple y malaria cerebral). La neutralización de este en roedores previene lesiones inflamatorias y desmielinizantes, en encefalomiелitis autoinmunes experimentales. La inducción de Il-1 α , Il-1 β , Il-6 y TNF α ha sido reportada en modelos de scrapie en roedores, sugiriendo que las citoquinas juegan un papel importante en la patogénesis neurodegenerativa

y por ende un importante blanco terapéutico (49).

5. La creación de animales *knock-out* aporta otra alternativa; se ha demostrado que tras eliminar el gen que codifica para la PrP no ocurren consecuencias fisiológicas, resultando el papel de la PrP constitutiva no esencial para ningún proceso. El problema de estos planteamientos en la rama terapéutica radica en la forma de depositar polinucléotidos terapéuticos en el SNC (3).
6. Últimamente se ha experimentado con el uso de ciertas sustancias que han demostrado algunos efectos; el mecanismo de acción de la anfotericina no se conoce, pero se sabe que tanto el Rojo Congo como ciertos antibióticos derivados de la antraciclina se unen, intercalan y clivan la altamente ensamblada estructura de la PrP^{Sc} (42,55).

Desafortunadamente la investigación en el desarrollo de nuevos fármacos para esta área no resulta atractiva a la industria farmacéutica por su baja incidencia, tal vez con el surgimiento de la epidemia de encefalopatía bovina se haga necesario el desarrollo de nuevos agentes. Si la industria no se toma este esfuerzo las consecuencias serán inmensurables.

IX. Consideraciones en dermatología

IX. I La piel y la proteína prionica

En la última década la piel ha sido blanco de invalorable investigaciones médico- biológicas, que nos han mostrado a ésta como un órgano complejo, en donde se desarrollan innumerables interacciones celulares y moleculares, que intervienen en complicados sistemas de regulación y en mecanismos de control de suma importancia frente a nuestro medio ambiente (56).

Ambas capas de la piel, tanto el componente externo o epitelial (epidermis) así como el componente interno (dermis o corión) albergan nutridos grupos celulares. La epidermis presenta tres tipos de células que facilitan sus características funcionales, éstas son: 1. Los melanocitos, 2. Las células Langerhans y 3. Las células de Merkel. Por su parte, las células que incluyen la dermis: son básicamente fibroblastos, macrófagos y mastocitos (56-58).

Todas estas células juegan un papel en la homeostasis y respuesta inmune de la piel, especial mención

merecen dos de las constituyentes de la epidermis. Por un lado, las células de Langerhans que son células histiocíticas, dendríticas, que captan y procesan las señales antigénicas y comunican esta información a las células linfoides (27,59-61), cuyo rol junto a los macrófagos ha sido ampliamente desarrollado en lo que respecta a la fase periférica de la infección por priones. Y, por otra parte, las células epiteliales escamosas o queratinocitos consideradas elementos de extrema importancia en la biosíntesis de citoquinas fundamentales para la regulación funcional de las células epidérmicas adyacentes y de las muchas otras que constituyen el microambiente dérmico (62,63).

La isoforma constitutiva de la proteína prionica se expresa en numerosos tejidos y grupos celulares, fungiendo un amplio número de funciones ya descritas y encontrándose las más altas concentraciones en el SNC (3,5,40). En piel, se ha detectado la proteína prionica en su forma constitutiva por medio de técnicas inmunohistoquímicas en queratinocitos. Curiosamente, además de su caracterización *in vitro*, la expresión de la PrP^c en estas células ha presentado una fuerte sobreexpresión en pacientes con enfermedades inflamatorias de la piel (eczema, psoriasis y ulceraciones) (64).

IX. II Dermatopatogenia

Hasta el momento se ha descrito la transmisión horizontal de la infección prionica en pacientes que han recibido trasplantes de córnea (36), pacientes que han sido expuestos a equipos neuroquirúrgicos contaminados, por contacto con secreciones contaminadas, como por ejemplo de mucosa nasal (38) e, incluso se ha propuesto la vía transfusional (37). Sin embargo, antes del advenimiento de la tecnología recombinante y hasta el momento, el uso de la hormona de crecimiento extraída de cadáveres humanos constituye la fuente iatrogénica de infección más importante.

Se ha comprobado que las superficies epiteliales constituyen una puerta de entrada importante para la proteína criónica, si existe una lesión previa que haga vulnerable la propiedad de barrera, o incluso, si se inocula directamente el material contaminado. Esto ha sido demostrado experimentalmente practicando escarificados de piel con material quirúrgico contaminado en ratones inmunocompetentes que luego han desarrollado la enfermedad (65). Es importante resaltar este hecho, ya que constituye un factor de transmisión ocupacional para

personal de laboratorio, médicos y personal que labore en salas de autopsias y que pueda exponerse incidentalmente o infectarse tras entrar en contacto con material contaminado (65,66).

Las evidencias experimentales indican que la ruta de infección transdérmica constituye el mismo riesgo al que implica la inoculación intravenosa o intraperitoneal (65,66).

Para la ocurrencia de la infección, tras la exposición a la PrP^{sc} se plantea que ocurra una primera y esencial interacción con el tejido linfóide asociado a piel y mucosas, de donde posteriormente pudiera ocurrir propagación a otros órganos linfoides a nivel sistémico (67,68). Aun cuando no se han encontrado evidencias empíricas que respalden que células de la periferia sean las encargadas de transportar a los priones, los macrófagos parecen fuertemente implicados en este proceso, tanto por su propiedad fagocíticas, así como por su movilidad (44). Sin embargo, no debe perderse de vista otro grupo celular de vital importancia como lo son las células de Langerhans, las cuales proporcionan la principal vía de presentación a las células T nativas de los antígenos que penetran por vía cutánea (27,61).

Las células de Langerhans por tratarse de un tipo de células dendríticas podrían servir como reservorio del agente prionico, durante una primera fase de latencia (periférica) (51-53). Éstas, tras unir al agente, lo interiorizan y lo procesan, para migrar desde la epidermis a los vasos linfáticos, y de aquí a los ganglios. Seguida y finalmente, residen en las regiones parafoliculares de la corteza (donde reciben el nombre de células dendríticas interdigitantes) y donde su función es la de presentar al antígeno a las células T CD4⁺ nativas (61).

No obstante, distintos péptidos de la proteína prionica son presentados en asociación con antígenos del complejo mayor de histocompatibilidad tipo II. Este complejo, por tanto, resulta en la activación de las células T CD4⁺ específicas, que contrariamente a lo que se creyó por tanto tiempo sí conlleva a una respuesta específica hacia la PrP no constitutiva, como ha sido demostrado por la producción de anticuerpos (69).

Es importante destacar igualmente, el rol que juegan los linfocitos B en el proceso de neuroinvasión a nivel periférico. Tal vez la ruta de propagación más prominente ocurre cuando las células B contactan con las terminaciones nerviosas, sobre todo a nivel esplénico (21). Sin embargo, esto no descarta el papel que puedan jugar otras células de

transferencia.

El contacto directo de la PrP^{sc} con los terminales nerviosos (estableciendo un corto circuito al sistema linforeticular) parece ser la vía menos eficiente de todas (21), resaltando el importante papel del sistema inmune en esta patología. Asimismo, debe destacarse que la transferencia física del agente infeccioso de una célula linfoide a una neurona debiera ser mediada por una molécula “ligando”, función para la cual se ha propuesto a la proteína “X”, ya mencionada con anterioridad (21).

IX. III Riesgo de transmisión en dermatología

Como ya se ha mencionado, los priones pueden adherirse a superficies metálicas como en el caso de electrodos (39), así como piezas de instrumental quirúrgico, constituyendo estas superficies metálicas vehículos excelentes para la contaminación experimental (68,70). Esta característica, sumada al hecho de que la PrP^{sc} es ampliamente resistente a los mecanismos tradicionales de esterilización, se añaden para conferir una situación de alto riesgo. La esterilización instrumental de acero inoxidable utilizando formaldehído (3,70) y exposición a altas temperaturas han fallado en la eliminación del agente; distinguiéndose incluso una alta estabilidad al calor de la isoforma no constitutiva que puede llegar a superar los 150 grados en comparación con la forma constitutiva del prion (70).

Además del uso del material quirúrgico contaminado los dermatólogos deben mantenerse alertas en el uso de productos biológicos empleados en el área de la cosmetología (66,68), sobre todo de aquellos que deriven del uso de tejidos bovino (64,68), y humanos (66). Es importante en primera instancia, mencionar el uso de soluciones inyectables de colágeno bovino hoy disponibles en varias presentaciones en el mercado, ya que ha sido durante largo tiempo reconocido como un material altamente biocompatible para el uso de implantes dérmicos (68). Sin embargo, hoy en día, posterior a la epidemia de encefalopatía bovina espongiforme, se han extremado las medidas de bioseguridad por parte de la *Food and Drug Administration* (FDA) y la USDA (*Animal and plant health inspection service*) (66). Los derivados del ácido hialurónico utilizados para relleno y aumento tisular (71) así como los injertos utilizados para la cicatrización de heridas, teóricamente transmiten la enfermedad (68).

Aun cuando no se han encontrado evidencias

certeras del contagio por vía transfusional o por el uso de derivados sanguíneos (37) el uso de la toxina botulínica empleados para fines estéticos ha sido cuestionado, ya que los derivados comerciales existentes hoy en día consisten de la neurotoxina asociada a albúmina sérica humana a fin de estabilizar el complejo y prevenir su agregación en superficies (66). Para prevenir los riesgos de infección la FDA ha ampliado los criterios de exclusión de los “pool” de donantes.

En conclusión, aun cuando no se ha documentado casos de contagio por vía transfusional, uso de hemoderivados, plasma, neurotoxinas o compuestos tisulares animales, no deben descuidarse las medidas de vigilancia clínico-epidemiológicas así como el riguroso monitoreo en los procesos de manufactura de productos biológicos.

REFERENCIAS

1. Sutcliffe J, Duin N. Historia de la Medicina. Desde la prehistoria hasta el año 2020. Barcelona: Editorial Blume. Naturat, S.A; 1993.
2. Gajdusek C. Unconventional viruses and the origin and disappearance of Kuru. *Science*. 1977;197:943- 958.
3. Vogel G. Prusiner recognized for once- Heretical prion theory. *Science*. 1997; 278: 214-215.
4. Prusiner S, Hsiao K. Human prion diseases. *Ann Neurology*. 1994;4:385-395.
5. The Encyclopedia of Molecular Biology. Oxford: Blackwell Science. Osney Mead; 1994.
6. Haywood A. Mechanisms of disease: Transmissible spongiform encephalopathies. *New Engl J Med*. 1997;337:1821-1828.
7. Piccardo P, Langeveld J, Hill A, Dlouhy S, Young K, Giaccone B, et al. An antibody raised against a conserved sequence of the prion protein recognizes pathological isoforms in human and animal prion diseases, including Creutzfeldt- Jakob disease and bovine spongiform encephalopathy. *Am J Pathol*. 1998;152:1415-1420.
8. Kuznetsov I, Morozov P, Matushkin Y. Prion proteins: Evolution and preservation of secondary structure. *Federation of European Biochemical Societies*. 1997;412:429-432.
9. Prusiner S, Scott M, DeArmond S, Cohen F. Prion protein biology. *Cell*. 1998;93:337-348.
10. Hope J, Baybutt H. The key role of the membrane protein PrP in scrapie- like diseases. *Semin Neurosci*

ASPECTOS INMUNOPATOLÓGICOS DE LA INFECCIÓN POR PRIONES

- 1991;3:165-171.
11. Prusiner S. Genetic and infectious prion diseases. *Arch Neurol.* 1993;50:1129-1152.
 12. Prusiner S. Molecular biology of prion diseases. *Science.* 1991;252:1515-1522.
 13. Prusiner S. Prions. *Scientific American.* 1984;251:50-59.
 14. Prusiner S. The prion diseases. *Scientific American.* 1995;272:48-51.
 15. Telling G, Parchi P, DeArmond S, Cortelli P, Montagna P, Gabizon R, et al. Evidence for the conformation of the pathologic isoform of the prion protein enciphering and propagating prion diversity. *Science.* 1996;274:2079-2082.
 16. Aguzzi A, Brandner S. The genetics of prions – a contradiction in terms? *Lancet.* 1999;354:22-25.
 17. Mabbott NA, Brown KN, Manson J, Bruce ME. T-lymphocyte activation and the cellular form of the prion protein. *Immunology.* 1997;92:161-165.
 18. McFarlin DE, Raff MC, Simpson E, Nehlsen SH. Scrapie in immunologically deficient mice. *Nature.* 1971;233:336.
 19. Klein M, Frigg R, Flechsig E, Raeber A, Kalinke U, Zinkernagel R, Aguzzi A. A crucial role for B cells in neuroinvasive scrapie. *Nature.* 1997;390:687-690.
 20. Klein M, Frigg R, Raeber A, Flechsig E, Hegyi I, Zinkernagel R, et al. PrP expression in B Lymphocytes is not required for prion neuroinvasion. *Nature Medicine.* 1998;4:1429-1433.
 21. Brown P. B Lymphocytes and neuroinvasion. *Nature.* 1997;390:662-663.
 22. Mabbott N, Bruce M. The immunobiology of TSE diseases. *J General Virology.* 2001;82:2307-2318.
 23. Fraser H, Brown KL, Stewart K, McConnell I, McBride P, Williams A. Replication of scrapie in spleens of SCID mice follows reconstitution with wild-type mouse bone marrow. *J General Virology.* 1996;77:1935-1940.
 24. Raeber A, Klein M, Frigg R, Flechsig E, Aguzzi A, Weissmann C. PrP- dependent association of prions with splenic but not circulating lymphocytes of scrapie-infected mice. *EMBO Journal.* 1999;18:2702-2706.
 25. Frigg R, Klein M, Hegyi I, Zinkernagel R, Aguzzi A. Scrapie pathogenesis in subclinically infected B- cell deficient mice. *J Virol.* 1999;73:9584- 9588.
 26. Kosco-Vilbois MH, Zentgraf Gerdes, J, Bonnefoy J-Y. To B or not to B a germinal center? *Immunology today.* 1997;18:225-230.
 27. Rojas W. *Inmunología.* Colombia: Corporación para Investigaciones Biológicas. 1999.
 28. Van Den Berg TK, Yoshida K, Dukstra CD. Mechanisms of immune complex trapping by follicular dendritic cells. *Current Topics in Microbiology and Immunology.* 1995;201:49-63.
 29. Klein M, Kaeser PS, Schwarz Weyd H, Xenarios I, Zinkernagel R, Carroll MC, et al. Complement facilitates early prion pathogenesis. *Nature Medicine.* 2001;7:488-492.
 30. Pepys MB. Role of complement in the induction of immunological responses. *Transplant Reviews.* 1976;32:93-120.
 31. Nielsen CH, Fischer EM, Leslie RG. Q. The role of complement in the acquired immune response. *Immunology.* 2000;100:4-12.
 32. Mabbott NA, Bruce ME, Botto M, Walport MJ, Pepys MB. Temporary depletion of complement component C3 or genetic deficiency of C1q significantly delays onset of scrapie. *Nature Medicine.* 2001;7:485-487.
 33. Botto M, Dell’Agnolla C, Bygrave AE, Thompson EM, Cook HT, Petry F, et al. Homozygous C1q deficiency causes glomerulonephritis associated with multiple apoptotic bodies. *Nature Genetics.* 1998;19:56-59.
 34. Taylor PR, Nash JT, Theodoridis E, Bygrave AE, Walport MJ, Botto M. A targeted disruption of the murine complement factor B gene resulting in loss of expression of three genes in close proximity, factor B, C2 and D17H6S45. *J Biol Chemistry.* 1998;273:1699-1704.
 35. Prusiner S. Prion diseases and the BSE crisis. *Science.* 1997;278:245-251.
 36. Fraser JR. Infectivity in extraneural tissues following intraocular scrapie infection. *J General Virol.* 1996;77:2663-2668.
 37. Brown P. Variant CJD transmission through blood: Risks to predictors and “predictees”. *Transfusion.* 2003;43:425-427.
 38. Senior K. Prions – they really do get up your nose. *The Lancet Infectious Diseases.* 2003;3:182.
 39. Antoine JC, Michel D, Bertholon P, Mosnier JF, Laplanche JL, Beaudry P, et al. Creutzfeldt- Jakob disease after extracranial dura mater embolization for a nasopharyngeal angiofibroma. *Neurology.* 1997;48:1451- 1453.
 40. Ramasamy I, Law M, Collins S, Brooke F. Organ distribution of prion proteins in variant Creutzfeldt-Jakob disease. *The Lancet Infectious Diseases.* 2003;3:214-222.
 41. Neil A, Mabbott C, Farquhar K, Brown L, Bruce M.

- Involvement of the immune system in TSE Pathogenesis. *Immunology Today*. 1998;19:201-203.
42. Aguzzi A, Weissmann C. Prion research: The next frontiers. *Nature*. 1997;389:795-798.
 43. Kimberlin RH, Walker CA. *J General Virol*. 1980;51:183-187.
 44. Raeber A, Aguzzi A. Engulfment of prions in the germinal centre. *Immunology Today*. 2000;21:66-67.
 45. Beringue V, Demoy M, Lasmézas C, Gouritin B, Weingarten C, Deslys J-P, et al. Role of spleen macrophages in the clearance of scrapie agent early in pathogenesis. *J Pathol*. 2000;190:495-502.
 46. Streit W, Kincaid-Colton C. The brain's immune system. *Scientific American*. 1995;273(5):38-43.
 47. Gambetti P. Prion in progressive subcortical gliosis revisited. *Neurology*. 1997;49:309-310.
 48. Kopacek J, Sakaguchi S, Shigematsu K, Nishida N, Atarashi R, Nakaoke R, et al. Upregulation of the genes encoding lysosomal hydrolases, a perforin-like protein, and peroxidases in the brains of mice affected with an experimental prion disease. *J Virol*. 2000;74(1):411-417.
 49. Mabbott N, Williams A, Farquhar C, Pasparakis M, Kollias G, Bruce M. Tumor necrosis factor alpha-deficient, but not interleukin-6-deficient, mice resist peripheral infection with scrapie. *J Virol*. 2000;74:3338-3344.
 50. Rizzardini M, Chiesa R, Angeretti N, Lucca E, Salmona M, Forloni G, et al. Prion protein fragment 106-126 differentially induces heme oxygenase-1 mRNA in cultured neurons and astroglial cells. *J Neurochemistry*. 1997;68:715-720.
 51. Kitamoto T, Muramoto T, Mohri S, Doh-Ura K, Tateishi J. Abnormal isoform of prion protein accumulates in follicular dendritic cells in mice with Creutzfeldt-Jacob disease. *J Virol*. 1991;65:6292-6295.
 52. Manuelidis L, Zaitsev I, Koni P, Yun Lu Z, Flavell R, Fritch W. Follicular dendritic cells and dissemination of Creutzfeldt-Jacob disease. *J Virol*. 2000;74:8614-8622.
 53. McBride P, Eikelenboom P, Kraal G, Fraser H, Bruce M. PrP Proteins is associated with follicular dendritic cells of spleens and lymph nodes in uninfected and scrapie-infected mice. *J Pathol*. 1992;168:413-418.
 54. Kaneko K, Zulianello L, Scott M, Cooper C, Wallace A, James T, et al. Evidence for protein X binding to a discontinuous epitope on the cellular prion protein during scrapie prion propagation. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1997;94:10069-10074.
 55. Milhavet O, Mangé A, Casanova D, Lehmann S. Effect of congo red on wild-type and mutated prion proteins in cultured cells. *J Neurochemistry*. 2000;74:222-230.
 56. Robbins, Crotan y Kumar. *Patología Estructural y Funcional Interamericana*. México: MacGrawHill; 1996;1.
 57. Fitzpatrick T. *Dermatology in General Medicine*. Vol. 1. EE.UU: MacGrawHill; 1993;1.
 58. Craigmyle MBL. *Atlas a Color de Histología*. España: Year Book Medical Publisher. 1975.
 59. Shelley WG, Juhlin L. Langerhans cells form a reticuloendothelial trap for external contact antigens. *Nature*. 1976;261:46-47.
 60. Murphy GF. Cell membrane glycoproteins and Langerhans cells. *Hum Pathol*. 1985;16(2):103-112.
 61. Abbas A, Lichtman A, Pober J. *Inmunología celular y molecular*. España: Interamericana. MacGrawHill; 1985.
 62. Kupper TS. Production of cytokines by epithelial tissues. A new model for cutaneous inflammation. *Am J Dermatopathol*. 1989;11(1):69-73.
 63. Spom MD, Roberts AB. Peptide growth factor are multifunctional. *Nature*. 1988;332:217.
 64. Pammer J, Weninger W, Tschachler E. Human Keratinocytes express cellular prion-related protein in vitro and during inflammatory skin diseases. *Am J Pathol*. 1998;153:1353-1358.
 65. Taylor DM, McConnel I, Fraser H. Scrapie infection can be established readily through skin scarification in immunocompetent but not immunodeficient mice. *J Gen Virol*. 1996;77:1595-1599.
 66. Carruthers J, Carruthers A. Mad cows, prions and wrinkles. *Arch Dermatol*. 2002;138:667-670.
 67. Aguzzi A. Prion disease, blood and the immune system: Concerns and reality. *Haematologica*. 2000;85:3-10.
 68. Lupi O. Prions in dermatology. *J Am Acad Dermatol*. 2002;790-793.
 69. Stoltze L, Rezaei H, Jung G, Grosclaude J, Debey P, Schild H, et al. CD4⁺ T Cell-mediated immunity against prion proteins. *Cell Mol Life*. 2003;60:629-638.
 70. Zobeley E, Fleschsig E, Cozzio A, Enari M, Weismann C. Infectivity of scrapie prions bound to a stainless steel surface. *Mol Med*. 1999;2:240-243.
 71. Piacquadio D, Jarcho M, Goltz R. Evaluation of hyaluronate gel as a soft-tissue augmentation implant material. *J Am Acad Dermatol*. 1997;36:544-549.