

Trabajo Fin de Grado

**Los Bancos de Tejidos Neurológicos.
Revisión bibliográfica**

**Neurological Tissue Banks.
Bibliographic review**

Autora

Julia Castro Melgar

Director

M. Javier Herrero Turrión

Ponente

Patricia Meade Huerta

Facultad de Ciencias
2023/24

Índice

Resumen/Abstract	1
1. Introducción	2
a. Antecedentes históricos y actualidad	2
b. Aspectos éticos	4
i. Marco ético en los biobancos	4
c. Aspectos legales	5
2. Objetivos y planteamiento del trabajo	6
3. Metodología	6
4. Resultados	7
a. Funcionamiento de un BTN	7
i. Obtención y procesamiento del tejido	7
ii. Datos asociados a las muestras	9
iii. Cesión de muestras	10
iv. Sistemas y controles de calidad	10
v. Bioseguridad	12
b. Donantes y tipos de donaciones de tejidos neurológicos	15
i. El donante y el consentimiento informado	15
ii. Tipos de donaciones	16
1. Algunas de las principales enfermedades neurodegenerativas de importancia en un BTN.	16
7. Conclusiones	21
8. Bibliografía	22

Resumen

Los Bancos de Tejidos Neurológicos (BTNs) son centros especializados en el almacenamiento y clasificación de muestras de tejidos neurológicos, desempeñando un papel fundamental en el estudio de las enfermedades neurológicas y psiquiátricas. Gracias a estos, los científicos tienen a su disposición muestras de tejido neurológico (encéfalo, médula espinal y líquido cefalorraquídeo) para realizar proyectos de investigación en este tipo de patologías, especialmente en enfermedades neurodegenerativas como la enfermedad de Alzheimer, el Parkinson, la Esclerosis Lateral Amiotrófica (ELA) o la enfermedad de Creutzfeldt-Jakob (ECJ). Todos estos trastornos los padecen un importante porcentaje de la población y la mayoría de ellas son incurables hoy en día, de este modo, los BTNs, prestan un servicio esencial a la investigación de estas patologías con los objetivos de buscar conocer su etiopatogenia y conseguir avances en tratamientos para ralentizar su desarrollo o incluso conseguir su curación.

Para llevar a cabo este trabajo, se ha realizado una extensa investigación de artículos en bases de datos como *Pubmed*, *ResearchGate* o *Elsevier*, entre otras. Se ha actualizado la información más relevante acerca del desarrollo de los procesos y/o procedimientos llevados a cabo en los BTNs, desde la formación de las primeras colecciones de cerebros hasta las normas éticas y legales que deben seguirse actualmente en los BTNs españoles. La importancia del Consentimiento Informado y los datos asociados, fundamentalmente clínicos, a las muestras de tejido donado junto con la garantía de asegurar la calidad y trazabilidad de éstas, desde su extracción hasta su almacenamiento en el formato deseado, es determinante para lograr el objetivo primordial de un BTN, ceder estas muestras a proyectos de investigación que pongan en valor la donación realizada. Por último, el desarrollo de un Sistema de Gestión de Calidad (SGC) junto con un plan de gestión de bioseguridad asegura el funcionamiento eficaz y eficiente de un BTN.

Abstract

The neurological tissue banks are specialized storage and classification centers of samples of neurological tissues, playing a fundamental role in the study of neurological and psychiatrically diseases. Thanks to these centers, scientists have at their disposal of neurological tissue samples (encephalon, spinal cord and cephalorachidian fluid) in order to conduct research projects in this kind of pathologies especially in neurodegenerative diseases such as Alzheimer, Parkinson, Amyotrophic Lateral Sclerosis (ELA) or Creutzfeldt-Jacob disease (ECJ). All these pathologies are suffered by a significant percentage of the population and most of them are incurable today, that's why the BTNs provide an essential service to the research of those pathologies with the aim of understanding their aetiopathogenesis and achieve advances in treatments to slow down their development or even reach to eradicate them.

In order to carry out this study, extensive research in databases such as Pubmed, ResearchGate or NCBI has been performed. The most relevant information about the development of the processes and/or procedures carried out in BTNs has been updated, since the formation of the first brain collections up to the ethical and legal standards that must be followed in the Spanish BTNs. The importance of Informed Consent and its associates data, fundamentally clinical data, to the donated tissue samples along with the guarantee of ensuring the traceability of these, from its extraction to its storage in the desired format, is determinant for achieving the main objective of a BTN, transfer these samples to research projects that enhance the value of the donation done. Lastly, the development of a quality management system (SGC) along with a biosecurity management plan ensures the effective and efficient functioning of a BTN.

1. Introducción

Los Bancos de Tejidos Neurológicos (BTNs), coloquialmente bancos de cerebros o biobancos de cerebros, son centros especializados en el almacenamiento de muestras biológicas de cerebros u otros tejidos neurológicos, de sujetos sanos o enfermos que, salvo con algunas excepciones, han dado previamente su consentimiento informado para ser donantes. Se trata de una actividad sin ánimo de lucro, siendo su objetivo la recogida de muestras post-mortem para fines de investigación como es conocer la patogénesis de enfermedades del sistema nervioso central.

a. Antecedentes históricos y actualidad

Los centros precursores de lo que conocemos hoy como BTNs se iniciaron en la década de los años 60 del siglo pasado teniendo como punto de inflexión el estudio de la enfermedad de Alzheimer (Kretzschmar, 2009), descrita por Aloïs Alzheimer (1964-1915) en 1907 al impregnar secciones de tejido cerebral en plata de la paciente fallecida Auguste Deter (Fuentes, 2003). A partir de este momento, el desarrollo en el ámbito de la neuropatología evolucionó considerablemente por la disponibilidad de tejido neuropatológico. Asimismo, este hecho coincidió con la evolución de los estudios moleculares, tanto genéticos como proteicos, relacionados, por ejemplo, con la propia enfermedad de Alzheimer, lo que permitió la determinación del gen codificante de la proteína apolipoproteína E (*ApoE* y *APOE*, respectivamente) y su papel en dicha patología (Graeber et al., 1997).

Inicialmente los BTNs eran realmente colecciones de cerebros, destacándose la que aglutinó el anatomista neerlandés Frederik Ruysch (1628-1731) de cuerpos enteros (inclusive el cerebro) de recién nacidos fallecidos (Babinski et al., 2014). Posteriormente, científicos como Burt Green Wilder (1841-1925) y Carlo Giacomini (1840-1898) fueron de los primeros anatomistas en colecciónar de forma monográfica cerebros post-mortem. El primero de ellos colecciónó cerebros clasificándolos en base a la pseudociencia de su época, la frenología (Arias, 2018), en “cerebros de personas educadas” y “cerebros de personas desconocidas o criminales” (Weiner, 2018). Por otra parte, el médico Giacomini se opuso a la teoría antropológica desarrollada por Cesare Lombroso (1835-1909; padre de la criminología) y sus coetáneos frenólogos al afirmar que una persona por el hecho de ser un delincuente estaba vinculado a una anatomía anormal (Perrini et al., 2012; Fernández et al., 2004). Por último, se puede establecer como uno de los hitos históricos del interés científico en establecer colecciones de cerebro la fundación en el año 1876 de la Sociedad de Autopsias Mutuas en París con el objetivo de diseccionar cerebros para estudiarlos y progresar en su conocimiento científico.

Ya durante el siglo XIX e incluso hasta el último tercio del XX, no existía ningún tipo de autorización para realizar estas colecciones, de cuerpos enteros o de cerebros, ya que los primeros, así como los propios órganos de los sujetos, eran considerados pertenecientes a la institución en la que estaban siendo atendidos, ya fueran hospitalares o incluso cárceles. Las únicas excepciones de un modelo de consentimiento de donantes se encontraban en el “movimiento de autopsias mutuas” y en las colecciones de cerebros eminentes (Wright, 2023). Sin embargo, eso no era respetado ni para las personas más reconocidas, pues en el caso de Albert Einstein (1879-1955), su cerebro fue extraído por el patólogo Harvey (1912-2007) para conservarlo sin previa autorización ni del propio Einstein ni de su familia más cercana (NPR, 2005).

En consecuencia, realmente los “bancos de cerebros” tienen una historia relativamente reciente, considerándose el primero del mundo el fundado en Runwell (Reino Unido) por el neuropatólogo John Arthur Nicholas Corsellis (1915-1994) (Carlos et al., 2019). Sin embargo, el primero que incorporó las

directrices de lo que hoy conocemos como BTN se estableció en la Universidad de Michigan (Estados Unidos de América, EE. UU.) en 1961 (Carlos et al., 2019). Un primer referente de la legislación que ampara los BTNs, así como la de la donación de órganos, es la ley *Human Tissue Bill* del Reino Unido (Brazier et al., 2004). En la actualidad, la plataforma web Alzforum (<https://www.alzforum.org/brain-banks>) registra al menos 144 BTNs en todo el mundo, 19 de ellos europeos agrupados en la red europea *BrainNet Europe*. El *Harvard Brain Tissue Resource Center* (HBTRC) en Massachusetts (EE. UU.) se considera el mayor banco de cerebros del mundo.

En lo que respecta a España, la creación de los primeros BTNs se inició tras la famosa “crisis de las vacas locas” de finales del siglo XX (Torrades, 2001). Unos de los primeros BTNs fueron los fundados por el Dr. Félix Francisco Cruz-Sánchez en 1989 en el Hospital Clínic de Barcelona (Figols, 2011) y el creado en 1996 por el Dr. Justo García de Yébenes en Madrid, este último en la actualidad es entidad dependiente de la Fundación para Investigaciones Neurológicas (FIN). Se puede determinar que los BTNs existentes en España surgieron a partir del Minisimposium de "Bancos de tejidos para investigación en neurociencias" celebrado en Salamanca en el año 2002, donde se estableció una red interautonómica de estos biobancos para lograr una regulación conjunta, la fijación de una financiación estable, la instauración de un *Brainbanker* y la creación de una comisión regulada por el Instituto de Salud Carlos III (ISCIII) para tratar aspectos legales y éticos (Tuñón et al., 2002). Posteriormente, en el año 2009, el ISCIII creó la Red Nacional de Biobancos (RNBB), en la actualidad Plataforma ISCIII Biomodelos y Biobancos (isciii.biobanks biomodels.es), como una plataforma de apoyo a las investigaciones para impulsar proyectos de I+D+i en este ámbito en las que se agrupan todos los biobancos nacionales, incluidos los de tejidos neurológicos conformados desde el año 2019 en el Grupo de Trabajo de Bancos de Tejidos Neurológicos (GT-BTN). Desde entonces, esta asociación está constituida en la actualidad por 16 BTNs y colaboran de forma coordinada en diferentes proyectos de investigación, como el proyecto COPPADIS para avanzar en la comprensión de la enfermedad de Parkinson (<https://fundaciondegen.org/informacion-coppadis/>) y el consorcio DEGESCO (*Dementia Genetic Spanish Consortium*) que tiene por objetivo potenciar la realización de estudios genéticos con la finalidad de entender la arquitectura genética de las demencias neurodegenerativas en la población española [[Tercer Simposio DEGESCO: Genética de demencias \(fundacioncien.es\)](http://fundacioncien.es)].

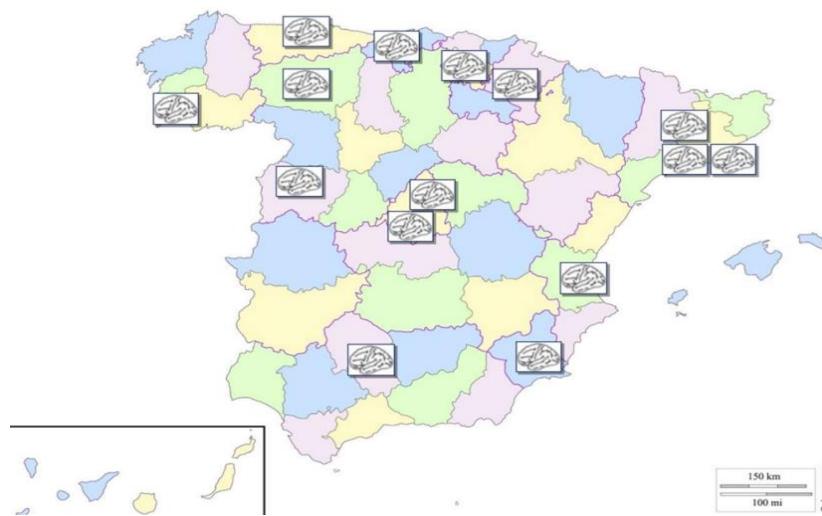


Figura 1. Bancos de tejidos neurológicos en España (Sociedad Española de Neurología, s.f.)

b. Aspectos éticos

El primer documento relacionado con unos principios que abordasen el consentimiento de los pacientes-donantes, así como garantizar la protección del participante evitando cualquier tipo de sufrimiento, fue el Código de Núremberg (1947) que reunió diez puntos relacionados con la ética en el ámbito de la investigación y experimentación en humanos (López-Muñoz, 2020). Posteriormente, este tipo de códigos bioéticos se ampliaron con otros documentos internacionales, como la Declaración Mundial de los Derechos Humanos (1948), la Declaración de Helsinki (1964), el Informe Belmont (1978), las Pautas del Consejo de Organizaciones Internacionales de las Ciencias Médicas (CIOMS) o la Declaración Universal sobre Bioética y Derechos Humanos de la UNESCO (2005) (López-Muñoz, 2020). Sin embargo, la experimentación de personas sin consentimientos previos prosiguió hasta bien entrada la década de los años 80 del siglo pasado cuando comenzó una regularización más estricta de este tipo de prácticas. A este respecto, cabe destacar el mencionado Informe Belmont de 1978 donde se redactaron los tres principios éticos que se siguen considerando hoy en día como unos principios claros:

- El principio de beneficencia / no maleficencia, por el que el sujeto debe ser conocedor tanto de los riesgos como de los beneficios del proceso, resultando adecuado para el donante.
- El principio de justicia, por el cual los sujetos deben ser escogidos sin ningún tipo de discriminación. A la vez, se debe establecer el desarrollo de un plan de indemnización en caso de daños.
- El principio de autonomía, gracias al cual el individuo recibirá una información extensa y entendible para su libre elección.

i. Marco ético en los biobancos

Los biobancos empezaron a estar regulados tras la aprobación en el año 2000 del *Act on Biobanks* en Islandia y, a partir de ese año, varios países de nuestro entorno fueron adoptando normativas al respecto (Martín Arribas et al., 2011). En España, a pesar de que ya en el año 1978 se publicó el real decreto por el que se regulaban los ensayos clínicos de productos farmacéuticos y preparados medicinales, la regulación de todo lo concerniente a la obtención, almacenamiento y uso en investigación de muestras humanas fue muy escasa hasta el año 2007, fecha en la que entró en vigor la Ley 14/2007 de Investigación Biomédica (LIB), fundándose el Comité de Bioética de España, a partir del cual se exponen propuestas con el fin de mejorar los Comités de Ética de Investigación (CEIs). Asimismo, se decretaron unas prácticas recomendadas acerca del consentimiento informado y la confidencialidad de datos asociados a la muestra donada, tanto si el donante era fallecido o no. Por último, pocos años antes, en el año 2001 se creó el código ético del Consorcio Europeo *BrainNet* que abarca tanto los principios éticos como las normas legales con relación a la donación de tejidos y órganos.

c. Aspectos legales

En cuanto al marco jurídico de la investigación biomédica, se pueden enumerar dos leyes fundamentales, así como un real decreto. Por otra parte, en lo referente a la protección de datos personales, existe un reglamento europeo, así como una ley orgánica.

- La Ley 41/2002: centrada en regular la autonomía del paciente y cuyos principales aspectos se centran en regular el consentimiento informado [artículo (art.) 8], el derecho a la información asistencial (art. 4), el acceso a la historia clínica (art.16) y la necesidad de conservar la documentación clínica en caso de centros sanitarios como mínimo cinco años tras el alta de cada transcurso o en caso de razones epidemiológicas (art.17) («BOE» núm. 274, 2002).
- La Ley 14/2007, también conocida como *Ley de Investigación Biomédica (LIB)*: creada con el fin de tener una base ética que regulase los biobancos, considerándose la necesidad de un Comité de Ética de Investigación (art. 12), la donación como un proceso gratuito (art. 7) y priorizando la protección del ser humano, así como su salud y bienestar, por encima de cualquier interés científico (art. 2). Asimismo, en esta ley también se destaca la necesidad del Consentimiento Informado (CI; art. 4 y 58), de la Hoja de Información Previa que se entrega a los donantes (HIP; art. 59), así como el compromiso por parte del investigador solicitante de muestras (anonimizadas) que se utilizarán exclusivamente para el fin para el que fueron solicitadas (art. 69) («BOE» núm. 159, 2007).
- *El Real Decreto 1716/2011*: en él se trata de clarificar algunos puntos de la LIB como la regulación del Registro Nacional de Biobancos para Investigación (art.1), así como la organización de los propios biobancos con la necesaria previa autorización de la autoridad competente (art.4). De igual forma, se expone la necesidad de unos requisitos para autorizar la constitución de dichos centros de muestras biológicas, tales como el nombramiento de la dirección científica, la creación de dos comités externos (científico y ético), que cumpla con una función sin ánimo de lucro o que presente las instalaciones necesarias para garantizar la correcta conservación de las muestras biológicas. Además de estos requisitos mínimos, para su constitución son necesarios una serie de documentos (art.6), como el reglamento interno de funcionamiento del biobanco (art.16), una memoria descriptiva, un plan de gestión de calidad y otro de bioseguridad («BOE» núm. 290, 2011).
- *Reglamento (UE) 2016/679 del Parlamento Europeo y del Consejo, relativo a la protección de las personas físicas en lo que respecta al tratamiento de datos personales y en la libre circulación de estos datos (RGPD)*: Se trata de una disposición superior al resto de normas, de manera que en España cualquier norma que fuere en contra de este reglamento no sería aplicable. En este reglamento, se clarifican conceptos como “seudonimización” o “datos genéticos” (art. 4) y se detallan aspectos relacionados con el tratamiento de datos, como la “finalidad”, “licitud”, “lealtad” y “transparencia” y “minimización de datos” (art. 5). Asimismo, se prohíbe el tratamiento de datos donde quedan revelados datos como origen étnico, opiniones políticas o convicciones religiosas, a excepción de que el donante haya concedido su consentimiento explícito o en casos donde el proceso sea requerido con fines de archivo en interés público y/o científico (art. 9). Finalmente, se desarrollan los derechos reconocidos tales como el de acceso del interesado, el de supresión o el de oposición (art. 15 al 21) (Parlamento Europeo, 2016).
- *La Ley Orgánica 3/2018, de “Protección de Datos Personales y de garantía de los derechos digitales” (LOPD 3/2018)*: regula puntos no desarrollados por el anterior RGPD, como el permitir la reutilización de datos personales tomados previa a la entrada en vigor de esta ley siempre y cuando se utilicen con la finalidad con la que el sujeto dio su consentimiento o áreas de investigación relacionadas con el investigador que realizó el primer ensayo («BOE» núm. 294, 2018).

2. Objetivos y planteamiento del trabajo

El objetivo general es realizar una revisión bibliográfica actualizada sobre el funcionamiento de los Bancos de Tejidos Neurológicos (BTNs) con el fin de conocer en detalle los diferentes procesos y/o procedimientos llevados a cabo en la obtención, procesamiento y cesión de las muestras donadas, así como la importancia en el biobanco del desarrollo de un Sistema de Gestión de Calidad (SGC) junto con un plan de gestión de bioseguridad.

Los consecuentes objetivos específicos propuestos en este estudio son:

- Investigar acerca de la historia y la creación de los BTNs.
- Evidenciar los desafíos éticos en relación a la donación de cerebros.
- Actualizar los criterios legales en el ámbito de los BTNs.
- Reflejar la importancia de los BTNs en la investigación de algunas enfermedades neurodegenerativas.

3. Metodología

Se realizó una exhaustiva revisión bibliográfica sobre cómo funcionan los BTNs en diversos aspectos, tanto legales como procedimentales. Dicha búsqueda se realizó empleando distintas bases de datos como *PubMed* (<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/>), *Scielo* (<https://scielo.org/es/>), *Elsevier* (<https://www.elsevier.com/es-es>), *National Center for Biotechnology Information -NCBI-* (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>), *Google Scholar* (<https://scholar.google.es/>) o *ResearchGate* (<https://www.researchgate.net/>), tanto en inglés como en español. En la búsqueda se utilizaron palabras clave como *brain banking*, *biosecurity*, *informed consent*, *neurodegenerative diseases* o *neuropathology*.

Con toda la información recabada a través de distintos artículos y páginas web, se redactó el presente Trabajo Fin de Grado (TFG) en el que se han desarrollado distintos apartados resumidos en antecedentes históricos de los BTNs, su metodología y funcionamiento. Asimismo, con la descripción de algunos trastornos neurológicos, en concreto, neurodegenerativos, se ha pretendido situar el contexto de la importancia de la donación de cerebro en el estudio científico de estas patologías.

4. Resultados

a. Funcionamiento de un BTN

i. Obtención y procesamiento del tejido

Es evidente que la disponibilidad de tejido neurológico es indispensable para lograr un mayor conocimiento científico de distintos trastornos que afectan al sistema nervioso para, por ejemplo, conocer su etiopatogenia y conseguir, en última instancia, nuevos tratamientos y/o terapias que ayuden al menos a frenar, o incluso curar, este tipo de enfermedades, como las denominadas neurodegenerativas (Alzheimer, Parkinson, Esclerosis Lateral Amiotrófica, Esclerosis Múltiple y Huntington, entre otras).

Estos tejidos neurológicos pueden proceder de donantes vivos o ya fallecidos, siendo su procedimiento de extracción distinto, según el caso, una biopsia o autopsia, respectivamente. Los tejidos neurológicos que suelen estar más disponibles en un BTN son los procedentes de una autopsia, recogiendo, según protocolos distintos, encéfalo (la suma de cerebro más tronco del encéfalo y cerebelo), médula espinal y líquido cefalorraquídeo (LCR). Así, por ejemplo, para la obtención de LCR su protocolo específica que, tras obtenerlo, se deberá medir su pH además de mantenerlo posteriormente congelado a -80°C (Nacul et al., 2014).

Para el caso de donación de un fallecido, como principio es necesario tener en cuenta que el denominado Intervalo Post-Mortem (IPM) no sea superior a las 16 h aproximadamente, ya que, si se supera ese tiempo, aun cuando el cuerpo permanezca en cámara fría (4-6°C), las muestras biológicas obtenidas de éste podrían no ser lo útiles que deberían de ser para la investigación, debido a procesos biológicos como la muerte neuronal y la degradación de las macromoléculas. En cuanto al procedimiento de extracción del encéfalo en la autopsia o también denominada necropsia, como muestra la *Figura 2*, consiste en la división de éste en sus dos hemiencéfalos, derecho e izquierdo, mediante un corte sagital. Siguiendo los protocolos habituales de las autopsias neuropatológicas (Figols-Ladrón de Guevara, 2004), el hemiencéfalo derecho inicialmente se separa el bloque del tronco encefálico y cerebelo (bloque infratentorial) del cerebro (supratentorial) y después, se realizan cortes verticales del hemiencéfalo (perpendiculares a la cisura interhemisférica) de unos 1,5 cm de espesor. Diferentes secciones de las cuatro grandes regiones (anterior, posterior, cerebelo y del tronco del encéfalo) se almacenan a -80°C para ser útiles en estudios moleculares (*Figura 3*). Por su parte, el hemiencéfalo izquierdo se embebe en formol durante al menos tres semanas para su fijación y se secciona de la misma forma que la realizada con el otro hemiencéfalo (*Figura 4*), siendo útil este tipo de tejido en estudios morfológicos. A este respecto, es conocido que una fijación más prolongada del tiempo indicado puede conllevar una disminución de la antigenicidad lo que podría afectar negativamente en la determinación de ciertos anticuerpos en los estudios que sean necesarios éstos, como al emplear la técnica de inmunohistoquímica (Ferrer, 2014). Seguidamente, se toman una serie de muestras de cada una de estas secciones que corresponden a distintas áreas y/o regiones cerebrales, entre 25 y 32 áreas cerebrales (*Figura 5* y *Tabla 1*), aunque este número puede aumentar dependiendo de la patología a estudio del donante. Las porciones seleccionadas de estas áreas cerebrales encastradas en parafina se seccionan con un micrótomo (~ 4 µm) y se disponen en portaobjetos. De este modo, técnicas histológicas clásicas (hematoxilina-eosina, Nissl, etc.) e inmunohistoquímicas permiten diagnosticar neuropatológicamente la enfermedad del donante (Burger & Scheithauer, 2012).

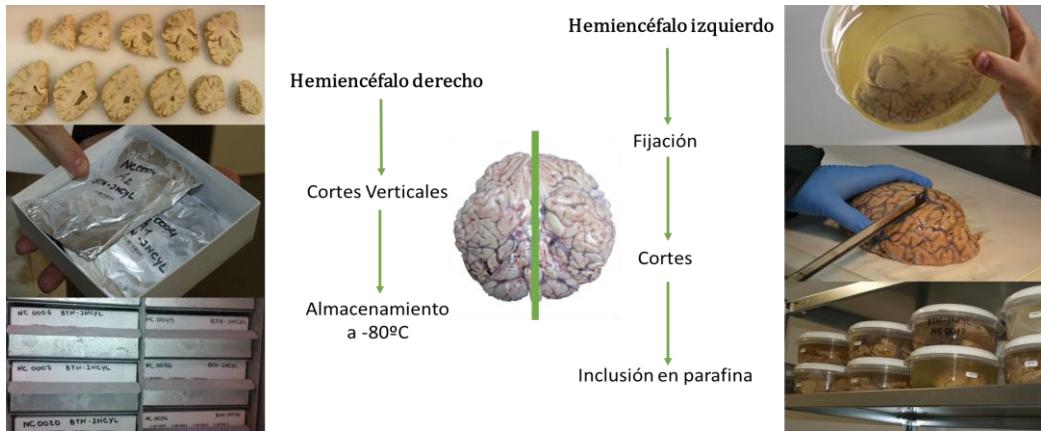


Figura 2. Procesamiento inicial del encéfalo (en vista ventral) mediante un corte sagital que divide los dos hemisferios, derecho para ser congelado previamente loncheado a -80°C, e izquierdo fijado en formaldehido, para realizar, respectivamente, estudios moleculares y morfológicos. Elaboración a partir de imágenes cedidas por el director científico Javier Herrero del Banco de Tejidos Neurológicos del Instituto de Neurociencias de Castilla y León (BTN-INCYL)

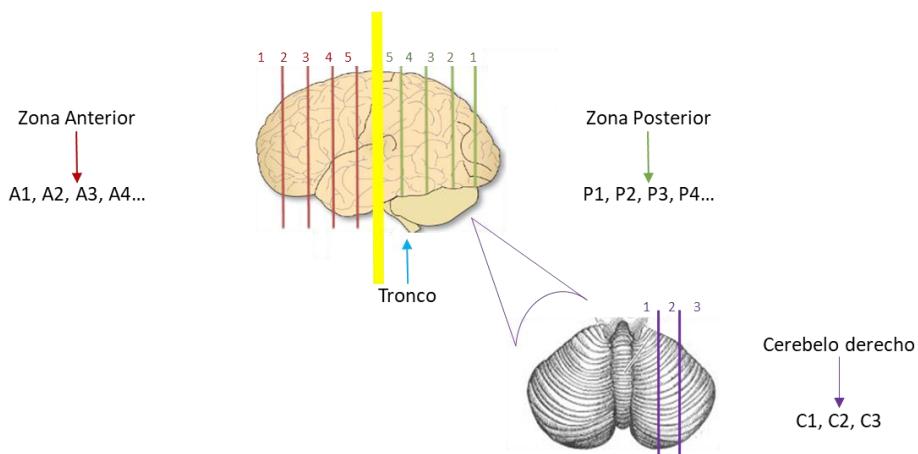


Figura 3. Esquema del procesamiento de las lonchas del hemisferio derecho para ser congeladas a -80°C. Inicialmente se separa el tronco y cerebelo (bloque infratentorial) del hemisferio (supratentorial) y después, se realizan cortes verticales de éste (perpendiculares a la cisura interhemisférica), obteniendo cuatro grandes regiones: Anterior (A) y Posterior (P): cortes desde el cuerpo mamilar hacia la zona frontal y la zona occipital, respectivamente; Cerebelo (C): cortes del cerebelo; y Tronco del encéfalo (T).



Figura 4. Imágenes de secciones de tejido fijadas con formaldehído del hemisferio izquierdo obtenidas por cortes coronales. Imágenes cedidas por el director científico Javier Herrero del Banco de Tejidos Neurológicos del Instituto de Neurociencias de Castilla y León (BTN-INCYL).



Figura 5. Toma de muestras de 25 áreas cerebrales fijadas de secciones de tejido loncheadas del hemisferio izquierdo para ser encastadas en parafina. Imagen cedida por el director científico Javier Herrero del Banco de Tejidos Neurológicos del Instituto de Neurociencias de Castilla y León (BTN-INCYL).

Áreas Cerebrales			
Área Motora (AM)	Caudado Lenticular (CL)	Hipófisis (Hp)	Protuberancia Inferior (Pi)
Amígdala (A)	Caudado Putamen (CP)	Hipotálamo (HT)	Protuberancia Media (PM)
Arteria Cerebral Media (ACM)	Cuerpo Calloso (CC)	Ínsula (I)	Protuberancia Superior (PS)
Bulbo Inferior (BI)	Frontal Basal (FB)	Médula Cervical (MC)	Tálamo (T)
Bulbo Medio (BM)	Frontal Externo (FE)	Mesencéfalo (M)	Temporal Externo (TE)
Bulbo Olfactorio (BO)	Hemisferio Cerebeloso (HC)	Occipital Externo (OE)	Temporal Interno (TI)
Bulbo Superior (BS)	Hipocampo Anterior (HA)	Parietal Externo (PE)	Tronco Basilar (TB)
Calcarina (C)	Hipocampo Posterior (HP)	Periventricular (PV)	Vermis Cerebeloso (VB)

Tabla 1. Lista de 32 áreas cerebrales de las lonchas de tejido fijadas del hemisferio izquierdo que se toman como referencia para realizar los estudios histológicos.

ii. Datos asociados a las muestras

Para una esencial utilidad de los tejidos neurológicos donados es necesario que éstos estén asociados una serie de datos del donante, muchos de ellos incluidos en el propio documento “Consentimiento Informado”, como los datos personales, algunos antecedentes familiares y el diagnóstico clínico neurológicos (si lo hubiere). Otros datos de interés que son convenientes recabar son la causa del fallecimiento (en el caso de donación post-mortem) y el disponer de al menos un resumen del historial clínico del donante. Todos estos datos asociados a las muestras deben ser rigurosamente almacenados en un sistema de gestión de datos que dependerá del presupuesto, la seguridad o el tipo de laboratorio que posea el BTN, siendo obligatorio respetar en todo momento los derechos propios del paciente y a la vez cumplir con los requisitos dictados por la normativa descrita en el apartado “Aspectos legales”. Asimismo, es imprescindible mantener la anonimización de cada muestra en la identificación de cada una de ellas y en todas las que se generen en todos los procesos que se lleven a cabo para cada caso donado.

iii. Cesión de muestras

El BTN actúa como centro responsable del almacenamiento de muestras de tejidos neurológicos por lo que debe tener un protocolo de cesión/transferencia de muestras tal y como detalla la *LIB*. Las muestras de tejido neurológico (congeladas, en bloques en parafina, en portaobjetos con secciones de tejido con o sin una determinada técnica histológica o inmunohistoquímica, etc.) pueden ser cedidas a cualquier investigador del mundo mediante una solicitud con el fin de llevar a cabo una investigación determinada. Para ello, el científico solicitante puede comunicarse con el BTN y, tras la comprobación por parte de este centro de la disponibilidad de las muestras solicitadas, debe completar una solicitud formal junto con la aceptación de su comité ético para ser revisada por el director científico del biobanco (Campbell et al., 2018). Esta solicitud, consiste en un resumen del proyecto de investigación financiado en el que se utilizarán las muestras solicitadas y un resumen de las características de éstas (muestras con una determinada patología o no, número de casos solicitados y descripción de las áreas encefálicas solicitadas), debe ser evaluada por los dos comités externos asociados a su biobanco, ético y científico, dictaminando que la cesión de las muestras sea favorable o no. En el primero de los casos, ambos comités determinan que se respetan los derechos de los donantes y que el tejido cedido a la investigación será útil en el desarrollo de un proyecto de investigación de relevancia y en un grupo de investigación apto para llevarla a cabo. Finalmente, una vez concertada la cesión de muestras, se firmará un acuerdo en el que figura el compromiso del investigador para utilizar tales muestras exclusivamente para el desarrollo del proyecto de investigación indicado en su solicitud, destruir o devolver al BTN los excedentes de las muestras resultantes de la investigación (si las hubiese) y remitir al BTN todas cuantas publicaciones científicas se generen con las muestras cedidas mencionando explícitamente a este.

Por último, es necesario destacar que los biobancos no pueden cobrar por las cesiones de muestras, únicamente pueden obtener este tipo de beneficio económico por el procesamiento que han realizado para obtener determinada muestra, por ejemplo, por la obtención de los bloques en parafina o los portaobjetos con secciones de tejido con una determinada técnica histológica como la hematoxilina-eosina.

iv. Sistemas y controles de calidad

Tal y como exige el *Real Decreto 1716/2011* se debe establecer un Sistema de Gestión de Calidad (SGC) que garantice el buen funcionamiento del biobanco. Para ello, se recomienda que estas entidades de servicio a la investigación deberían cumplir con al menos una de las dos normas de la *International Standard Organization* (ISO): la norma ISO 9001:2015, a través de la cual se certifica que el biobanco en cuestión cumple con la responsabilidad de liderazgo y dirección, planificación y realización de producto, evaluación de desempeño y búsqueda de la mejora continua, y la norma UNE-EN ISO 20387:2018, por la que demuestra al organismo nacional, Entidad Nacional de Acreditación (*ENAC*, 2018), que tiene la competencia técnica para realizar su actividad. Además, recomiendan que todos los biobancos trabajen en base a Guías de Buenas Prácticas (BP) establecidas por la *International Society for Biological and Environmental Repositories* (Campbell et al., 2018; Bellmunt et al., 2012).

El establecimiento de un SGC por parte de un biobanco, definido como el conjunto de actividades que se desarrollan en él y que condicionan directamente la calidad de los servicios que va a ofrecer a los usuarios, demuestra que cumple con una serie de requisitos generales, tanto internos (legales, reglamentarios y uso óptimo de sus recursos) como externos (de los usuarios – donantes e investigadores-, entidades que lo financian, centros que colaboran, etc.), con el fin de garantizar la

calidad, seguridad y trazabilidad de las muestras y datos asociados que custodia, así como de los distintos procesos que lleva a cabo para su obtención, gestiona eficientemente todos sus recursos y protege la satisfacción de sus “clientes” (donantes e investigadores del biobanco).

De forma más específica, un requisito básico en cualquier SGC es el registro y control de la documentación que se genere, siendo esencial la confidencialidad de las muestras junto con sus datos asociados en todos los documentos, fundamentalmente en los manuales de los procesos/procedimientos y protocolos normalizados de trabajo (PNTs) donde se recoge el qué, quién, cómo, cuándo y dónde para el desarrollo de cada actividad del biobanco. A su vez, debe presentar un mapa de procesos (*Figura 6*) donde queden reflejadas todas las operaciones realizadas en el biobanco, la interacción entre ellas y el responsable asignado en cada proceso. Otro tipo de documentación necesaria en un SGC es un registro del proceso de compras, así como el de la política de calidad, los objetivos de calidad y el manual de calidad (Campbell et al., 2018).



Figura 6. Estructura de un mapa de procesos de la Red Valenciana de Biobancos (RVB)
(Fundació Fisabio, 2014).

Todos estos datos almacenados tienen que cumplir con los requisitos de control y seguridad, detallados en la *LO 3/218*, a través de, por ejemplo, la realización de múltiples copias de seguridad o el acceso mediante contraseñas personales. En muchas ocasiones, este cometido se externaliza a una entidad especializada como Noraybio (<https://www.noraybio.com/>), de manera que, tras la firma de un contrato entre el BTN y la empresa, esta última se convertirá en la responsable del tratamiento y la seguridad de la documentación pertinente.

Por otra parte, la estructura de un BTN tiene que estar estipulada y planificada con anterioridad, por lo que debe diseñarse un organigrama donde queden detalladas tanto las responsabilidades como la cualificación para optar a cada puesto, y la consecuente asignación de cada cargo, de manera que cada biobanco deberá contar con, al menos, un responsable de calidad, un director científico, un delegado de protección de datos y varios técnicos de laboratorio.

Con respecto a las muestras de tejidos neurológicos con las que se trabaja en un BTN, éstas suelen proceder de aquel hospital u hospitales con el que el biobanco ha firmado previamente una serie de convenios de colaboración a partir de los cuales dicho centro sanitario se convierte en el proveedor principal de muestras. Para que estas sean aceptadas por el BTN deben seguir un riguroso protocolo de

calidad, donde se tienen en cuenta principalmente dos características: el IPM y las condiciones de preservación durante el traslado; si bien cada BTN tendrá sus requisitos particulares para considerar una muestra válida o no para su actividad. Un caso a destacar es el de una muestra de líquido cefalorraquídeo (LCR), donde el tiempo transcurrido no puede superar las 5 horas y deben estudiarse parámetros tales como color y, tal y como se indicó anteriormente, el pH, para considerar si es apto para su almacenamiento en el biobanco.

Para verificar que todos los procesos del biobanco transcurren según lo previsto es imprescindible implantar un plan de revisión basado en informes y auditorías, internas y/o externas, con el fin de estimar la eficacia y eficiencia de los tratamientos y evitar situaciones de no conformidad, procurando conseguir una mejora continua del sistema a través de la implementación de acciones correctivas, donde se busca suprimir la causa que genera la anomalía detectada, y preventivas, donde se descarta la causa del defecto potencial. Todo ello sirve para asegurar el cumplimiento de los objetivos de acuerdo a los indicadores de calidad marcados (García-Montero et al., 2012).

v. Bioseguridad

Uno de los aspectos más importantes para el buen funcionamiento de un BTN es el concepto de bioseguridad, definido como el conjunto de medidas y procedimientos personales e institucionales, diseñado para prevenir accidentes en el uso de muestras humanas para investigación y las herramientas tecnológicas asociadas, evitando lesiones al propio cuerpo y al medio ambiente (Bellmunt et al., 2012). Así, cada uno de los procesos llevados a cabo en el biobanco deben hacerse en condiciones de seguridad, atendiendo a la *Ley 14/2007 de 3 de julio de Investigación Biomédica*.

Para ello, un BTN debe disponer de un plan de gestión de bioseguridad para asegurar la seguridad de su personal, tal y como rige el artículo 6 del *Real Decreto 1716/2011*, cumpliendo los cuatro principios de bioseguridad: (i) universalidad, ya que todo trabajador debe ser conocedor y cumplir con las medidas de seguridad, (ii) hacer uso de barreras de protección para evitar la exposición a materiales potencialmente peligrosos, (iii) llevar a cabo medidas de eliminación de material contaminado, y (iv) conocer los factores de riesgo de transmisión de agentes infecciosos y actuar acorde al nivel de bioseguridad que se requiere en cada caso.

En un BTN son muy importantes las medidas de bioseguridad en la obtención y almacenamiento de las muestras de tejido neurológico en la sala de autopsias, lugar donde se pueden producir más accidentes laborales. De este modo, en este espacio se deben de tomar específicas medidas de seguridad para multitud de actuaciones, como el prevenir caídas, cortes con herramientas, sobreesfuerzos al movilizar al fallecido, contactos eléctricos al trabajar con materiales que presenten aislamiento deteriorado, exposición a agentes químicos, siendo el formol uno de los más usuales por su toxicidad al inhalar o contactar con la piel, o exposición a radiaciones ionizantes en caso de que el donante hubiera sido tratado con radiación mediante implantes radioactivos. Asimismo, al realizarse una extracción de tejido neurológico a un cadáver debe tenerse especial cuidado para prevenir la exposición a distintos tipos de agentes biológicos ya que el contagio puede producirse por inoculación, salpicadura, inhalación de aerosoles, etc. A este respecto, en función de los cuatro grupos de riesgo en los que se agrupan a los microorganismos (*Tabla 2*), se puede clasificar los laboratorios en otros cuatro niveles de bioseguridad («BOE» núm. 124, 1997):

-Nivel de bioseguridad 1 (BioSafety Level 1, BSL1): Laboratorio donde se trabaja con organismos de escaso o nulo riesgo infeccioso.

-Nivel de bioseguridad 2 (BSL2): Laboratorio donde el riesgo de causar una enfermedad por un agente biológico es bajo. La mayoría de los laboratorios pertenecen a este nivel, incluidos los biobancos y las propias salas de autopsias de los BTNs, a excepción de muestras que contienen agentes patógenos, como los priones, que conllevarían un nivel de seguridad mayor (BSL3).

-Nivel de bioseguridad 3 (BSL3): Laboratorios de contención donde el riesgo de infección es elevado, aunque el riesgo poblacional es menor.

-Nivel de bioseguridad 4 (BSL4): Laboratorios de máxima seguridad biológica con riesgo tanto individual como poblacional máximo. El coronavirus COVID19 sería adecuado para este nivel de bioseguridad.

Agente biológico del grupo de riesgo	Riesgo infeccioso	Riesgo de propagación a la colectividad	Profilaxis o tratamiento eficaz
1	Poco probable que cause enfermedad	No	Innecesario
2	Pueden causar una enfermedad y constituir un peligro para los trabajadores	Poco probable	Possible generalmente
3	Pueden provocar una enfermedad grave y constituir un serio peligro para los trabajadores	Probable	Possible generalmente
4	Provocan una enfermedad grave y constituyen un serio peligro para los trabajadores	Elevado	No conocido en la actualidad

Tabla 2. Clasificación del nivel de riesgo en función de lo potencialmente infeccioso que sea el agente biológico a tratar. RD 664/1997 (INSHT, 2014)

Por otra parte, se han descrito una serie de pautas para reducir o eliminar la exposición a los agentes biológicos, las denominadas acciones de contención que pueden clasificarse por categorías. Así, la contención primaria recoge a aquellos instrumentos o técnicas que aseguran la seguridad personal, como los elementos de protección personal (EPP) (*Figura 7*), las cabinas de bioseguridad biológica (BSC), las técnicas de buenas prácticas de laboratorio (BPL: uso de batas de laboratorio, descontaminación de las superficies de trabajo tras cada procedimiento, lavado de manos, etc.), la vacunación o esterilización, y la desinfección de instrumentales y superficies. En cuanto a la contención secundaria, ésta agrupa en el caso de los BTNs específicas instalaciones disponibles en una sala de autopsias, como la disponibilidad de sistemas de descontaminación, la obligatoriedad de un determinado flujo de circulación del personal, así como los sistemas que producen una presión de aire negativa en estas salas. Por último, la contención terciaria, también denominada específica, presenta métodos de desinfección más eficaces como el uso de técnicas de esterilización por calor húmedo, empleando el autoclave, o el uso de hipoclorito sódico (lejía) durante una hora como método de esterilización.



Figura 7. Ejemplos de señalización de elementos de protección personal en laboratorio (Contención primaria) (Ágora Integradores S.A.S, s.f.).

También en el transporte de las muestras biológicas se deben tener en cuenta determinadas medidas de bioseguridad en función de que estas muestras presenten (o no) capacidad infectiva, es decir, contengan un agente patógeno. Si se da este último caso, se deberán tomar las medidas de seguridad biológica acordes al tipo de agente infeccioso que se transporte. Este tipo de agentes o sustancias infecciosas se han categorizado de dos tipos:

-Sustancias infecciosas de categoría A: son las que presentan la capacidad de infectar a seres humanos y animales pudiendo conllevar una enfermedad mortal como, por ejemplo, el virus de la hepatitis B. El transporte de este tipo de sustancias se le identifica con una pegatina con el nº UN2814.

-Sustancias infecciosas de categoría B: son las que no presentan las condiciones para pertenecer a la categoría A (la mayoría de las muestras de un biobanco) y se identifican con el nº UN3373.

Por otra parte, el transporte de paquetes con el nº UN1845 identifica muestras biológicas que, previo al envío, han sido sometidas a tratamientos para neutralizar los agentes infecciosos y suelen transportarse en hielo seco o dióxido de carbono sódico. Además, en el caso del transporte de muestras que contengan líquidos criogénicos, éstas deberán presentar la etiqueta correspondiente que advierta del riesgo de nitrógeno líquido, así como la de manipulación para líquidos criogénicos (IGTP, 2012).

En cuanto al empaquetado de sustancias infecciosas, estos deben cumplir el sistema de triple contenedor (*Figura 8*). Este método de embalaje se compone de un contenedor primario en el que se deposita la muestra, debe ser hermético y estar rodeado por un recubrimiento acolchado, para evitar roturas, y absorbente para que, en caso de que eso ocurriese, poder absorber el líquido vertido. Seguido a este, un contenedor secundario recubre uno o varios contenedores primarios y, al igual que estos, también deberá ser hermético y a prueba de roturas; en él se incluirá la información detallada de la muestra transportada, así como información relativa al remitente y receptor. Finalmente, se localiza el contenedor de transporte externo, el cual tiene la función de proteger al contenedor secundario de daño mecánico o filtración de agua. Al igual que el anterior, también ha de aportar todos los datos pertinentes para su identificación y envío, así como la señalización oficial según el tipo de sustancia a transportar. En los casos donde se transporte la muestra biológica con hielo seco (nº UN1845), el paquete deberá disponer de un sobrecontenedor señalizado con la documentación necesaria (WHO, 2005; Instituto de Salud Carlos III, 2012).

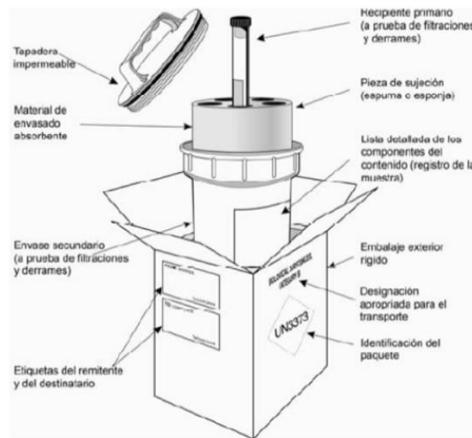


Figura 8. Esquema del triple contenedor utilizado para el transporte de sustancias infecciosas de categoría B (IGTP, 2012).

Por último, también se deben tener en cuenta una serie de medidas de seguridad en la manipulación de biorresiduos. Así, estos residuos biológicos se clasifican en residuos generales (Clase I), residuos biosanitarios asimilables a urbanos (Clase II), que se eliminarán por el desagüe de la pila del propio laboratorio si antes son desactivados a través de soluciones desinfectantes, y biosanitarios especiales (Clase III), que no se deben mezclar nunca y deben ser recogidos para su eliminación debidamente etiquetados (Campbell et al., 2018).

b. Donantes y tipos de donaciones de tejidos neurológicos

i. El donante y el consentimiento informado

En primer lugar, es importante clarificar que cualquier persona puede ser donante si cumple con los criterios de selección, es decir, cualquier individuo puede ceder órganos o estructuras de su sistema nervioso a un biobanco con fines científicos en el ámbito de la medicina. En el caso de los BTNs, en principio todos ellos admiten cualquier tipo de donante y a cualquier edad, desde la donación procedente de un paciente sano desde el punto de vista neurológico hasta el de un donante con algún tipo de afectación neurológica y/o psiquiátrica. Únicamente los BTNs que disponen de una sala de autopsias con BSL3 pueden admitir donantes con sospechas de patología priónica. Este permiso por parte del donante quedará reflejado en un documento denominado “Consentimiento Informado, CI”, gracias al cual el sujeto declara de forma libre y consciente su intención de donar estructuras anatómicas para investigación biomédica; si bien el sujeto puede rescindir este documento en cualquier momento (Campbell et al., 2018). En este escrito deben quedar reflejados objetivos, beneficios y riesgos de la donación, así como derechos y responsabilidades del donante. A su vez, deberá presentar una cláusula que permita, en este caso para un BTN, ser conocedor de su historial clínico con el fin de ejercer el derecho de la protección de datos del donante, pero que a la vez proporcione información que ayudará al diagnóstico neuropatológico. En función de la situación personal de cada donante, los biobancos ponen a disposición de los donantes distintos tipos de CI: para un paciente capaz desde el punto de vista cognitivo, incapacitado cognitivamente, por orden judicial o sin ella, para menores de edad y post-mortem, en estos tres últimos casos, un tutor legal y/o familiar del donante puede autorizar la donación con su firma en el CI, teniendo siempre en cuenta el hecho de que el donante en ningún momento pudiera haber expresado su oposición de forma explícita o implícita a este proceso de la donación (Carnero-Pardo, 2019).

Este beneplácito también puede quedar reflejado en el Documento de Instrucciones Previas o Testamento vital, a través del cual una persona expresa sus deseos anticipadamente sobre el cuidado y tratamiento de su salud o el destino de su cuerpo, para que esa voluntad se cumpla en el momento en que esa persona llegue a determinadas situaciones clínicas, al final de su vida, que le impidan expresar su voluntad personalmente, según lo descrito en la Ley 41/2002. De forma resumida, este documento debe formalizarse por escrito en presencia de 3 testigos ante un notario, en unidades administrativas de instituciones y centros sanitarios o bien, expresar su voluntad de manera que se incorpore directamente en su historia clínica (Aznar-Domingo, 2023).

ii. Tipos de donaciones

Como se acaba de mencionar, las donaciones que admite un BTN pueden provenir de individuos de todas las edades, padecientes de alguna patología neurológica y/o psiquiátrica. Asimismo, son igualmente necesarias las donaciones de los denominados “controles”, provenientes de individuos que no poseen en principio ninguna patología neurológica evidente, pero que son imprescindibles y totalmente esenciales para la investigación al ser usados como valores de referencia o para normalizar en el método científico (Herrero-Turrión, 2020).

1. Algunas de las principales enfermedades neurodegenerativas de importancia en un BTN.

En primer lugar, es conocido que las células eucariotas llevan a cabo un proceso biológico denominado ubiquitinación, mediante el cual en un determinado momento las proteínas son marcadas, al unirse a éstas una o varias moléculas de la proteína ubiquitina, para su degradación, regulación o localización. De este modo, de forma muy escueta, proteínas mal plegadas en las células, y consecuentemente, infuncionales y/o incluso perjudiciales para la vida celular, pueden ser degradadas a través del sistema ubiquitina-proteasoma consistente en que en respuesta a determinadas señales moleculares estas proteínas son marcadas con ubiquitina y destruidas por el proteasoma (complejo multiproteínico con actividad de endoproteasa); finalmente, mediante la autofagia, proceso catabólico que se localiza en todos los lisosomas de los eucariotas, todos los restos de estas proteínas son eliminadas de las células. Lamentablemente, en el ser humano y asociado a los procesos de envejecimiento, estas vías ubiquitina-proteasoma y autofagia van disminuyendo su actividad conllevando un aumento del riesgo de padecer algún tipo de enfermedad neurodegenerativa (Watanabe et al, 2020), como las descritas a continuación.

- Enfermedad de Alzheimer (EA)

La enfermedad de Alzheimer es la enfermedad neurodegenerativa con mayor prevalencia y se caracteriza por una pérdida progresiva y temprana de la memoria, sumado a, en etapas posteriores, una afectación del lóbulo parietal con disfasia y disgraxia. En última instancia conduce a mutismo e inmovilidad, conllevando finalmente la muerte de los pacientes debido a neumonías por broncoaspiración.

En la mayoría de los casos se producen a partir de los 65 años y son esporádicos, denominada EA de aparición tardía (*Late-Onset Alzheimer's Disease*, LOAD), sin embargo, alrededor de un 5% se desarrollan antes de dicha edad, considerándose de aparición temprana (*Early-Onset Alzheimer's*

Disease, EOAD). Algunos de los casos con la EOAD, se encuentran asociados a un factor de herencia dominante causado por determinadas mutaciones en tres genes, el codificador de la proteína precursora del amiloide (*PPA*), el de la presenilina 1 (*PSEN1*) y el de la presenilina 2 (*PSEN2*) (Deture & Dickson, 2019). Otros factores como el evidente de la edad, el poseer el alelo $\epsilon 4$ del gen *APOE* o un historial familiar asociado a este tipo de patología, incrementan el riesgo de padecer dicha afección. Asimismo, aquellos individuos con trisomía 21, padecientes de la enfermedad de síndrome de Down, son más susceptibles de sufrir EA debido a la localización en el cromosoma 21 del gen que codifica la *PPA*, por lo que al presentar una copia adicional hay más riesgo de depósito de fragmentos de beta-amiloide en el parénquima cerebral (Deture & Dickson, 2019).

El diagnóstico neuropatológico de la EA se inicia con un examen macroscópico del cerebro en el que, aunque no resulta del todo preciso en algunas ocasiones, puede apreciarse atrofia cerebral, más acentuada en el lóbulo temporal, de manera que las circunvoluciones se estrechan mientras que los surcos se ensanchan (Whitwell, 2010). A continuación, la exploración microscópica validará de forma rigurosa esta enfermedad neuropatológica con la identificación de las denominadas placas seniles y los ovillos neurofibrilares (*NeuroFibrillary Tangles*, NFT). En el primer caso, se tratan de depósitos de beta-amiloide formados por la actividad de la enzima beta-secretasa sobre la *PPA* (Figura 9) (Trejo-Lopez et al., 2022). A este respecto cabe destacar que existen dos tipos de depósitos de beta-amiloide, los difusos, que no presentan la proteína tau fosforilada asociada y se pueden detectar en cerebros de individuos con un envejecimiento considerado normal, y los depósitos focales, que son extracelulares e intensamente inmunoreactivos, donde se incluyen fundamentalmente un tipo de placas compactas, llamadas neuríticas, que son las vinculadas con el daño neuronal al presentar un aumento en la pérdida de sinapsis local y activación de células gliales (Hyman et al., 2012).

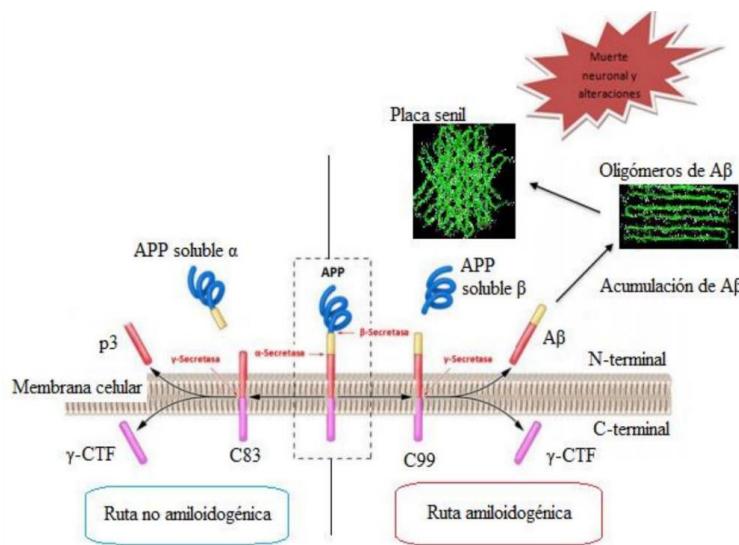


Figura 9. Representación esquemática de la vía beta-amiloide que conduce a la patología de la enfermedad de Alzheimer (ruta amiloidogénica) (Aguirre-Rueda, 2014).

En lo que respecta a los ovillos neurofibrilares (NFT), se tratan de inclusiones formadas por conglomerados filamentosos de tau fosforilada, proteína clave en la estabilización de los microtúbulos del citoesqueleto. Este tipo de agregados citoplasmáticos se producen por una hiperfosforilación de la proteína tau que desencadena una despolimerización de los microtúbulos provocando, en último término, una acumulación de proteínas tau insolubles formando protómeros que se entrelazan conformando los NFT (Figura 10).

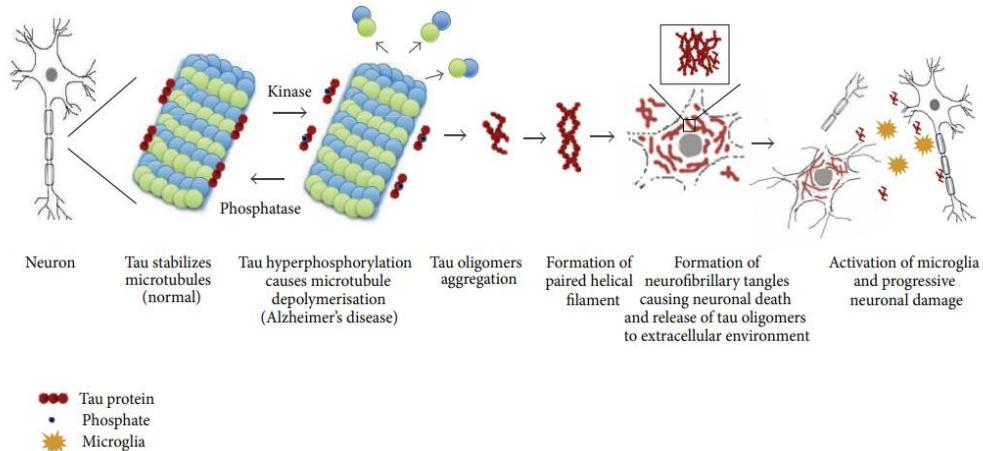


Figura 10. Formación de ovillos neurofibrilares (Mokhtar et al., 2013).

La EA se puede evaluar mediante tres tipos de sistemas. En primer lugar, se puede estadificar, según la ubicación en distintas áreas cerebrales de los depósitos de la proteína tau, en un sistema de 3 niveles según las etapas establecidas por el neuroanatomista Heiko Braak (1937-): B1, de acuerdo con las etapas de Braak I y II propia de pacientes con presencia de ovillos neurofibrilares solo en la región transentorrinal, B2 en relación a los estadios III y IV, y B3 englobando las etapas V y VI donde la demencia es más perceptible y se observa afectación en la región occipital estriada y paraestriada (Trejo-Lopez et al., 2022). Otra forma de evaluación de esta patología es mediante el estudio de placas neuríticas (NP) a través del sistema CERAD (*Consortium to Establish a Registry of Alzheimer's Disease*), donde se tiene en cuenta la edad del individuo, así como la presencia o no de demencia. Se dan valores de 0 a C siendo 0: "ausencia de evidencia histológica de enfermedad" y A, B y C: "EA posible, probable o definitiva". Por último, en el año 2008 se elaboró un sistema más simplificado que radica en la evaluación de las hebras de neuropilo teñidas con inmunohistoquímica de tau fosforilada en el hipocampo anterior y posterior, la corteza temporal y el lóbulo occipital (Alafuzoff et al., 2008). Estos tres sistemas de evaluación de la EA se integran en el denominado sistema "ABC" de la NIA-AA (*National Institute on Aging and Alzheimer's Association*) que obtiene diferentes niveles de riesgo de esta patología neurodegenerativa (*Tabla 3*).

"A"	Thal Phase for A _β plaques [57]	"B"	Braak and Braak NFT stage [14,15]	"C"	CERAD neuritic plaque score [41]
0	0	0	None	0	None
1	1 or 2	1	I or II	1	Sparse
2	3	2	III or IV	2	Moderate
3	4 or 5	3	V or VI	3	Frequent

Tabla 3: Puntuación del sistema "ABC" para el cambio neuropatológico de la patología del Alzheimer, haciendo referencia "A" a los depósitos de beta-amiloide, "B" a los estadios de NFT y "C" a la evaluación de las placas neuríticas (Montine et al., 2012).

- Enfermedad de Parkinson (EP)

La enfermedad de Parkinson se trata de un trastorno neurodegenerativo con una sintomatología caracterizada por rigidez muscular, bradicinesia, temblor y ataxia postural, debido todo ello a la degeneración de las neuronas dopamínergicas, así como a la formación de los denominados cuerpos de Lewy (*Lewy Body*, LBs), conformados por la proteína alfa-sinucleína (α Syn). A pesar de que la mayor parte de los casos de esta patología son esporádicos, entre el 10 y el 15% se deben a mutaciones sin sentido en el gen que codifica la proteína α Syn, SNCA (Koeglsperger et al., 2023).

A diferencia de la EA, en el análisis neuropatológico a nivel macroscópico de la EP no se observa atrofia, pero si se puede identificar la despigmentación de la sustancia negra del mesencéfalo, al estar compuesta esta región por grupos de neuronas dopaminérgicas que poseen neuromelanina, así como también del *locus coeruleus*, localizado en la protuberancia del tronco encefálico. A nivel microscópico, con carácter general se identifica una pérdida de las neuronas dopaminérgicas con neuromelanina en la sustancia negra, más recalcada en el área ventrolateral, así como la presencia de numerosos cuerpos de Lewy y neuritas de Lewy, las prolongaciones o procesos neuronales de los LBs (Dickson, 2012).

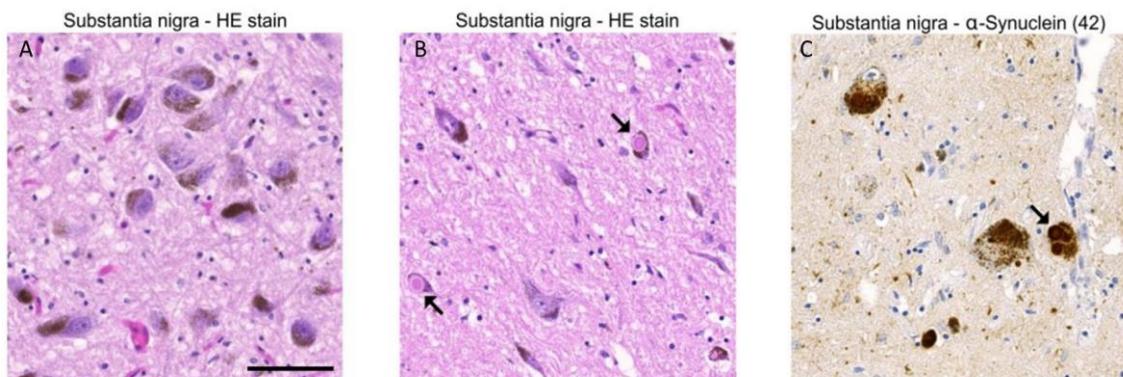


Figura 11. A: Tejido de sustancia negra sin EP. B: Sustancia negra con neuronas que muestran cuerpos de Lewy (flechas). C: Tinción inmunohistoquímica contra la proteína alfa-sinucleína donde se puede identificar los cuerpos de Lewy. (Koeglsperger et al., 2023).

Como se acaba de indicar, la EP es una de las enfermedades neurodegenerativas (no la única) caracterizada por la presencia de cuerpos de Lewy, por lo que, para validarla anatomicamente, inicialmente se estudia la existencia de las agrupaciones de la proteína α Syn que caracterizan los LBs mediante inmunohistoquímica en dos áreas cerebrales, la corteza cingulada, una parte del cerebro situada en la cara medial de la corteza cerebral, y el bulbo raquídeo, parte terminal del tronco encefálico. Seguidamente, se analiza la patología asociada a la alfa-sinucleína que determinará con exactitud el tipo de enfermedad neurodegenerativa caracterizada con LBs, empleando dos sistemas de evaluación, la estadificación en seis estadios, según Braak, o en tres estadios (troncoencéfalo, límbico y neocortical), según Mc Keith (Alafuzoff et al., 2009). Además del diagnóstico neuropatológico y evidentemente el estudio post-mortem, el cuadro clínico específico en vida es determinante para lograr un diagnóstico precoz de la EP. Así, por ejemplo, se estudia si el paciente padece trastorno del sueño REM o anosmia (disfunción olfatoria) ya que se tratan de síntomas iniciales de este tipo de enfermedad (Koeglsperger et al., 2023).

- Esclerosis Lateral Amiotrófica (ELA)

La Esclerosis Lateral Amiotrófica (ELA) es una enfermedad causada por la muerte de las motoneuronas superiores e inferiores del sistema nervioso dando lugar a una parálisis muscular progresiva, acompañada de una hiperreflexia (Truffert et al., 2023). El 50% de los casos de ELA también presentan un perfil sintomático relacionado con la pérdida de la capacidad cognitiva, donde además algunos de los afectados llegan a padecer demencia (ELA-D) (Murakami et al., 2022). Sin embargo, es habitual que funciones tales como la sensibilidad o la inteligencia no sean afectadas. Asimismo, los movimientos oculares y las funciones anorrectales se conservan sin anomalías en los pacientes con este tipo de enfermedad (Sánchez-López et al., 2014).

Al igual que las anteriores enfermedades neurodegenerativas nombradas, el ELA es también mayoritariamente esporádica, sin haberse dictaminado aún con claridad los factores de riesgo asociados a ella. A pesar de este hecho, se ha identificado que alrededor de un 10% de los casos de ELA son hereditarios, englobados en lo que se conoce como ELA familiar, donde son determinantes la presencia de mutaciones en el gen codificador de la enzima superóxido dismutasa-1 (*SOD-1*) y en el gen *TARDBP* (*TransActive Response DNA Binding Protein*) que codifica la proteína TDP-43 (*TAR DNA binding Protein* 43 kDa). Sin embargo, se ha determinado que la causa genética más habitual en el ELA familiar se debe a la presencia de repeticiones de los nucleótidos guanosina y citosina (GGGCC) expandidas de manera anormal en el gen *C9orf72* (*chromosome 9 open reading frame 72*) (Jankovska et al., 2021). En el caso de la ELA juvenil, mutaciones en el gen *FUS* (*FUS RNA binding protein*) es su causante.

En el ELA, a pesar de que macroscópicamente no se observan anomalías patentes más allá de una atrofia regional, a nivel microscópico y, gracias a la realización de tinciones histológicas como el *fast blue luxol* o la hematoxilina y eosina, se puede observar una reducción de grupos neuronales en específicas áreas cerebrales, especialmente en las motoneuronas alfa grandes en la asta anterior de la médula espinal, tronco encefálico y en la corteza motora (Jankovska et al., 2021). Otra característica microscópica de este trastorno neurodegenerativo es la transferencia de la ribonucleoproteína TDP-43 nuclear al citoplasma formando unos característicos depósitos patológicos. Sin embargo, la deslocalización y el plegamiento incorrecto de TDP-43 también puede ser debido a procesos asociados al envejecimiento, sin tener que estar relacionado con esta patología, o encontrarse en otro tipo de patologías como las relacionadas con cuerpos de Lewy (Eck et al., 2021).

- Enfermedades priónicas: la enfermedad de Creutzfeldt-Jacob (ECJ).

Las enfermedades priónicas son un grupo de patologías producidas por priones, partículas infectivas de naturaleza proteica con capacidad de resistir al proceso de desnaturización, siendo la más conocida la enfermedad de Creutzfeldt-Jacob (ECJ), aunque también hay otras como el kuru y el síndrome de Gerstmann-Straußler-Scheinker. De este modo, los priones acumulados en cerebros infectados por encefalopatías espongiformes forman placas amiloides gracias a su capacidad autorreplicativa, debida al cambio conformacional que sufre tras su replegamiento en láminas- β (Sánchez-Valle et al., 2001).

La ECJ es una enfermedad neurodegenerativa, fundamentalmente esporádica (85% de los casos), que afecta a 1,5-2 casos por millón de habitantes/año, con una sintomatología inespecífica. Como se indicó anteriormente en este TFG, en primer lugar, se deben tener en cuenta una serie de medidas de bioseguridad para la extracción del cerebro en el caso de un donante con una enfermedad priónica potencial, siendo la principal de ellas la realización de la necropsia en una sala de autopsias con nivel de bioseguridad BSL3. Posteriormente, para el estudio anatomopatológico como tal, las muestras de tejido nervioso deben someterse a ácido fórmico durante 1-3 horas o a una mezcla de hipoclorito sódico y formol antes de su inserción en parafina para asegurar la inactividad de la capacidad infectiva de los priones (Sakudo, 2020). Por otra parte, en el estudio anatomopatológico macroscópico no se muestran anomalías detectables significativas, aunque es habitual la atrofia cerebelosa. Sin embargo, en el examen histológico se aprecia pérdida neuronal, hiperplasia e hipertrofia de astrocitos y microglía, así como cambios espongiformes debido a la aparición de vacuolas en el neuropilo de la sustancia gris, dando lugar a depósitos de la proteína priónica celular patógena (PrP^{Sc}) detectables mediante inmunohistoquímica (Kortazar-Zubizarreta et al., 2021).

7. Conclusiones

- El objetivo de los Bancos de Tejidos Neurológicos (BTNs) es almacenar y clasificar muestras de tejido nervioso para posteriormente ser cedidas a proyectos de investigación con el fin último de avanzar en el conocimiento de las enfermedades neurológicas y psiquiátricas, muchas de ellas incurables actualmente, como las patologías neurodegenerativas, Alzheimer, Parkinson, ELA y ECJ.
- Cualquier individuo puede ser donante para un BTN sin importar la edad o si es paciente de una patología neurológica y/o psiquiátrica o no, ya que en este último caso sus muestras de tejido servirán de control en los proyectos de investigación de los que forme parte.
- Para asegurar una óptima calidad de las muestras de tejido neurológico donado, parámetros como el intervalo post-mortem y sus condiciones de preservación en todo momento son determinantes.
- Es obligatorio que, para cualquier tipo de donación a un biobanco, inclusive a un BTN, el donante y/o un tutor legal en su nombre deba haber llenado y firmado el “Consentimiento Informado”, documento mediante el cual éste muestra su libre voluntad de realizar tal donación y autoriza a que sus muestras de tejido derivadas pueden ser cedidas a proyectos de investigación que cumplan las estrictas condiciones legales establecidas.
- Junto a la obtención de la muestra de tejido neurológico es esencial que ésta tenga asociada una serie de datos, fundamentalmente clínicos, para poner en valor tal muestra y poder realizar un óptimo estudio anatomo-patológico. Esta clasificación neuropatológica es clave para que un BTN realice el servicio de calidad de cesión de muestras a proyectos de investigación.
- Es altamente recomendable el desarrollo de un Sistema de Gestión de Calidad (SGC) que regule todas las actividades que se realizan en un BTN, bien a través de la norma ISO 9001:2015 y/o la UNE-EN ISO 20387:2018, así como un plan de gestión de bioseguridad que avale tanto la calidad y trazabilidad de las muestras como la protección de los trabajadores.

Conclusions

- The aim of the neurological tissues banks is to store and classify brain tissue samples so that they can be ceded to research projects with the last aim of promoting the neurological and psychiatric diseases knowledge, many of them incurable nowadays, such as Alzheimer, Parkinson, ELA or ECJ.
- Any individual can be a donor for a BTN, regardless of the age or whether or not they are a patient of a neurological and/or psychiatric pathology, as in this last scenario its tissue samples will serve as a control in research projects where they belong to.
- It is mandatory that, for every kind of biobank donation, included a BTN, the donor and/or the legal tutor in their name, must fill and sign the “Informed Consent”, document through which the donor shows their free will to make such a donation and authorizes that its derived tissue samples may be released to research projects that meet the strict legal conditions laid down.
- In addition to obtaining the neurological tissue sample it's essential that this one has associated a series of data, fundamentally clinical, in order to enhance the value and be able to carry out a an optimal anatomopathological study. This neurological classification is key for a BTN to perform a quality service on the tissue transfer to research projects.
- It is highly recommended a development of a quality management system which regulates all the activities carried out in the BTNs complying with the normative ISO 9001:2015 and/or UNE-EN ISO 20387:2018 as well as a biosafety management plan to ensure both the quality and the tradability of the tissues and the workers protection.

8. Bibliografía

1. Kretzschmar, H. (2009). Brain banking: opportunities, challenges and meaning for the future. *Nature Reviews Neuroscience*, 10(1), 70-78. <https://doi.org/10.1038/nrn2535>
2. Fuentes, P. (2003). Enfermedad de Alzheimer: una nota histórica. *Revista Chilena de Neuro-Psiquiatría*, 41(SUPPL. 2), 9–12. <http://dx.doi.org/10.4067/S0717-92272003041200002>
3. Graeber, M.B., Kösel, S., Egensperger, R., Banati, R.B., Müller, U., Bise, K., Hoff, P., Möller, H.J., Fujisawa, K. & Mehraein, P. (1997). Rediscovery of the case described by Alois Alzheimer in 1911: historical, histological and molecular genetic analysis. *Neurogenetics*, 1, 73-80. <https://doi.org/10.1007/s100480050011>
4. Babinski, M. A., Cisne De Paula, R., Precht, B. L. C., Fontes, E. B., Babinski, M. A. & De Paula, R. C. (2014). Frederik Ruysch (1638-1731): Life and lessons from a memorable anatomist. *Eur J Anat*, 18(3), 205-208.
5. Arias, W. L. (2018). La frenología y sus implicancias: un poco de historia sobre un tema olvidado. *Revista chilena de neuro-psiquiatría*, 56(1), 36-45. <http://dx.doi.org/10.4067/s0717-92272018000100036>
6. Weiner, K. S. (2018). Neuronomy, education, and outreach in neuroscience: A historical case study of Burt Green Wilder. *Journal of the History of the Neurosciences*, 28(1), 42–63. <https://doi.org/10.1080/0964704X.2018.1510259>
7. Perrini, P., Montemurro, N., & Iannelli, A. (2013). The contribution of Carlo Giacomini (1840–1898): The limbus Giacomini and beyond. *Neurosurgery*, 72(3), 475-482. <https://doi.org/10.1227/NEU.0b013e31827fcda3>
8. Fernández, T. & Tamaro, E. (2004). *Biografía de Cesare Lombroso*. Biografías y Vidas. La enciclopedia biográfica en línea. <https://www.biografiasyvidas.com/biografia/l/lombroso.htm>
9. Wright Jr, J. R. (2023). Société Mutuelle d'Autopsie, American Anthropometric Society, and the Wilder Brain Collection. *Archives of Pathology & Laboratory Medicine*, 147(5), 611-623. <https://doi.org/10.5858/arpa.2021-0623-HP>
10. Burrell, B. (2005). *The Long, Strange Journey of Einstein's Brain*. NPR. <https://www.npr.org/2005/04/18/4602913/the-long-strange-journey-of-einsteins-brain>
11. Carlos, A. F., Poloni, T. E., Medici, V., Chikhladze, M., Guaita, A., & Ceróni, M. (2019). From brain collections to modern brain banks: A historical perspective. *Alzheimer's & Dementia: Translational Research & Clinical Interventions*, 5, 52–60. <https://doi.org/10.1016/j.trci.2018.12.002>
12. Brazier, M., Squier, W., Duyckaerts, C., Seilhean, D., Hauw, J. J., & Adamson, R. (2004). The human tissue bill. *The Lancet Neurology*, 3(11), 685-690. [https://doi.org/10.1016/S1474-4422\(04\)00909-3](https://doi.org/10.1016/S1474-4422(04)00909-3)
13. Torrades, S. (2001). La enfermedad de las vacas locas. *Offarm: farmacia y sociedad*, 20(3), 110-113. <https://www.elsevier.es/es-revista-offarm-4-articulo-la-enfermedad-vacas-locas-10022012>
14. Figols, J. (2011). A un buen amigo. Profesor Félix Cruz Sánchez. *Revista Española de Patología*, 44(4), 249–250. <https://doi.org/10.1016/j.patol.2011.09.001>
15. Tuñón, T., Bragado Acín, F.G., Casanova Aldave, J., & Manubens Bertrán, J.M. (2002). *Conferencias al V Congreso Virtual Hispanoamericano de Anatomía Patológica*. <https://conganat.uninet.edu/conferencias/C004/index.html>
16. Sociedad Española de Neurología. (s.f.). *Bancos de tejidos neurológicos Por qué es importante donar el cerebro para investigación*. <https://www.sen.es/attachments/article/3042/Banco%20de%20Tejido.pdf>
17. López-Muñoz, F. (2020). El Código de Núremberg: el amanecer de la bioética tras los crímenes del nazismo. *The Conversation*. <https://theconversation.com/el-codigo-de-nuremberg-el-amanecer-de-la-bioetica-tras-los-crimenes-del-nazismo-137492>
18. Martín Arribas, M. C. & AriasDíaz, J. (2011). Biobancos y utilización de muestras de origen humano en investigación quirúrgica. Marco normativo actual. *Cirugía Española*, 89(4), 207-212. <https://doi.org/10.1016/j.ciresp.2010.07.014>
19. Ley 41/2022, de 14 de noviembre, básica reguladora de la autonomía del paciente y de derechos y obligaciones en materia de información y documentación clínica. *Boletín Oficial del Estado*, 274, de 14 de noviembre de 2002. <https://www.boe.es/eli/es/I/2002/11/14/41/con>

20. Ley 14/2007, de 3 de julio, de Investigación bio-médica. *Boletín Oficial del Estado*, 159, de 3 de julio de 2007. <https://www.boe.es/eli/es/l/2007/07/03/14>
21. Real Decreto 1716/2011, de 18 de noviembre, por el que se establecen los requisitos básicos de autorización y funcionamiento de los biobancos con fines de investigación biomédica y del tratamiento de las muestras biológicas de origen humano, y se regula el funcionamiento y organización del Registro Nacional de Biobancos para investigación biomédica. *Boletín Oficial del Estado*, 290, de 2 de diciembre de 2011. <https://www.boe.es/eli/es/rd/2011/11/18/1716>
22. Reglamento (UE) 2016/679 del parlamento europeo y del consejo, de 27 de abril de 2016, relativo a la protección de las personas físicas en lo que respecta al tratamiento de datos personales y a la libre circulación de estos datos y por el que se deroga la Directiva 95/46/CE (Reglamento general de protección de datos). *Diario Oficial de la Unión Europea*, L119/1, de 27 de abril de 2016. <https://www.boe.es/doue/2016/119/L00001-00088.pdf>
23. Ley Orgánica 3/2018, de 5 de diciembre, de Protección de Datos Personales y garantía de los derechos digitales. *Boletín Oficial del Estado*, 294, de 5 de diciembre de 2018. <https://www.boe.es/eli/es/lo/2018/12/05/3/con>
24. Nacul, L., O'Donovan, D. G., Lacerda, E. M., Gveric, D., Goldring, K., Hall, A., Bowman, E. & Pheby, D. (2014). Considerations in establishing a post-mortem brain and tissue bank for the study of myalgic encephalomyelitis/chronic fatigue syndrome: a proposed protocol. *BMC research notes*, 7, 1-9. <https://doi.org/10.1186/1756-0500-7-370>
25. Figols-Ladrón de Guevara, J. (2004). Técnica de la autopsia neuropatológica. Técnica macroscópica de realización de la autopsia y procedimiento de obtención de muestras. *Revista Española de Patología*, 37 (1). <http://www.patologia.es/volumen37/vol37-num1/37-1n08.htm>
26. Ferrer, I. (2014). Brain Banking. *Encyclopedia of the Neurological Sciences* (pp. 467–473). Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-385157-4.00585-6>
27. Burger, P., Scheithauer, B., De Masters Ersen, A., Rodriguez, F., Tihan, T., & Rushing, E. Diagnostic Pathology – Neuropathology (1st edition). Amirsys Publishing Inc., Salt Lake City, 2012. ISBN-13 978-1931884587. *Neuropathol Appl Neurobiol*, 40, 664-665. <https://doi.org/10.1111/nan.12130>
28. Campbell, L. D., Astrin, J., Brody, R., De Souza, Y., Giri, J.G., Patel, A.A., Rawley-Payne, M., Rush, A. & Sieffert, N. (2018). *Buenas Prácticas: Recomendaciones para biobancos*. ISBER. https://www.juntadeandalucia.es/salud/biobanco/sites/default/files/users/user29/es_isberbestpractices-4thed_.pdf
29. ENAC, Entidad Nacional de Acreditación. (2018). ENAC, en disposición de acreditar biobancos según la norma ISO 20387. <https://www.enac.es/norma-iso20387-biobancos>
30. Bellmunt, E., Bosch, A., Cal, N., Judez, J., Lomba, I., Marín, M.J., Poo, M.E., Romeu, M., Sampol, M., Serrano, D., Serrano, E., Tortosa, R., & Val, V. (2012). *Código de buenas prácticas aplicables a biobancos de investigación biomédica en España*. Instituto de Salud Carlos III. <https://imas12.es/wp-content/uploads/2015/documentacion/GBP%20Biobancos.pdf>
31. Fundació Fisabio. (2014). *Sistema de Gestión de la Calidad - RVB*. <http://grupos.fisabio.san.gva.es/web/rvb/sistema-control-de-calidad>
32. García Montero, A.C., & Regalado Mayordomo, A. (2012). *Guía para la Implementación de un Sistema de Gestión de Calidad del Biobanco*. Instituto de Salud Carlos III. <https://redbiobancos.es/wp-content/uploads/guia-implantaciones-sistema-gestion-calidad-biobanco.pdf>
33. Real Decreto 664/1997, de 12 de mayo, sobre la protección de los trabajadores contra los riesgos relacionados con la exposición de agentes biológicos durante el trabajo. *Boletín Oficial del Estado*, 124, de 12 de mayo de 1997. <https://www.boe.es/eli/es/rd/1997/05/12/664/con>
34. Instituto Nacional de Seguridad e Higiene en el Trabajo (INSHT). (2014). *Guía técnica para la evaluación y prevención del riesgo relacionados con la exposición a agentes biológicos: Real Decreto 664/1997, de 12 de mayo, BOE nº 124, de 24 de mayo*. www.insht.es.
35. Ágora Integradores S.A.S. (s.f.). *Importancia de la señalización de seguridad*. <https://www.agoraintegradores.com/blog/señalizacion-de-bioseguridad/>
36. Tárraga, M., & Pedrosa, E. (2012). *Plan de gestión de la bioseguridad del biobanco IGTP-HUGTP*. IGTP-HUGTP Biobank, Barcelona.

https://www.germanstrias.org/media/upload/arxius/Technology%20and%20ServicesBiobanc/ARXIU%208_CASTELLA_CATALA.pdf

37. World Health Organization. (2005). *Guidance on regulations for the transportation of infectious substances* / World Health Organization. World Health Organization. <https://iris.who.int/handle/10665/69309>
38. Instituto Carlos III. (2012). *Transporte de Muestras para Biobancos*. Instituto de Salud Carlos III. <https://redbiobancos.es/wp-content/uploads/orientaciones-traslado-muestras-biologicas.pdf>
39. Carnero-Pardo, C. (2019). Entrevista temática al doctor Alberto Rábano: Bancos de cerebros. *Circunvalación del Hipocampo*. <https://www.hipocampo.org/entrevistas/AlbertoRabano.asp>.
40. Aznar-Domingo, A. (2023). Civil V-El Testamento Vital y la donación de órganos. ULL. Derecho civil. <https://docencia.aznar-abogados.com/modules.php?name=News&file=article&sid=648>
41. Herrero-Turrión, M.J. (2020). El cerebro también se puede donar (y no es necesario estar sano). *The Conversation*. <https://theconversation.com/el-cerebro-tambien-se-puede-donar-y-no-es-necesario-estar-sano-140522>
42. Watanabe, Y., Taguchi, K., & Tanaka, M. (2020). Ubiquitin, autophagy and neurodegenerative diseases. *Cells*, 9(9), 2022. <https://doi.org/10.3390/cells9092022>
43. Deture, M. A., & Dickson, D. W. (2019). The neuropathological diagnosis of Alzheimer's disease. *Molecular neurodegeneration*, 14(1), 32. <https://doi.org/10.1186/s13024-019-0333-5>
44. Whitwell, J. L. (2010). Progression of atrophy in Alzheimer's disease and related disorders. *Neurotoxicity research*, 18(3), 339-346. <https://doi.org/10.1007/s12640-010-9175-1>
45. Trejo-Lopez, J. A., Yachnis, A. T., & Prokop, S. (2022). Neuropathology of Alzheimer's disease. *Neurotherapeutics*, 19(1), 173-185. <https://doi.org/10.1007/s13311-021-01146-y>
46. Hyman, B. T., Phelps, C. H., Beach, T. G., Bigio, E. H., Cairns, N. J., Carrillo, M. C., Dickson, D. W., Dyychaerts, C., Frosch, M. P., Masliah, E., Mirra, S.S., Nelson, P.T., Schneider, J.A., Thal, D. R., Trojanowski, J.Q., Vinters, H.V., & Montine, T. J. (2012). National Institute on Aging-Alzheimer's Association guidelines for the neuropathologic assessment of Alzheimer's disease. *Alzheimer's & dementia*, 8(1), 1-13. <https://doi.org/10.1016/j.jalz.2011.10.007>
47. Aguirre-Rueda, D. (2014). *Daño inflamatorio y estrés oxidativo en la Enfermedad de Alzheimer. Efecto de polifenoles y cannabinoides* [Tesis doctoral, Universidad de Valencia]. <https://doi.org/10.13140/RG.2.1.5099.6080>
48. Mokhtar, S. H., Bakhuraysah, M. M., Cram, D. S., & Petratos, S. (2013). The Beta-Amyloid Protein of Alzheimer's Disease: Communication Breakdown by Modifying the Neuronal Cytoskeleton. *International journal of Alzheimer's disease*, 1, 910502. <https://doi.org/10.1155/2013/910502>
49. Alafuzoff, I., Arzberger, T., Al-Sarraj, S., Bodi, I., Bogdanovic, N., Braak, H., & Kretzschmar, H. (2008). Staging of neurofibrillary pathology in Alzheimer's disease: a study of the BrainNet Europe Consortium. *Brain pathology*, 18(4), 484-496. <https://doi.org/10.1111/j.1750-3639.2008.00147.x>
50. Montine, T. J., Phelps, C. H., Beach, T. G., Bigio, E. H., Cairns, N. J., Dickson, D. W., & Hyman, B. T. (2012). National Institute on Aging-Alzheimer's Association guidelines for the neuropathologic assessment of Alzheimer's disease: a practical approach. *Acta neuropathologica*, 123, 1-11. <https://doi.org/10.1007/s00401-011-0910-3>
51. Koeglsperger, T., Rumpf, S. L., Schließer, P., Struebing, F. L., Brendel, M., Levin, J., & Herms, J. (2023). Neuropathology of incidental Lewy body & prodromal Parkinson's disease. *Molecular Neurodegeneration*, 18(1), 32. <https://doi.org/10.1186/s13024-023-00622-7>
52. Dickson, D. W. (2012). Parkinson's disease and parkinsonism: neuropathology. *Cold Spring Harbor perspectives in medicine*, 2(8), a009258. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a009258>
53. Alafuzoff, I., Ince, P. G., Arzberger, T., Al-Sarraj, S., Bell, J., Bodi, I., & Kretzschmar, H. (2009). Staging/typing of Lewy body related α -synuclein pathology: a study of the BrainNet Europe Consortium. *Acta neuropathologica*, 117, 635-652. <https://doi.org/10.1007/s00401-009-0523-2>
54. Truffert, A., Sukockienè, E., Desmaison, A., Ališauskienè, M., Iancu Ferfoglia, R., & Guy, N. (2023). Combined tendon reflex and motor evoked potential recordings in amyotrophic lateral sclerosis. *Clinical Neurophysiology*, 147, 88–98. <https://doi.org/10.1016/j.clinph.2022.12.013>.

55. Murakami, A., Koga, S., Sekiya, H., Oskarsson, B., Boylan, K., Petruccielli, L., Josephs, K.A., & Dickson D.W. (2022). Old age amyotrophic lateral sclerosis and limbic TDP-43 pathology. *Brain Pathology*, 32(6), e13100. <https://doi.org/10.1111/bpa.13100>
56. Sánchez-López, C. R., Perestelo-Pérez, L., Ramos-Pérez, C., López-Bastida, J., & Serrano-Aguilar, P. (2014). Health-related quality of life in patients with amyotrophic lateral sclerosis. *Neurología (English Edition)*, 29(1), 27–35. <https://doi.org/10.1016/j.nrleng.2013.11.008>.
57. Jankovska, N., & Matej, R. (2021). Molecular pathology of ALS: what we currently know and what important information is still missing. *Diagnostics*, 11(8), 1365. <https://doi.org/10.3390/diagnostics11081365>
58. Eck, R.J., Kraemer, B.C. & Liachko, N.F. Regulation of TDP-43 phosphorylation in aging and disease. *GeroScience* 43, 1605–1614 (2021). <https://doi.org/10.1007/s11357-021-00383-5>
59. Tolosa, E., Saiz, A., Sánchez-Valle, R., Yagüe, J., Ribalta, T., & Graus, F. (2001). Enfermedad de Creutzfeldt-Jakob y otras encefalopatías espongiformes transmisibles humanas. *Med. integral (Ed. impr)*, 308-315.
60. Sakudo, A. (2020). Inactivation methods for prions. *Current Issues in Molecular Biology*, 36(1), 23-32. <https://doi.org/10.21775/cimb.036.023>
61. Kortazar-Zubizarreta, I., Ruiz-Onandi, R., Pereda, A., Vado, Y., González-Chinchon, G., Eraña, H., Perez de Nanclares, G., & Castilla, J. (2021). Sporadic Creutzfeldt-Jakob disease with extremely long 14-year survival period. *European journal of neurology*, 28(9), 2901–2906. <https://doi.org/10.1111/ene.14946>