

Proteínas Prion, origen, estructura, papel fisiológico y patológico en animales y humanos

Dr. José A. O'Daly Carbonell

Individuo de Número Sillón XXIII

La palabra proteína viene del griego “proteios”, que significa “primario”, que “ocupa el primer puesto”, que “es del primer rango”. Harold Hartley en su discurso para conmemorar el centenario de la muerte de Bertzelius encontró que este sugirió la palabra proteína a Mulder en carta escrita desde Estocolmo el 10 de julio de 1838 (1). Las investigaciones de Mulder comenzaron en 1835 con análisis químicos de la seda y luego extendidas a la fibrina, albumina sérica y del huevo, gelatina y glutenina usando ácidos y álcalis (2). Mulder encontró en forma regular radicales básicos oxidados combinados en relación simple con azufre y fósforo dándole a la sustancia el nombre como ellas se encontraron en la naturaleza (2). La palabra fue tomada del griego para significar que son las moléculas más importantes en los organismos vivos. Una proteína consiste en uno o varios polipéptidos formados por más de 100 aminoácidos de tamaño en una secuencia lineal. Un aminoácido es una molécula orgánica con un grupo amino ($-NH_2$) y un grupo carboxilo ($-COOH$), los más frecuentes y de mayor interés son los que forman parte de las proteínas; juegan un papel clave en todos los procesos biológicos. Dos aminoácidos se combinan en una reacción de condensación entre el grupo amino de uno y el carboxilo del otro, liberando una molécula de agua y formando un enlace amida que se denomina enlace peptídico; estos dos residuos de aminoácido forman

un dipéptido, si se une un tercer aminoácido se forma un tripéptido y así, sucesivamente, hasta formar un polipéptido. Esta reacción tiene lugar de manera natural, en los ribosomas. En el código genético están codificados los veinte aminoácidos, también llamados residuos, que constituyen los eslabones que conforman péptidos, que cuando forman cadenas polipeptídicas y alcanzan pesos moleculares se denominan proteínas. Todos los aminoácidos componentes de las proteínas son L-alfa-aminoácidos. Esto significa que el grupo amino está unido al carbono contiguo al grupo carboxilo (carbono alfa) o, dicho de otro modo, que tanto el carboxilo como el amino están unidos al mismo carbono; además, a este carbono alfa se unen un hidrógeno y una cadena, habitualmente denominada cadena lateral o radical R, de estructura variable, que determina la identidad y las propiedades de cada uno de los diferentes aminoácidos. Existen cientos de radicales por lo que se conocen cientos de aminoácidos diferentes, pero sólo 22, los dos últimos fueron descubiertos en los años 1986 selenocisteína y 2002 pirrolisina, forman parte de las proteínas y tienen codones específicos en el código genético. El orden secuencial de los aminoácidos lineales es la estructura primaria de las cadenas polipeptídicas el factor más importante en el establecimiento de la estructura tri-dimensional, para estabilizarla el grupo sulfhidrilo $-SH$ de la cisteína reacciona con el mismo, para formar puentes disulfuro

entre los polipéptidos mediante una reacción de reducción (3). Las proteínas pueden consistir de un solo polipéptido como la mioglobina, o de múltiples cadenas unidas por dos enlaces disulfuro como en la insulina. Proteínas más complejas consisten de múltiples cadenas unidas por fuerzas no covalentes, algunas con estructuras orgánicas como el grupo Heme en la hemoglobina, esencial para el transporte de oxígeno. La hemoglobina contiene 4 polipéptidos dos de una clase y dos de otra, unidos por fuerzas no covalentes, especialmente puentes de hidrógeno formando regiones de estructuras ordenadas dentro de la proteína, con un tipo muy común las estructuras en hélices alfa descubiertas por Linus Pauling (3). Los efectos de las estructuras alfa ordenadas locales, de los puentes disulfuro y de las estructuras orgánicas adicionales, forman la estructura secundaria de la proteína, base de su configuración tridimensional o estructura terciaria, establecida en detalle mediante la cristalografía con Rayos-X, necesaria para comprender las acciones químicas y fisiológicas de las moléculas proteicas ya que su acción más significativa comprende un sitio activo muy pequeño en una molécula muy grande. Las proteínas están en un estado constante de recambio, en un hombre de 70 kg, es alrededor de 400 g/día de los cuales 300 g/día son reciclados para las nuevas proteínas y de 30-100 g/día degradados, hasta amonio, NH_3 y luego urea $\text{H}_2\text{N-CO-NH}_2$, que es la forma en que el amonio es excretado, lo cual continúa aun en ausencia de ingesta alimentaria. Las proteínas en los organismos vivos consisten de 22 aminoácidos diferentes de los cuales los humanos sintetizan la mitad, el resto debe tomarse de los alimentos. Se sabe que existen al menos 150 aminoácidos la mayoría no están en las proteínas, aunque algunos pueden encontrarse en materiales biológicos (3).

El término Prion se deriva de la frase "*Proteinaceous Infectious Particle*". Griffith en 1967 postuló que las proteínas pueden ser patógenos infecciosos responsables del Scrapie, una encefalopatía esponjiforme transmisible (EET) fatal, en cabras y carneros. Este descubrimiento se cristalizó en 1982 cuando Prusiner purificó las partículas infecciosas de un cerebro de Hámster infectado con Scrapie demostrando que consistían de una proteína específica que llamó Prion, que se deriva de

una forma proteica endógena celular en el sistema nervioso central (SNC). A diferencia de bacterias, virus y hongos, los Priones no contienen material genético como ADN o ARN. La única información genética de los Priones está codificada en la estructura conformacional y las modificaciones pos-traslacionales de la proteína. Los desarrollos en la biología de los Priones van mucho más allá de una simple proteína y la enfermedad por ella producida (4).

Las enfermedades por Priones que afectan animales y humanos pertenecen a la clase de desórdenes neurodegenerativos, que incluyen la enfermedad de Alzheimer (EA), enfermedad de Huntington (EH) y la enfermedad de Parkinson (EP). La primera enfermedad por Priones conocida fue el Scrapie, encontrada en haciendas en Europa, en el siglo XVIII (5). El nombre se deriva de la palabra "scrape" o rascarse pues los carneros y cabras se rascaban la piel hasta desgarrarla por el prurito que induce la enfermedad. Siguiendo el análisis de Griffith, la letra china para prurito es 𠄎 o 𠄎𠄎, y R. Wickner propuso que Scrapie se origina en la China Antigua, (5) pues el carácter para picazón (𠄎) es una combinación del carácter para enfermedad (𠄎) y carnero (𠄎), para indicar el síntoma visto en los carneros (𠄎𠄎 en Chino). Otra asociación es que la pronunciación del carácter para prurito (𠄎) es exactamente la misma que el carácter chino para carnero (𠄎), símbolos desarrollados hace 2000 – 3000 años, por lo tanto el Scrapie ha debido existir durante ese tiempo (5). Aunque la naturaleza infecciosa del Scrapie se conocía desde el Siglo XVIII su transmisibilidad solo fue probada experimentalmente en 1936 (6). Actualmente el Scrapie se ha encontrado en todo el mundo, existiendo en dos formas, la clásica y la atípica (7) cada una con características clínicas, epidemiológicas, moleculares e histopatológicas específicas. Además del Scrapie también se han encontrado en animales la Enfermedad crónica debilitante (ECD) y la Enfermedad de las Vacas Locas también conocida como Encefalopatía Espongiforme Bovina (EEB) que apareció en el ganado en el Reino Unido (UK) en 1984 (8), evolucionando rápidamente en una epidemia en 2004 con más de 180 000 casos de EEB, identificada en más de 23 países incluyendo Canadá y EE.UU. Además de la forma inicialmente identificada como la EEB

clásica tipo C, existen dos tipos atípicos, el H y el L también identificados en el 2004 (9,10,11). El descubrimiento de un puente entre una nueva variante de la enfermedad Creutzfeldt-Jakob (ECJ) en humanos y la epidemia de la enfermedad de las Vacas Locas trajo a los Priones bajo el ojo público en la mitad de la década de los 1990 (12). Hasta hoy se han encontrado 200 casos de ECJ (13). La ECD es una enfermedad por priones no humana que afecta el alce de las montañas rocosas, el alce común, venado de cola blanca, y el ciervo mulo (14). Se encuentra en poblaciones salvajes y cautivas en 22 estados en EE.UU y 3 provincias en Canadá (15). Debido al consumo de carne de alce y venado de cacería por miles cada año, es posible que cohortes de personas en Norte América sean portadores de priones de ECD por el consumo de carne infectada. Sin embargo, no hay evidencias de que la ECD se haya transmitido a los humanos de los animales infectados. Los estudios de transmisión en ratones transgénicos (Tg) que expresan el Prion humano PrP después de la inoculación intracerebral de ECD no han sido exitosos (16,17). Las enfermedades por Priones no solamente son transmisibles a los

animales y a los humanos sino son altamente heterogéneas. Las características clínicas y patológicas de la enfermedad de Alzheimer (EA) descritas en el primer caso por el médico alemán Alois Alzheimer en 1907 son todavía la marca diagnóstica para la enfermedad (18). A.M.Jakob consideró erróneamente una nueva enfermedad conocida como enfermedad de Creutzfeldt Jakob (ECJ) en 1921 la cual era la misma que describió previamente H. G. Creutzfeldt en 1920 (19,20,21). Aunque representan enfermedades diferentes ambos nombres han sido unidos desde ese tiempo. El problema es más complicado pues solo dos de los cinco casos originales de Jakob satisfacen los criterios diagnósticos actuales para las enfermedades por Priones (22,23). Sin embargo, más de medio siglo ha transcurrido desde el primer reporte de la ECJ agrupada en la misma categoría del Scrapie (24). En los 100 años desde el descubrimiento de ECJ se han encontrado otras enfermedades por Priones (Cuadro 1).

En base a las historias clínicas y a los hallazgos neuropatológicos unidos al tipeaje molecular la ECJ esporádica (eECJ), es la enfermedad por priones más prevalente puede

Cuadro 1
Enfermedades por Priones o encefalopatías espongiiformes transmisibles (EET)

| Animales afectados | Enfermedades |
|---|---|
| Cabra, carnero Ganado | Scrapie. Encefalopatía Espongiforme Bovina (EEB). y enfermedad de vacas locas. |
| Camello | Encefalopatía Espongiforme del camello (EEC). |
| Alce de las montañas rocosas, alce común, venado de cola blanca, ciervo mulo | Enfermedad crónica debilitante (ECD). |
| Gato | Encefalopatía Espongiforme felina (EEF). |
| Nyala, Kudu mayor antílopes africano | Encefalopatía unglulada exótica (EUE). |
| Avestruz | Encefalopatía Espongiforme. |
| Humanos | Enfermedad Creutzfeldt–Jakob Iatrogénica (ECJI). Variante enfermedad Creutzfeldt–Jakob (vECJ). |
| | Enfermedad Familiar Creutzfeldt–Jakob (EFCJ). Enfermedad esporádica Creutzfeldt–Jakob (EECJ). Síndrome Gerstmann–Sträussler–Scheinker (SGSS). |
| | Insomnio familiar fatal (IFF) Kuru |
| | Encefalopatía espongiiforme familiar(EEF) |

ser categorizada en seis subtipos moleculares y cinco clínicos (25). Además de eECJ existe una forma familiar de la enfermedad en 10 %-15 % de las enfermedades por Priones humanos y está unida a 40 mutaciones diferentes del gen PRNP. Las formas adquiridas de eECJ incluyen la iatrogénica causada por exposición a Priones en procedimientos quirúrgicos médicos (26,27) al consumo de comida contaminada (12) ambas abarcando 2 %-5 % de las enfermedades por Priones. Otros fenotipos prionicos son el síndrome Gerstmann-Sträussler - Scheinker (GSS), el insomnio fatal (IF), la Prionopatía variable proteasa sensible (PrVPS) (27-30), el Kuru restringida a la provincia de Papua en Nueva Guinea adquirida por participación en festines canibalísticos (31,32). A pesar de hechos tan heterogéneos las enfermedades por Priones se caracterizan universalmente por la deposición de la forma de la proteína del Prion Scrapie patógeno PrP^{Sc} en el SNC (33,34). El hallazgo del Prion patógeno PrP^{Sc} como marca de todas las EET ha permitido diagnosticar las enfermedades por Priones a niveles moleculares y patológicos facilitando su identificación en animales y humanos (Cuadro 1), la naturaleza de los priones, y su transmisibilidad. En contraste con los virus, bacterias y hongos los priones contienen aminoácidos pero carecen de ácidos nucleicos. Las especies de Priones que originan varios fenotipos de enfermedades están asociados con conformaciones altamente variables del Prion patógeno PrP^{Sc} (35,36), el cual se deriva de la proteína celular normal PrP^C por un evento conformacional caracterizado por la transición de hélices- α a estructuras de hojas- β (34). El Prion PrP^C normal es una glicoproteína de las membranas celulares en el SNC, también encontrada en otros tejidos y órganos del cuerpo (37). Su función fisiológica permanece mal definida, solo se sabe que juega papel en la reducción del estrés oxidativo, translación de señales celulares, regulación de apoptosis, unión de iones de Cu⁺⁺ en las células, adhesión a la matriz extracelular, y en la formación y mantenimiento de las sinapsis (38). Aunque la prevalencia de la EEB y de su relacionada vECJ ha remitido, una futura epidemia de enfermedades por Priones debido a transmisión interespecies e intraespecies puede aún considerarse posible. Debido a la alta incidencia y prevalencia de la ECD en Norteamérica permanece la posibilidad

de su transmisión a humanos. Además de los hallazgos epidemiológicos, muchas preguntas permanecen sin contestación, en relación con la formación de los priones y la patogénesis de la enfermedad.

Las enfermedades causadas por mal plegamiento de proteínas están asociadas con la proteína Prion PrP, que es una molécula anclada a la membrana con una pequeña porción extracelular cuya función no se conoce completamente. La comprensión de como PrP se pliega en sus formas celular y patológica, es crucial para explicar el mal plegamiento de proteínas y el papel específico de PrP en la enfermedad. Desde la primera determinación de su estructura se han multiplicado los estudios estructurales de PrP encontrando que la proteína está formada por una región N-terminal flexible, y un dominio globular C-terminal altamente conservado. El gen humano de huPrP se encuentra en el cromosoma 20 y codifica a una proto-proteína de 253 aminoácidos antes de su procesamiento celular. En su forma madura los primeros 22 residuos son separados después de su translación mientras que los últimos 23 residuos de aminoácidos son separados antes de la adición del ancla glycosyl phosphoinositol (GPI) a la serina 230 (39). Las PrP son proteínas extracelulares normalmente unidas a la superficie exterior de las membranas celulares mediante anclaje con GPI. Tienen dos sitios glicosilados en los residuos Asn 181 y Asn 197 (40,41) y están altamente conservados en los mamíferos (42,43); huPrP tiene 94,9 %, 99,2 % y 92,8 % de identidad con las secuencias proteicas del carnero, chimpancé y ganado vacuno respectivamente y homologías de 30 % y 50 % de similitud con reptiles y anfibios.

Proteína Prion humana, huPrP

La estructura promedio de los controles muestra que el dominio globular contiene tres hélices- α y una hoja- β anti-paralela que se mantiene estable. La proteína PrP^C normal está dividida en dos regiones con propiedades estructurales y dinámicas diferentes (44). En los mamíferos, el N terminal contiene un número variable, dependiendo del organismo, (45) la repetición del octapeptido PHGGSWGQ, (Cuadro 2) donde cada uno es capaz de unirse

a iones divalentes tales como Cu⁺⁺, (46) y otros, pero la significación fisiológica de estas interacciones permanece sin aclarar. En el caso de pájaros y reptiles se encuentran sexta-péptidos y en ranas no se ven esos patrones de repetición.

Cuadro 2
Códigos de aminoácidos

| Aminoácido | Código tres letras | Código una letra |
|-----------------|--------------------|------------------|
| Alanina | Ala | A |
| Arginina | Arg | R |
| Asparagina | Asn | N |
| Ácido Aspártico | Asp | D |
| Cisteína | Cys | C |
| Glutamina | Gln | Q |
| Ácido Glutámico | Glu | E |
| Glicina | Gly | G |
| Histidina | His | H |
| Isoleucina | Ile | I |
| Leucina | Leu | L |
| Lisina | Lys | K |
| Metionina | Met | M |
| Fenilalanina | Phe | F |
| Prolina | Pro | P |
| Serina | Ser | S |
| Treonina | Thr | T |
| Triptófano | Trp | W |
| Tirosina | Tyr | Y |
| Valina | Val | V |

La porción N-terminal hasta el residuo 120 está flexiblemente desordenada a pH 4.5 (46). Los segmentos HGGGW y GWGQ de los octapeptido repetidos que van de los residuos 61-84 adoptaron la forma de un bucle y como una estructura β respectivamente a pH 6.2 (47), aumentando la población de estructuras secundarias y terciarias en la región de pH 6.2 en comparación a 4.5. Los análisis de la proteína prion del carnero (shPrP) a pH 5.5 con actividad óptica de vibración Raman y espectroscopia con Dicroísmo Circular, sugieren que la porción N-terminal de los residuos 25-93 adoptan una conformación polyprolina II (48), la cual carece de enlaces de hidrógeno en el esqueleto intra-hélice, comprometido en reconocimiento molecular, el cual es un blanco

típico del dominio homología SH3, (49). El reconocimiento del dominio SH3 en el C-terminal de la proteína Grb2 si se encontró pero en la región de los residuos 100-109 (50). El C-terminal de la proteína PrP está estructurado y presenta tres α hélices globulares (H1 , H2 , H3) y una hoja antiparalela β corta de doble cadena (44). Un puente disulfuro entre Cys 179 y Cys 214 une H2 y H3.

Estructuras de proteínas huPrP humana y MoPrP de ratón

El modelo 1 se derivó de las estructuras de Resonancia Magnética Nuclear (RMN) de huPrP (51,52) humana y MoPrP de ratón (51,53) que incluye una parte estructurada, el dominio globular, caracterizada como estructura control. El modelo 2 fue construido añadiendo una cadena peptídica extra con el residuo 117 Ala y que va de los residuos 109 a 124 en huPrP y 109-123 en MoPrP a cada una de las estructuras obtenidas con RMN, el cual fue la estructura salvaje. El modelo 3 fue construido añadiendo una cadena peptídica o extra conteniendo en el residuo 117 una valina del residuo 109-124 en huPrP y 109-123 en MoPrP a cada una de las estructuras obtenidas en RMN. Este modelo fue llamado estructura mutante. Las cadenas peptídicas extras mutante y salvaje se estructuraron mediante cálculos usando química cuántica a fin de obtener una estructura local con energía mínima sin ninguna formación como α -hélices u hojas- β pues la región N-terminal en el residuo 125 de PrP no estaba estructurada.

La estructura promedio del control muestra los dominios globulares mantenidos estables con alguna deformación en la región H3. En el caso de la estructura salvaje, la cadena peptídica extra en los residuos 112-117 de la región N-terminal forma una nueva α -hélice H0 en la misma forma de la huPrP salvaje Esta cadena peptídica extra comienza a formar hélices α y 3_{10} de 800 ps en la simulación MD. Además los residuos 123-124 de la cadena peptídica extra forman un puente- β con S1 y al mismo tiempo el contenido de la hoja- β la cual consiste de S1 y S2 disminuye. Un mapa de contacto indica que los residuos 123-124 de la cadena peptídica extra están cerca de las hojas- β S1 y S2 y que esta cercanía no afectó la conformación del dominio globular. La

simulación MD de la estructura mutante mostró que las posiciones relativas entre las tres α -hélices H1, H2, H3 del dominio globular fueron muy diferentes de las estructuras salvaje y control. H1 se movió una gran distancia de su posición inicial y este movimiento induciría la extensión de las distancias H1-H3. El análisis de la estructura secundaria mostro que la cadena peptídica extra forma un puente- β con S1 similar a la estructura salvaje del MoPrP pero muy inestructurado y no formó una hélice- α . Más aun el mapa de contacto indica que los residuos 115-117 de la cadena peptídica extra interaccionan con el lado C-terminal de H3.

Solenoide de la proteína PrP

El dominio Solenoide de la proteína PrP es un tipo altamente modular de dominios proteicos, consisten de una cadena de doblamientos idénticos llamados simplemente repeticiones al azar, muy comunes en todos los tipos de proteínas (54). En proteínas una repetición es cualquier secuencia en bloque que retorna más de una vez en la secuencia ya sea en una forma idéntica o altamente similar, la cual en sí misma no indica nada acerca de la estructura de la proteína. Como regla general secuencias repetitivas cortas por debajo de 10 aminoácidos en tamaño pueden estar desordenadas intrínsecamente y no formar parte de ningún dominio de plegamiento proteico. Repeticiones que son al menos 30-40 aminoácidos en tamaño son más probables de estar en un plegamiento, como parte de un dominio proteico. Esas repeticiones largas son indicativas de la presencia de un dominio Solenoide repetitivo uniéndose a iones Cu^{++} , adhiriéndose a la matriz extracelular y en a la formación y mantenimiento de sinapsis. Ejemplos de secuencias repetitivas desordenadas incluyen 7-mer péptidos repetidos en la subunidad RPB1 de RNA polimerasa II (55) o la unión de beta-catenina o axina al azar uniéndose a motivos lineales en APC o poliposis adenomatosa de *E. coli* (56). Ejemplos de repeticiones cortas mostrando estructuras ordenadas incluyen las repeticiones de tres residuos en colágeno, o las repeticiones de 5 residuos del pentapeptido que forma una estructura en β -hélice.

La estructura del Prion PrPSC explica su propagación en los tejidos

La arquitectura general de PrPSC ha sido descifrada, pero aún quedan elementos estructurales importantes sin definir (57) pero ahora es posible formular hipótesis acerca de su propagación en los tejidos (58,59). Un solenoide- β se comporta como templado, sus extremos superiores e inferiores contienen filamentos- β que se pueden propagar mediante el patrón de enlaces de hidrógeno al contactar cualquier péptido amiloidogénico (60). El borde de los filamentos nativos en proteínas solubles que contienen un solenoide- β ha evolucionado para ser cubierto por α -hélices que bloquean la propagación de hojas- β sobre reguladas. Cuando estas estructuras son eliminadas usando ingeniería genética los resultantes β -solenoideos sin cubiertas son inestables y sufren oligomerización borde a borde (61). Por lo tanto los extremos más superiores e inferiores de los β -solenoideos en PrPSC patógeno pueden servir como templados para una molécula PrP normal no plegada entrante y moldear sus peldaños en un β -solenoide adicional. Una vez formado ofrece una superficie fresca, pegajosa que puede continuar como templado para el resto de la estructura hasta que se genera un segundo peldaño. Este proceso se repite varias veces hasta que el largo completo de la molécula de PrP normal ha sido moldeado en cuatro nuevos filamentos de la estructura del β -solenoide. Como se ha mencionado la presencia de las cadenas de carbohidratos en la molécula PrP normal no plegada entrante, impone obstáculos al proceso de copia del templado, además el GPI presente en la molécula PrP entrante y en el templado PrPSC los ancla a la membrana celular y/o a las vesículas endocíticas del medio colocando obstáculos relativos con la localización celular donde la conversión tiene lugar. El proceso de copia del templado debe basarse en una orientación cabeza a cola o cabeza a cabeza/cola a cola. En el primer caso las hojas- β usadas como templados comprenderían contactos heterotípicos entre diferentes partes de la molécula, mientras que en el último caso estos contactos serían homotípicos.

¿Cómo están codificadas en la arquitectura del solenoide- β de PrPSc las barreras de transmisión y especie de la proteína? Enhebrados ligeramente diferentes resultan en diferencias

en la composición de aminoácidos de los filamentos- β y los bucles son una fuente de variabilidad que da lugar a diferentes variaciones del tema principal del solenoide- β publicado por Langedijk y col. (62). Estas variaciones afectando la topografía de los peldaños más superiores e inferiores, tendrían un impacto en las propiedades como templado de una variante o especie del solenoide- β . La presencia en la superficie del templado de residuos de aminoácidos cargados o prominentes puede imponer restricciones en su capacidad para recibir y accionar un templado de una cadena PrP de una determinada secuencia. Esto es evidente con respecto a las secuencias en el N- y C- terminal del sustrato PrP no plegado pues las primeras secuencias necesitan adaptarse a las superficies del templado pero también el resto de las secuencias ya que cada nuevo peldaño genera una superficie del templado fresca con sus propios obstáculos de carga y estéricos. Una resolución más alta de la estructura de PrPSC permitiría una comprensión más completa de sus propiedades a nivel molecular. Es de hacer notar que las fuerzas moleculares responsables para el efecto templado caracterizadas como enlaces de hidrógeno, interacciones de cargas iónicas, apilamiento de estructuras aromáticas, y obstáculos estéricos son iguales a las que operan en la replicación del ADN. Sin embargo, carecen de su exquisita precisión y del complejo mecanismo de corrección que suministra la flexibilidad de la replicación del ADN. Mientras mayor es la complejidad de la estructura de PrPSC en comparación a los ácidos nucleicos se requerirán esfuerzos particulares para alcanzar una comprensión completa de todos los aspectos moleculares asociados con la propagación de los priones PrPSC.

Apilamiento Cabeza a Cabeza o Cabeza a cola

Los cuatro filamentos de la arquitectura del solenoide- β de PrPSC implica dos modos de apilamiento posibles: Cabeza-a-cola resultando estructuras de fibrillas polares, o apilamiento cabeza-a-cabeza que produciría fibrillas no polares. El modo de apilamiento cabeza-a-cabeza resultaría de un proceso de templado donde el primer peldaño formado está en el registro encontrado en el peldaño del templado, mientras que los subsecuentes peldaños no lo están, lo cual parece una opción simple y elegante. Sin

embargo, ello añade la complicación de sucesivas subunidades PrPSC con vueltas opuestas que añadirían un nivel inusual de complejidad a la estructura de PrPSC. Actualmente, la evidencia experimental de repeticiones axiales de cuatro-nanómetros en los promedios de una partícula simple de fibrillas de PrPSC favorece el apilamiento cabeza-a-cabeza (63) pero la evidencia no es suficientemente fuerte para resolver el problema inequívocamente. Más aun, debe notarse que una señal de apareamiento vertical similar aparece de forma característica en la Transformación Rápida de la Series de Fourier de las fibras Prion Het-s (64) donde el templado y el apilamiento se sabe inequívocamente son cabeza-a-cola (65). En contraste el apilamiento cabeza-cola implicaría un templado con secuencias heterotípicas que no tendría la elegancia y simplicidad que el apilamiento del templado en registro suministraría. Por otra parte este modo de propagación no resultaría en los problemas de las vueltas opuestas como se discutió en el templado cabeza-a-cabeza. El apilamiento cabeza-a-cola resultaría en una periodicidad de 19.2 Å basado en la altura molecular de PrPSC.

Epidemiología en la enfermedad de Creutzfeldt-Jakob (ECJ)

La ECJ es la enfermedad por priones más común y se presenta en 1 por cada millones de personas por año, sin embargo, un estudio de autopsias público en 1989 que 3 %-13 % de personas con EA eran casos mal diagnosticados de ECJ [67], infectados al comer carne contaminada con encefalopatía espongiforme bovina atípica subclínica, la cual tiene un período de incubación largo. La ECJ afecta a personas entre 45-75 años y aparece entre 60-65 años. El Centro para Control y Prevención de Enfermedades (CDC) en Atlanta EE.UU produce los siguientes datos en EE.UU:

1. La proporción mundial de ECJ es de 1/millón de personas/año
2. En base a las estadísticas de morbilidad y mortalidad en EE.UU entre 1979-1994 la incidencia de ECJ permaneció estable 1 caso / millón de personas.
3. Las muertes por ECJ en EE.UU en personas menores de 30 años son muy raras 5 muertes/

billón de personas/año (66,67).

4. La enfermedad se encuentra más frecuentemente entre 55-65 años y pueden ocurrir casos en mayores de 90 años y más jóvenes de 55 años.
5. En el 85 % de los casos la duración de la ECJ es menos de 1 año con una mediana de 4 meses después de la aparición de los síntomas (66,67).

La enfermedad fue descrita por H. Creutzfeldt en 1920 y luego por A Jakob (68). F. Meggendorfer (1880-1953) hizo una descripción completa (68,69).

Insomnio familiar fatal: Es una enfermedad rara con problema para dormir que comienza gradualmente y empeora con el tiempo. También presentan problemas con la palabra, coordinación, y demencia resultando en muerte en pocos meses o años. Es una enfermedad cerebral por Priones causada por una mutación en la proteína PrP^C y tiene dos formas: 1- Insomnio familiar fatal que es autosómico dominante y 2- Insomnio fatal esporádico (sIF) debido a una mutación no heredada. El diagnóstico se basa en el estudio del sueño, PET Scan y pruebas genéticas. No se le conoce cura, el insomnio progresivamente empeora, aparecen alucinaciones, delirio estados de confusión demencia y eventualmente muerte. El promedio de vida después de la aparición de los síntomas es de 18 meses (70).

Prionopatía proteasa sensible variable (PrPSV) PrPSV es una enfermedad por priones publicada con 11 casos en 2008 por Gambetti y col., y luego en 2010 como una enfermedad distinta por Zou y col. en 2-3 casos en 100 millones de personas. Desde el 2018 se han reportado 14 casos en Inglaterra. Es muy similar a la ECJ la proteína prion anormal PrP^{Sc} es menos resistente a la digestión por proteasas, algunas variantes son más sensibles, los pacientes síntomas de comportamiento, déficit en el habla, afasia, disartria, declinación en el progreso cognitivo y motor, demencia ataxia, afasia parkinsonismo y desórdenes en el comportamiento. La edad promedio de aparición son 70 años y la duración de la sobrevivida es 24 meses (71).

Enfermedad de Alzheimer

Es una enfermedad crónica neurodegenerativa comienza lentamente, se agrava con el tiempo y causa del 60 %-70 % de los casos de demencia, el síntoma de inicio más frecuente es la dificultad en recordar los eventos recientes. Al avanzar la enfermedad parecen síntomas con el lenguaje, desorientación, la persona fácilmente se pierde, hay oscilaciones en el comportamiento, pérdida de la motivación de vivir, descontrol en el cuidado personal. Al declinar las condiciones en la persona se separa de la familia, de la sociedad, las funciones corporales se pierden y la persona se muere. La esperanza de vida es de 3 a 9 años después del diagnóstico de la enfermedad (72-79).

Enfermedad de Parkinson

Es una enfermedad degenerativa del SNC crónica que afecta al sistema motor. Cuando la enfermedad empeora aparecen síntomas no motores lentamente. Al principio el síntoma más común es temblor en las manos, rigidez en el cuerpo, lentitud del movimiento y dificultad para caminar además de problemas en el pensamiento y en el comportamiento de la persona. En los estados avanzados aparece demencia así como también depresión y ansiedad en más del tercio de los enfermos. Otros síntomas incluyen problemas sensoriales, emocionales y del sueño. La causa es desconocida pero se cree que comprende factores genéticos y del medio ambiente. Los que tienen un miembro en la familia con Parkinson tienen más probabilidad de tener la enfermedad. Hay un aumento del riesgo con la exposición a pesticidas o con heridas en la cabeza mientras que el riesgo se reduce en fumadores de tabaco y en los tomadores de café o té. Los síntomas motores resultan de la muerte de neuronas en la sustancia nigra en el cerebro medio, aunque su causa es poco conocida apareciendo cuerpos de Lewy en las neuronas. Su diagnóstico se basa en los síntomas y en la imagenología (80-84).

Enfermedad de Huntington (HD)

También conocida como Corea de Huntington es una enfermedad hereditaria que produce muerte de las células cerebrales. Los primeros

síntomas aparecen en el comportamiento y en las habilidades mentales, seguidas por falta de coordinación y postura inestable. Al avanzar la enfermedad los movimientos corporales espasmódicos, no coordinados son más aparentes. Las habilidades físicas empeoran los movimientos coordinados son más difíciles hasta parar y la persona no puede hablar. Llegando a la demencia. Los síntomas comienzan entre 30-50 años pero pueden comenzar a cualquier edad. 8% de los casos comienzan antes de los 20 años con síntomas similares al Parkinson, pero las personas no reconocen el grado de sus problemas. Es una enfermedad heredada, el 10 % de los casos se debe a una mutación dominante autosómica en cualquiera de las dos copias del gen Huntingtin, por lo tanto un niño de una persona afectada tiene 50 % de chance de heredarla. La expansión de los tripletes CAG citosina-adenina-guanina, resulta en una proteína anormal que lesiona a las neuronas por mecanismos aun no conocidos completamente. El diagnóstico es mediante pruebas genéticas. No hay cura para la EH y necesita de mucho cuidado profesional en las fases tardías de la enfermedad. Para el tratamiento de los problemas en el movimiento se usa tetrabenazina. La enfermedad afecta de 4-15 personas en gente de descendientes europeos y es muy rara en los japoneses, mientras que en el África se desconoce su incidencia. Afecta a hombres y mujeres por igual, y las complicaciones como neumonía, enfermedad cardíaca, lesiones físicas por caídas reducen la expectativa de vida. En 9 % de los casos la causa es el suicidio. La muerte ocurre entre 15-20 años después del diagnóstico de la enfermedad. La aparición tardía de la enfermedad significa que no afecta la reproducción de las personas. La prevalencia mundial es de 5-10 casos/100 000 personas, igual en mujeres y hombres y mayor en personas descendientes de europeos con un promedio de 7 %/100 000 personas siendo más baja en el resto del mundo con 1 caso/millón de descendientes de asiáticos y africanos. En un estudio epidemiológico en UK se encontró una prevalencia de 12,3/100 000 personas. En algunas áreas localizadas existe una prevalencia alta por ejemplo en poblaciones aisladas de la región del Lago de Maracaibo en Venezuela donde EH afecta a 700 personas/100 000 habitantes. Este resultado fue producto de un estudio muy extenso que comprendió a 18 000 personas en las

poblaciones de Barranquitas y Lagunetas donde se encontró una alta prevalencia de la enfermedad. El estudio uso marcadores de ADN y fue un paso importante que hizo posible el proyecto del genoma humano. Otras áreas de alta prevalencia son Escocia, Wales, y Suecia. Islandia tiene una baja prevalencia 1/100 000 habitantes.

CONCLUSIONES

La aclaración de la arquitectura de PrPSC permite al fin la comprensión de los mecanismos de propagación de este Prion letal. Es de hacer notar que los mecanismos usados no son muy diferentes de aquellos empleados en la replicación del ADN: Enlaces de hidrógeno y acoplamiento estérico. Sin embargo, mientras que para el ADN toda la información del templado puede ser deducida y archivada en la estructura primaria, y puede ser vista como digital, el caso de PrPSC comprende estructuras secundaria, terciaria y hasta cuaternaria y así puede ser interpretada como analógica. Por lo tanto no sorprende que los ácidos nucleicos y no los priones fueron seleccionados como los elementos fundamentales de la herencia aunque templados prebióticos del amiloide se han sugerido como precursores de la vida celular (66). La comprensión básica de los cuatro filamentos del solenoide- β también apunta a una explicación de los fenómenos en la barrera de transmisión y especie: Las especies corresponden a variaciones menores en la secuencia del solenoide, mientras que las barreras de transmisión son consecuencia de obstáculos estéricos originándose de diferencias en la secuencia de las moléculas entrantes y del templado de PrP. Sin embargo para comprender totalmente estos fenómenos será necesario refinar nuestro conocimiento actual de la estructura de PrPSC a través de datos con alta resolución. Estudios en ese camino usando Cryo-microscopía electrónica y RMN aplicados a PrPSC recombinante están siendo aplicados en varios laboratorios.

REFERENCIAS

1. Berzelius J. Bref Utgifna af Kungl. Svenska Vetenskapsakademien genom H. G. Soderbaum: V. Brefvaxling mellan Berzelius och GJ. Mulder (1834-

- 1847). Uppsala, 1916.
2. Mulder GJ. In En dan nog ging Mulder niet verder dan alleen alles in de natuur te door hem geredigeerde Natuur- en scheikundig archief. (1833-1838) uit.55.
 3. Lehninger. Principles of Biochemistry. M. Cox. D. L. Nelson. 4^a edición. 2004.
 4. DasAS, ZouWQ. Prions: Beyond a single protein. *Clin Microbiol Rev.* 2016;29:633-658.
 5. Wickner RB. Scrapie in ancient China? *Science.* 2005;309:874.
 6. Cuille J, Chelle PL. Pathologie animale—la maladie dite tremblante du mouton est-elle inoculable? *CR Hebd Seances Acad Sci.* 1936;203:1552-1554.
 7. Benestad SL, Sarradin P, Thu B, Schönheit J, Tranulis MA, Bratberg B. Cases of scrapie with unusual features in Norway and designation of a new type, Nor98. *Vet Rec.* 2003;153:202-208.
 8. O'Brien M. Have lessons been learned from the UK bovine spongiform encephalopathy (BSE) epidemic? *Int J Epidemiol.* 2000;29:730-733.
 9. Zanusso G, Monaco S. Bovine spongiform encephalopathy. *En: Zou WQ, Gambetti P, editores. Prions and diseases: volume 2, animals, humans and the environment. Springer, New York, NY. 2013.p.1-13.*
 10. Biacabe AG, Laplanche JL, Ryder S, Baron T. Distinct molecular phenotypes in bovine prion diseases. *EMBO Rep.* 2004;5:110-115.
 11. Casalone C, Zanusso G, Acutis P, Ferrari S, Capucci L, Tagliavini F, et al. Identification of a second bovine amyloidotic spongiform encephalopathy: molecular similarities with sporadic Creutzfeldt-Jakob disease. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2004;101:3065-3070.
 12. Will RG, Ironside JW, Zeidler M, Cousens SN, Estibeiro K, Alperovitch A, et al. A new variant of Creutzfeldt-Jakob disease in the UK. *Lancet.* 1996;347:921-925.
 13. Brown P. Environmentally acquired transmissible spongiform encephalopathy, *En: Zou WQ, Gambetti P, editores. Prions and diseases: volume 2, animals, humans and the environment. Springer, New York, NY. 2013.p.73-88.*
 14. Telling G. Chronic wasting disease and the development of research models. *En: Zou WQ, Gambetti P, editores. Prions and diseases: volume 2, animals, humans and the environment. Springer, New York, NY. 2013.p.45-57.*
 15. Kong Q, Huang S, Zou W, Vanegas D, Wang M, Wu D, et al. Chronic wasting disease of elk: Transmissibility to humans examined by transgenic mouse models. *J Neurosci.* 2005;25:7944-7949.
 16. Tamgüney G, Giles K, Bouzamondo-B. E, Bosque PJ, Miller MW, Safar J, et al. Transmission of elk and deer prions to transgenic mice. *J Virol.* 2006;80:9104-9114.
 17. Sandberg MK, Al-Doujaily H, Sigurdson CJ, Glatzel M, O'Malley C, Powell C, et al. Chronic wasting disease prions are not transmissible to transgenic mice overexpressing human prion protein. *J Gen Virol.* 2010;91:2651-2657.
 18. Alzheimer A. Über eine eigenartige Erkrankung der Hirnrinde. *Allg Z Psychiatr Psych Gerichtl Med.* 1907;64:146-148.
 19. Jakob A. Über eine der multiplen Sklerose klinisch nahestehende Erkrankung des Zentralnervensystems (spastische Pseudosklerose) mit bemerkenswertem anatomischem Befunde. Mitteilung eines vierten Falles. *Med Klin.* 1921;17:372-376.
 20. Creutzfeldt HG. Über eine eigenartige herdförmige Erkrankung des Zentralnervensystems. *Z Gesamte Neurol Psychiatr.* 1920;57:1-18.
 21. Katscher F. It's Jakob's disease, not Creutzfeldt's. *Nature.* 1998;393:11.
 22. Masters CL, Gajdusek DC. The spectrum of Creutzfeldt-Jakob disease and the virus-induced subacute spongiform encephalopathies. *En: Smith WT, Cavanagh JB, editores. Recent advances in neuropathology, vol 2 Churchill Livingstone, Edinburgh, United Kingdom. 1982.p.139-163.*
 23. Pattison IH. Scrapie, a personal view. *J Clin Pathol Suppl.* 1972;6:110-114.
 24. Gambetti P, Cali I, Notari S, Kong Q, Zou WQ, Surewicz WK. Molecular biology and pathology of prion strains in sporadic human prion diseases. *Acta Neuropathol.* 2011;121:79-90.
 25. Duffy P, Wolf J, Collins G, DeVoe AG, Sreeten B, Cowen D. Possible person-to-person transmission of Creutzfeldt-Jakob disease. *N Engl J Med.* 1974;290:692-693.
 26. Bernoulli C, Siegfried J, Baumgartner G, Regli F, Rabinowicz T, Gajdusek DC, et al. Danger of accidental person-to-person transmission of Creutzfeldt-Jakob disease by surgery. *Lancet.* 1977;1(8009):478-479.
 27. Gerstmann J, Sträussler E, Scheinker I. Über eine eigenartige hereditär-familiäre Erkrankung des Zentralnervensystems. Zugleich ein Beitrag zur Frage des vorzeitigen lokalen Alterns. *Z Gesamte Neurol Psychiatr.* 1936;154:736-762.
 28. Medori R, Tritschler HJ, LeBlanc A, Villare F, Manetto V, Chen HY, et al. Fatal familial insomnia, a prion disease with a mutation at codon 178 of the prion protein gene *N Engl J Med.* 1992;326:444-449.
 29. Gambetti P, Petersen R, Monari L, Tabaton M, Autilio-Gambetti L, Cortelli P, et al. Fatal familial insomnia and the widening spectrum of prion diseases. *Br Med Bull.* 1993;49:980-994.
 30. Zou WQ, Puoti G, Xiao X, Yuan J, Qing L, Cali I, et

- al. Variably protease-sensitive prionopathy: A new sporadic disease of the prion protein. *Ann Neurol*. 2010;68:162-172.
31. Gajdusek DC, Zigas V. Degenerative disease of the central nervous system in New Guinea; the endemic occurrence of kuru in the native population. *N Engl J Med*. 1957;257:974-978.
 32. Klatzo I, Gajdusek DC, Zigas V. Pathology of kuru. *Lab Invest*. 1959;8:799-847.
 33. Bolton DC, McKinley MP, Prusiner SB. Identification of a protein that purifies with the scrapie prion. *Science*. 1982;218:1309-1311.
 34. Prusiner SB. Novel proteinaceous infectious particles cause scrapie. *Science*. 1982;216:136-144.
 35. Zou WQ, Gambetti P. Prion: The chameleon protein. *Cell Mol Life Sci*. 2007;64:3266-3270.
 36. Collinge J, Clarke AR. A general model of prion strains and their pathogenicity *Science*. 2007;318:930-936.
 37. Bendheim PE, Brown HR, Rudelli RD, Scala LJ, Goller NL, Wen GY, et al. Nearly ubiquitous tissue distribution of the scrapie agent precursor protein. *Neurology*. 1992;42:149-156.
 38. Linden R, Martins VR, Prado MA, Cammarota M, Izquierdo I, Brentani RR. Physiology of the prion protein. *Physiol Rev*. 2008;88:673-728
 39. Sparkes RS, Simon M, Cohn VH, Fournier RE, Lem J, Klisak I, et al. Assignment of the human and mouse prion protein genes to homologous chromosomes. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1986;83:7358-7362.
 40. Stahl N, Borchelt DR, Hsiao K, Prusiner SB. Scrapie prion protein contains a phosphatidylinositol glycolipid. *Cell*. 1987;51:229-240.
 41. Turk E, Teplow DB, Hood LE, Prusiner SB. Purification and properties of the cellular and scrapie hamster prion proteins. *Eur J Biochem*. 1988;176:21-30.
 42. Haraguchi T, Fisher S, Olofsson S, Endo T, Groth D, Tarentino A, et al. Asparagine-linked glycosylation of the scrapie and cellular prion proteins. *Arch Biochem Biophys*. 1989;274:1-13.
 43. Harris DA. Trafficking, turnover and membrane topology of PrP. *Br Med Bull*. 2003;66:71-85.
 44. Damberger FF, Christen B, Pérez DR, Hornemann S, Wüthrich K. Cellular prion protein conformation and function. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2011;108:17308-17313.
 45. Riek R, Hornemann S, Wider G, Billeter M, Glockshuber R, Wüthrich K. NMR structure of the mouse prion protein domain PrP (121-231). *Nature*. 1996;382:180-182.
 46. Brown DR, Qin K, Herms JW, Madlung A, Manson J, Strome R, et al. The cellular prion protein binds copper *in vivo*. *Nature*. 1997;390:684-687.
 47. Stöckel J, Safar J, Wallace AC, Cohen FE, Prusiner SB. Prion protein selectively binds copper (II) ions. *Biochemistry*. 1998;37:7185-7193.
 48. Viles JH, Cohen FE, Prusiner SB, Goodin DB, Wright PE, Dyson HJ. Copper binding to the prion protein: Structural implications of four identical cooperative binding sites. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1999;96:2042-2047.
 49. Brown DR, Clive C, Haswell SJ. Antioxidant activity related to copper binding of native prion protein. *J Neurochem*. 2001;76:69-76.
 50. Aguzzi A, Heikenwalder M. Pathogenesis of prion diseases: Current status and future outlook. *Nat Rev Microbiol*. 2006;4:765-775.
 51. Petit CS, Besnier L, Morel E, Rousset M, Thenet S. Roles of the cellular prion protein in the regulation of cell-cell junctions and barrier function. *Tissue Barriers* 2013;1:e24377.
 52. Kretzschmar HA, Prusiner SB, Stowring LE, DeArmond SJ. Scrapie prion proteins are synthesized in neurons. *Am J Pathol*. 1986;122:1-5.
 53. Moser M, Colello RJ, Pott U, Oesch B. Developmental expression of the prion protein gene in glial cells. *Neuron*. 1995;14:509-517.
 54. Ford MJ, Burton LJ, Morris RJ, Hall SM. Selective expression of prion protein in peripheral tissues of the adult mouse. *Neuroscience*. 2002;113:177-192.
 55. Fournier JG. Nonneuronal cellular prion protein. *Int Rev Cytol*. 2001;208:121-160.
 56. Salès N, Rodolfo K, Hässig R, Faucheux B, Di Giambardino L, Moya KL. Cellular prion protein localization in rodent and primate brain. *Eur J Neurosci*. 1998;10:2464-2471.
 57. Mironov A, Latawiec D, Wille H, Bouzamondo-B. E, Legname G, Williamson R, et al. Cytosolic prion protein in neurons. *J Neurosci*. 2003;23:7183-7193.
 58. Lainé J, Marc ME, Sy MS, Axelrad H. Cellular and subcellular morphological localization of normal prion protein in rodent cerebellum. *Eur J Neurosci*. 2001;14:47-56.
 59. Vázquez-Fernández E, Young HS, Requena JR, Wille H. The structure of mammalian prions and their aggregates. *Int Rev Cell Mol Biol*. 2017;329:277-301.
 60. Richardson JS, Richardson DC. Natural beta-sheet proteins use negative design to avoid edge-to-edge aggregation. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2002;99:2754-2759.
 61. Bryan AW, Starner-Kreinbrink JL, Hosur R, Clark PL, Berger B. Structure-based prediction reveals capping motifs that inhibit β -helix aggregation. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2011;108:11099-11104.
 62. Langedijk JP, Fuentes G, Boshuizen R, Bonvin AM. Two-rung model of a left-handed beta-helix for prions explains species barrier and strain variation in transmissible spongiform encephalopathies. *J Mol*

- Biol. 2006;360:907-920.
63. Vázquez-Fernández E, Vos MR, Afanasyev P, Cebey L, Sevillano AM, Vidal E, et al. The structural architecture of an infectious mammalian prion using electron cryomicroscopy. *PLoS Pathog.* 2016;8:e1005835.
 64. Mizuno N, Baxa U, Steven AC. Structural dependence of HET-s amyloid fibril infectivity assessed by cryoelectron microscopy. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2011;108:3252-3257.
 65. Wasmer C, Lange A, Van Melckebeke H, Siemer AB, Riek R, Meier BH. Amyloid fibrils of the HET-s (218–289) prion form a β solenoid with a triangular hydrophobic core. *Science.* 2008;319:1523-1526.
 66. Greenwald J, Friedmann MP, Riek R. Amyloid aggregates arise from amino acid condensations under prebiotic conditions. *Angew Chem Int Ed.* 2016;55:11609-11613.
 67. Creutzfeldt–Jakob Disease Fact Sheet | National Institute of Neurological Disorders and Stroke. NINDS. 2003.
 68. Creutzfeldt-Jakob Disease, Classic (CJD) | Prion Diseases | CDC. www.cdc.gov. 2019.
 69. Ae R, Hamaguchi T, Nakamura Y, Yamada M, Tsukamoto T, Mizusawa H, et al. Update: Dura Mater Graft-Associated Creutzfeldt-Jakob-Disease - Japan, 1975-2017.. *MMWR. Morbidity and Mortality Weekly Report.* 2018;67(9):274-278.
 70. “What is fatal familial insomnia?”. *Healthline.* 2018.
 71. Nonno R, Notari, S, Di Bari, M.A., Cali, I., Pirisinu L, d’Agostino, C.; et al. “Variable Protease-Sensitive Prionopathy Transmission to Bank Voles”. *Emerging Infectious Diseases.* 2019;25:73-81.
 72. Hsu D, Marshall GA (2017). Primary and Secondary Prevention Trials in Alzheimer Disease: Looking Back, Moving Forward. *Current Alzheimer Research.* 2017;14(4):426-440.
 73. Kim JH. Genetics of Alzheimer’s Disease. *Dementia and Neurocognitive Disorders.* 2018;17(4):131-136.
 74. Makin S. The amyloid hypothesis on trial. As the development of treatments for Alzheimer’s disease continues to stumble, is it time for researchers to broaden their list of the condition’s potential causes? *Nature.* 2018;559:S4-S7.
 75. Farina N, Llewellyn D, Isaac MG, Tabet N. Vitamin E for Alzheimer’s dementia and mild cognitive impairment. *The Cochrane Database of Systematic Reviews.* 2017;4:CD002854
 76. Birks JS, Harvey RJ. Donepezil for dementia due to Alzheimer’s disease. *The Cochrane Database of Systematic Reviews.* 2018;6:CD001190.
 77. McShane R, Westby MJ, Roberts E, Minakaran N, Schneider L, Farrimond LE, et al. Memantine for dementia. *The Cochrane Database of Systematic Reviews.* 2019;3(3):CD003154.
 78. Zis P, Hadjivassiliou M. Treatment of Neurological Manifestations of Gluten Sensitivity and Coeliac Disease. *Curr Treat Options Neurol.* 2019;21:10.
 79. Makhoulouf S, Messelmani M, Zaouali J, Mrissa R. Cognitive impairment in celiac disease and non-celiac gluten sensitivity: Review of literature on the main cognitive impairments, the imaging and the effect of gluten free diet. *Acta Neurol Belg.* 2018;118:21-27.
 80. Stoker TB, Torsney KM, Barker RA Pathological mechanisms and clinical aspects of GBA1 mutation-associated Parkinson’s disease. En: Stoker TB, Greenland JC, editores. *Parkinson’s disease: Pathogenesis and clinical aspects.* Brisbane: Codon Publications. 2018.
 81. Quadri ML, Mandemakers W, Grochowska MM, Masius R, Geut H, Fabrizio E, et al. LRP10 genetic variants in familial Parkinson’s disease and dementia with Lewy bodies: A genome-wide linkage and sequencing study. *Lancet. Neurology.* 2018;17:597-608.
 82. Greenland JC, Stoker TB. *Parkinson’s Disease: Pathogenesis and Clinical Aspects.* Codon Publications. 2018:109-128.
 83. Kadastik-Eerme L, Taba N, Asser T, Taba P. Incidence and Mortality of Parkinson’s Disease in Estonia. *Neuroepidemiology.* 2019:1-10.
 84. Jankovic J, Goodman I, Safirstein B, Marmon TK, Schenk DB, Koller M, et al. Safety and Tolerability of Multiple Ascending Doses of PRX002/RG7935, an Anti- α -Synuclein Monoclonal Antibody, in Patients with Parkinson Disease: A Randomized Clinical Trial. *JAMA Neurology.* 2018;75:1206-1214.
 85. Morsy S, Khalil SM, Doheim MF, Kamel MG, El-Basiony DSM, Ahmed H, et al. Efficacy of ethyl-EPA as a treatment for Huntington disease: A systematic review and meta-analysis. *Acta Neuropsychiatrica.* 2019;31:175-185.
 86. Spagnoli G, Rigoli M, Orioli S, Sevillano AM, Faccioli P, Wille H, et al. Full atomistic model of prion structure and conversion. *PLoS Pathog.* 2019;15:e1007864.
 87. Pastore A, Zagari A. A Structural Overview of the Vertebrate Prion Proteins. *Prion.* 2007;1:185-197.
 88. Wille H, Requena JR. The Structure of PrP^{Sc} **Prions.** *Pathogens.* 2018;7:20
 89. Lee J, Kim SY, Hwang KJ, Ju YR, Woo HJ. Prion Diseases as Transmissible Zoonotic Diseases. *Osong Public Health Res Perspect.* 2013;4:57-66.