



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO**  
**FACULTAD DE MEDICINA**  
**DIVISIÓN DE POSGRADO E INVESTIGACIÓN**  
**HOSPITAL GENERAL DE MÉXICO “DR. EDUARDO**  
**LICEAGA”**

**“ESTUDIO GENEALÓGICO, CLÍNICO Y MOLECULAR DE**  
**PACIENTES CON ENFERMEDAD DE CREUTZFELDT-JAKOB**  
**FAMILIAR”**

**TESIS**

**PARA OBTENER EL TÍTULO DE:**  
**ESPECIALISTA EN GENÉTICA MÉDICA**

**PRESENTA:**

**MAR GABRIELA TOVAR AYALA**

**TUTORES:**

**DRA. MARÍA DEL REFUGIO RIVERA VEGA**

**DR. SERGIO ALBERTO CUEVAS COVARRUBIAS**



**HOSPITAL**  
**GENERAL**  
**de MÉXICO**

**CIUDAD DE MÉXICO**

**OCTUBRE 2018**

**DR. EDUARDO LICEAGA**



Universidad Nacional  
Autónoma de México



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

## **Agradecimientos**

A mis padres, porque sin ellos nada de esto sería posible, gracias por siempre impulsarme en cada una de mis metas y acompañarme en este largo camino.

A mi hermano y amigos por su apoyo en todo momento.

A mis maestros y compañeros del Hospital General de México, por todo el conocimiento adquirido y el tiempo compartido durante estos tres años.

## **Colaboradores**

**Dr. José Sergio Zenteno Vacherón**

Neurólogo

Universidad Nacional Autónoma de México

Hospital General de México “Dr. Eduardo Liceaga”

**Dr. Mauricio René Murillo Vilches**

Maestro en Ciencias Médicas

Genetista

Universidad Nacional Autónoma de México

**Luz María González Huertas**

Bióloga Molecular

Investigador en Ciencias Médicas “C”

Universidad Nacional Autónoma de México

Hospital General de México. “Dr. Eduardo Liceaga”

## Resumen

### “Estudio genealógico, clínico y molecular de pacientes con enfermedad de Creutzfeldt-Jakob familiar.”

**Introducción.** Las encefalopatías espongiformes transmisibles (EET), también conocidas como enfermedades por priones, son un grupo de desórdenes neurodegenerativos que afectan 1-2 por cada millón de habitantes. Las EET se clasifican en tres enfermedades basadas en sus características clínicas y neuropatológicas: enfermedad de Creutzfeldt–Jakob familiar, enfermedad de Gerstmann-Straußler-Scheinker e insomnio fatal familiar. Según su forma de presentación se clasifican en tres grupos: a) esporádica (85%), de etiología desconocida, b) genética, causada por mutaciones en el gen *PRNP*, (10-15%) y c) adquirida (<1%). La acumulación anormal en las neuronas de la proteína priónica, lleva a la apoptosis y muerte celular, presentándose una demencia rápidamente progresiva con características motoras y un corto tiempo de supervivencia desde el inicio (generalmente 1 año). En el presente trabajo se realiza el estudio genealógico, clínico y molecular de 4 casos de enfermedad de Creutzfeldt-Jacob familiar.

**Objetivo:** Identificar variantes patogénicas en el gen *PRNP* en individuos y familiares con enfermedad hereditaria de Creutzfeldt–Jakob.

**Materiales y métodos.** Tipo de estudio: descriptivo, observacional y transversal. A partir de sangre periférica se obtuvo mediante técnicas convencionales el DNA genómico de 4 pacientes no relacionados. Se amplificó la región codificante de *PRNP*, el amplicón obtenido se sometió posteriormente a secuenciación automatizada. Los resultados obtenidos se compararon con controles sanos y las bases de datos.

**Resultados.** Se identificaron 4 variantes patogénicas en el gen *PRNP* en cada uno de los individuos estudiados, originarios de los estados de Hidalgo, San Luis Potosí y Ciudad de México.

**Conclusiones:** El estudio integral de las familias donde se logró identificar la variante patogénica en *PRNP* nos permite la detección de posibles individuos con alto riesgo de presentar la misma variante y así poder realizar el asesoramiento genético preciso, así como el seguimiento estrecho de los mismos para detectar cualquier manifestación de la enfermedad.

**Palabras clave:** Priones, enfermedad de Creutzfeldt-Jacob familiar, *PRNP*.

## Abreviaturas

EET	Encefalopatías Espongiformes Transmisibles	EEG	Electroencefalograma
ECJ	Enfermedad de Creutzfeldt-Jakob	PSWC	Complejo de ondas afiladas periódicas
ECJs	Enfermedad de Creutzfeldt-Jakob esporádica	DWI	Imágenes con difusión difusa
ECJf	Enfermedad de Creutzfeldt-Jakob familiar	FLAIR	Secuencias de recuperación de inversión atenuada por fluido
GSS	Gerstmann-Straüssler-Sheinker	MM	Metionina/Metionina
IFF	Insomnio Familiar Fatal	MV	Metionina/Valina
EEB	Encefalopatía Espongiforme Bovina	VV	Valina/Valina
vECJ	<i>Variante de la Enfermedad de Creutzfeldt-Jakob</i>	E	Ácido glutámico/ Glutamato
PrP	Proteína priónica	K	Lisina
DNA	Ácido desoxirribonucleico	V	Valina
RNA	Ácido ribonucleico	I	Isoleucina
OPRI	Inserción de octapéptidos adicionales	D	Acido aspártico
GPI	Glicosil-fosfatidilinositol	N	Asparagina
PrPC	Isoforma celular normal de la proteína priónica	P	Prolina
PrPSc	Isoforma anormal "scrapie"	L	Leucina

## INDICE

<b>Contenido</b>	<b>Página</b>
1. Antecedentes	1
2. Planteamiento del Problema	22
2.1 Pregunta de investigación	23
3. Justificación	24
4. Hipótesis	25
5. Objetivos	25
6. Material y métodos	26
7. Resultados	31
8. Discusión	41
9. Conclusiones	47
10. Referencias bibliográficas	48
11. Anexos	53

## 1. Antecedentes

Las encefalopatías espongiformes transmisibles (EET), también llamadas enfermedades por priones o prionopatías son un grupo de trastornos neurodegenerativos causados por un agente proteico llamado prion, que afecta tanto al hombre como a los animales (1).

En el humano, este grupo de enfermedades incluye a la enfermedad de Creutzfeldt-Jakob (ECJ), el Kuru, el síndrome de Gerstmann-Straüssler-Sheinker (GSS), el insomnio familiar fatal (IFF) y la variante de la ECJ (vECJ). La encefalopatía espongiforme bovina (EEB) (conocida vulgarmente como enfermedad de las vacas locas) y el scrapie o tembladera del ganado ovino y caprino representan las prionopatías animales más importantes (2, 3, 4).

En sus formas clásicas y según su evolución natural se caracterizan por neurodegeneración y transmisión de la infección a individuos de la misma o diferente especie (5). La enfermedad es transmisible a un gran número de especies animales incluyendo ratones, hámster, ratas, monos y chimpancés.

La primera EET reconocida fue el scrapie, que infectaba a ovejas y cabras, iniciando su estudio desde hace más de dos siglos. Sin embargo, el primer caso reportado en el humano fue hecho por el patólogo alemán Hans Gerhard Creutzfeldt en 1920, quien publicó por primera vez el caso de una mujer con una enfermedad de 1.5 años de duración que consistía en un trastorno mental progresivo con alteraciones motoras incapacitantes, mioclonías y crisis convulsivas. Más tarde, en 1921, Alfons Maria Jakob describió tres pacientes con signos y síntomas similares, ambos trabajos dieron a conocer un síndrome neurológico complejo que evolucionaba rápidamente y que no se identificaba con ninguna de las entidades conocidas hasta ese momento.



A partir del año 1966 se introduce el término de “encefalopatía espongiforme transmisible”, y no es hasta 1982 cuando se detecta una proteína vinculada con el scrapie, siendo Stanley B. Prusiner quien introduce la teoría de que el agente causal de este padecimiento es una partícula proteica infecciosa que denominó “prion” (6), acrónimo del vocablo inglés, derivado de las palabras *proteína* e *infección* (*proteinaceous infectious particle*) que era resistente a la inactivación por la mayoría de los procedimientos que modifican los ácidos nucleicos y para distinguirlo de otros agentes como virus o viroides (4).

Hoy en día se reconoce que el agente causal de las EET es una proteína mal plegada infecciosa, específica de los tejidos infectados con encefalopatía espongiforme, llamada prion o proteína priónica (PrP) (1, 2, 6).

A diferencia del resto de agentes infecciosos (virus, bacterias, hongos, etc.) que contienen ácidos nucleicos (ya sea DNA, RNA o ambos) un prion está compuesto únicamente por aminoácidos (7, 8). El espectro de las EET aumenta con las enfermedades por priones emergentes que representan un riesgo desconocido y preocupante para la salud humana (9).

Actualmente, se sabe que los priones son proteínas modificadas bajo circunstancias que favorecen su caída a un nivel energético muy estable, confiriéndole nuevas propiedades biológicas, tales como ser insolubles, resultar inmunes a las proteasas, cambiar su configuración tridimensional, no generar respuesta antigénica, no ocasionar respuesta inflamatoria y tener un periodo de incubación que puede ser de meses a décadas (8).

En 1989 se identificaron mutaciones en el gen *PRNP* como causantes de algunas variantes de EET en el humano, siendo reportadas diferentes familias afectadas desde principios de los años 90s (1).

La proteína del prion, está codificada por el gen *PRNP* de copia única que se localiza en 20p13 (10), se ha identificado en más de 13 especies de mamíferos

por lo que se le considera altamente conservada. En el humano todas las formas familiares o de causa genética se caracterizan por mutaciones en este gen. (Figura 1)

El gen *PRNP* se compone de 2 exones; el primer exón de 136 pb no traducido seguido de un intrón de hasta 13 kb y el segundo exón de 2.4 kb que contiene el marco de lectura abierto (ORF, del inglés *Open Reading Frame*) de 759 pb. Mahal et al, identificaron la región promotora rica en islas de CpG que se extiende de -235 a +167 pb dentro del intron I y carece de caja TATA y el elemento iniciador; por el contrario, presenta una caja CCAAT y posee diversos sitios de unión a los factores de transcripción SP1, AP1 y AP2, que permite su expresión en distintos tejidos (11, 12, 13).

Particularmente la expresión de *PRNP* ocurre constitutivamente en tejidos neuronales y no neuronales de los animales adultos, pero principalmente en las neuronas. Los niveles más altos de PrP se ubican en el cerebro, particularmente la región del hipocampo, existiendo en niveles significativos en otros tejidos como corazón, músculo esquelético, hígado, páncreas, pulmones y sistema linfático (14).

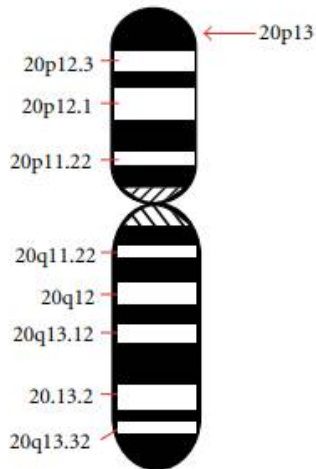


Figura 1. Localización cromosómica de *PRNP* en 20p13.  
 Fuente: Dudhatra GB, Kumar A, Modi CM, Awale MM., Patel HB, Mody SK. Transmissible Spongiform Encephalopathies Affecting Humans. ISRN. 2013; 11

Hasta la fecha se ha reportado más de 60 variantes patogénicas (1) resultado de la sustitución de un aminoácido o la formación de codones de paro prematuros o inserción de octapéptidos adicionales (OPRI) (12) en la región codificadora del gen *PRNP*, en todas las formas familiares de prionopatías. Algunas de las variantes patogénicas se asocian con alguna de las formas clínicas de EET, mientras que en otras aún no se ha determinado su patogenicidad.

La proteína priónica producida es una cadena polipeptídica de aproximadamente 253 aminoácidos que contiene una región inestable con repetidos en el dominio N-terminal, compuestos por un nonapéptido (P-Q-G-G-G-G-W-G-Q) seguido por cuatro repetidos de un octapéptido (P-H-G-G-G-W-G-Q) [1]. Las modificaciones postraduccionales que sufre incluyen la remoción de 22 residuos desde el dominio N-terminal y 23 residuos del dominio C-terminal, unidos por un enlace glicosilfosfatidilinositol (GPI) en el extremo C-terminal, por glicosilación. A su vez, un dominio globular se localiza entre los residuos 125 a 228, y la estructura normal de la proteína posee tres alfa-helices (residuos 144–154, 173–194 y 200–228, respectivamente) y una beta-hélice antiparalela (residuos 128–131 y 161–164) (1, 15). (Figura 2)

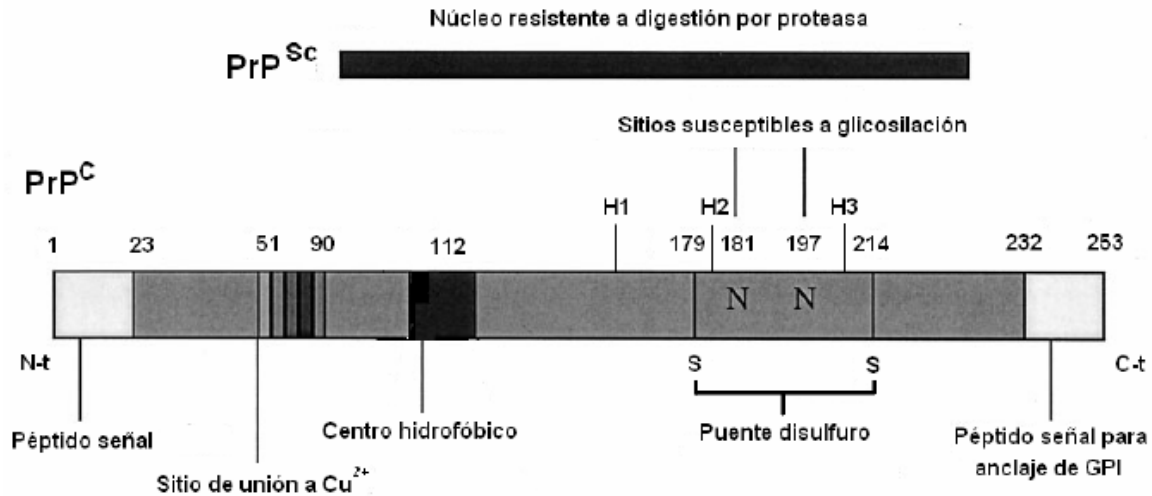


Figura 2. Estructura primaria de la proteína prión (PrPC). Adaptación de: Acevedo-Morantes CY, Wille H. The Structure of Human Prions: From Biology to Structural Models — Considerations and Pitfalls. *Viruses* 2014, 6, 3875-3892

Se conocen múltiples isoformas para la proteína priónica, sin embargo, las dos más relevantes para las EET son la isoforma celular normal (PrPC) y la isoforma alternativa anormal o “scrapie” (PrP<sup>Sc</sup>). La forma principal es una isoforma completamente translocada que da lugar a la PrPC conocida, completamente madura, la cual es sintetizada en el retículo endoplásmico, posteriormente transportada a través del aparato de Golgi desde donde es secretada para localizarse finalmente en la capa externa de la membrana plasmática mediante su anclaje GPI (5, 16).

Ambas isoformas comparten la misma secuencia de aminoácidos, sin embargo la PrPC está formada principalmente por alfa-hélices (40-42%) y 3% de láminas  $\beta$ -plegada, mientras que la isoforma PrP<sup>Sc</sup> posee un alto contenido de láminas beta (43-45% de hélices beta y 30% de hélices alfa) (1,17). Este cambio en la conformación de ambas isoformas les proporciona características bioquímicas diferentes. (Figura 3)

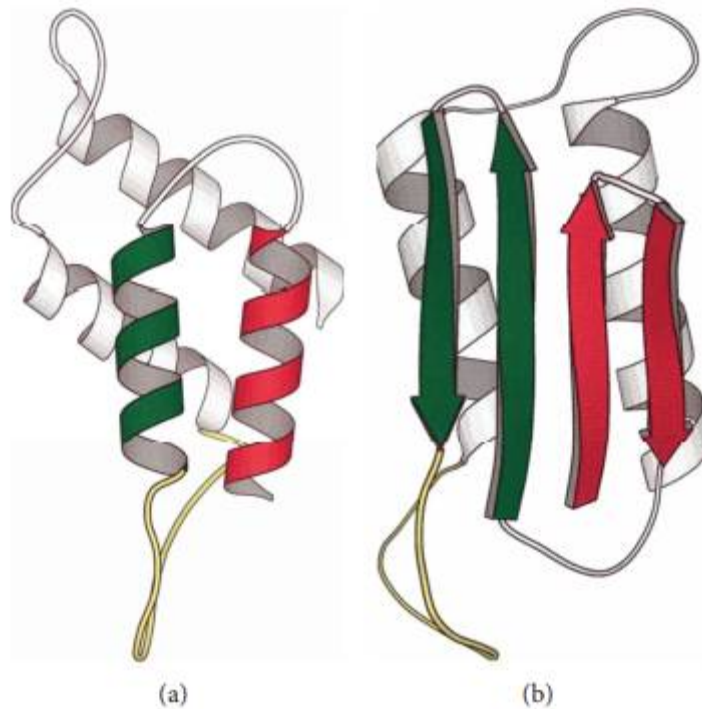


Figura 3. Estructura de la proteína priónica (PrPC). A) Estructura normal de PrPC compuesto principalmente por hélices alfa. B) Estructura de isoforma "scrapie" (PrPSc) formado por láminas beta. Fuente: Dudhatra GB, Kumar A, Modi CM, Awale MM., Patel HB, Mody SK. Transmissible Spongiform Encephalopathies Affecting Humans. ISRN. 2013; 11

La isoforma PrPC es una proteína soluble, capaz de unirse específicamente al cobre, lo que permite un papel activo en el mantenimiento de la homeostasis de este catión en los procesos de óxido reducción (18) y con alta susceptibilidad a ser digerida por proteólisis. Es poco el conocimiento que se tiene acerca de las función normal de la proteína priónica, sin embargo, estudios más recientes también la relacionan con el desarrollo normal del sistema nervioso, ya que incrementa la diferenciación neuronal en el giro dentado, así como también aumenta la proliferación celular de la zona subventricular en los estudios *in vitro* que se han realizado (19). Inclusive dentro de las funciones asociadas a PrPC se encuentra la protección contra la apoptosis neuronal inducida por la infección a Bax (14), receptor de señalización, regulación sináptica, regulador del sueño y

ritmo circadianos, regulador de la inhibición de los receptores NMDA, mantenimiento de la mielina en los nervios periféricos, etc (16).

Por otro lado, la isoforma PrP<sup>Sc</sup> tiende a formar agregados amorfos insolubles en detergentes, es resistente a la proteólisis por proteinasas K generando la forma truncada en el extremo N-terminal, que forma agregados de tipo amiloide y retiene la infectividad (9, 18, 20).

Según la hipótesis de proteína única dada por Prusiner, PrP<sup>Sc</sup> es el componente infeccioso y tiene la capacidad de replicarse o autopropagarse a partir del reclutamiento de PrP<sup>C</sup> y moldeando su conversión a PrP<sup>Sc</sup> (19, 21), si bien aún no es del todo comprendido como se lleva a cabo esta transformación se cree que todo sucede dentro de los compartimentos intracelulares ricos en colesterol conocidos como dominios caveolares; finalmente el proceso de conversión permite la propagación y acumulación cerebral de la isoforma patogénica que ocasiona todos los cambios neurodegenerativos asociados a las EET (1, 13, 21). (Figura 4)

La interacción entre PrP<sup>C</sup> y PrP<sup>Sc</sup> se ha explicado mediante dos modelos distintos: El primero se denomina “Modelo de Nucleación” el cual sugiere que la isoforma “normal” PrP<sup>C</sup> se encuentra en equilibrio conformacional con la isoforma patológica PrP<sup>Sc</sup> o con un precursor de ésta (8).

Aunque la estructura de PrP<sup>C</sup> es favorecida, el cambio conformacional ocurre cuando unas cuantas moléculas de conformación anormal actúan como una semilla o núcleo capaz de inducir el cambio masivo de moléculas normales en moléculas con la conformación anómala, y es el resultado de interacciones directas entre la PrP<sup>C</sup> y la PrP<sup>Sc</sup>. Una vez que se inicia la transformación, ésta se propaga como una reacción en cadena, y debido a la insolubilidad que caracteriza a las moléculas de PrP<sup>Sc</sup>, éstas se depositan en el citoplasma neuronal formando extensos agregados que dañan a las células (6).

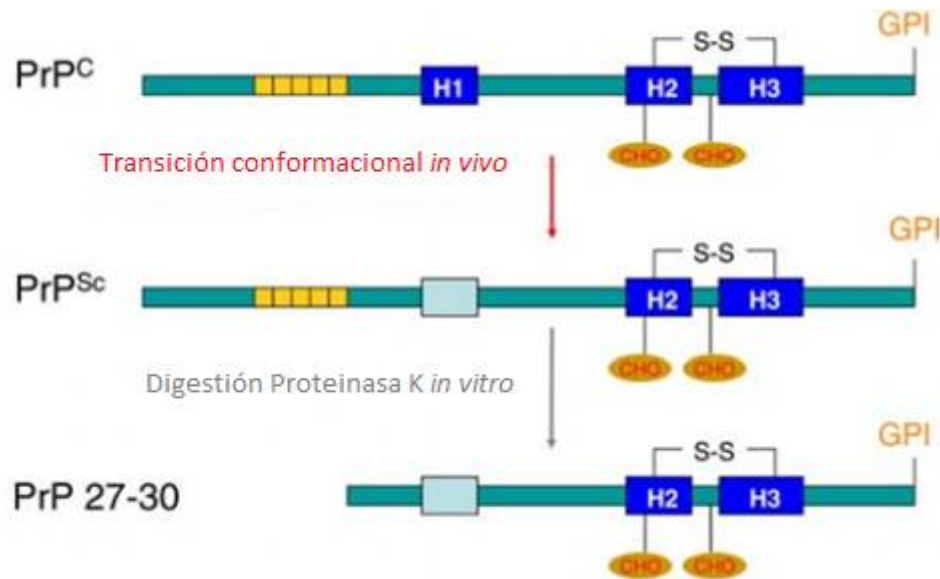


Figura 4. Representación lineal de PrPC, PrPSc e isoforma PrP27-30 a partir del extremo N-terminal truncado por proteínasa K. La conformación modificada en el centro se representa por el cambio de color en la hélice A. PrPC: Proteína priónica celular. PrPSc: Isoforma Scrapie anormal. PrP: Proteína Priónica. Adaptación de: Watts JC, Balachandran A, Westaway D. The expanding universe of prion diseases, PLoS Pathog. 2 (2006) e26.

Este mecanismo equivale a una ganancia tóxica de función que se presenta en algunas enfermedades autosómicas dominantes como la corea de Huntington.

El segundo, “Modelo de Plegamiento”, propone que la conversión de la PrPC requiere que ésta se encuentre desplegada y que se vuelva a plegar de manera anormal bajo la influencia de una molécula de PrPSc. Este proceso requiere franquear una barrera energética muy grande (8).

La transformación de PrPc en PrPsc implica probablemente el replegamiento de la región que incluye los aminoácidos 90–140, que se transforman en láminas beta.

Esta enorme proporción de hélices beta conduce a la formación de fibrillas o bastoncillos amiloides denominados SAF (*Scrapie Associated Fibrils*= Fibrillas

asociadas a la isoforma Scrapie de la proteína priónica) que se encuentran en el cerebro de las personas y animales enfermos.

Según estudios *in vitro* se cree que PrP se ubica en el espacio citosólico de las células y esta localización a su vez, le confiere ciertas propiedades neurotóxicas a través de su interacción con Bcl-2 y proteínas anti-apoptóticas localizadas en el retículo endoplásmico y en las membranas mitocondriales; también se ha correlacionado la alteración al dominio hidrofóbico de PrP con la neurotoxicidad inducida (5).

Después de los estudios en cerebros de individuos con EET según las diferencias observadas en la movilidad del gel de agarosa y a la secuencia del extremo N-terminal de los fragmentos del núcleo después de ser sometidos a la digestión por protein cinasa, se han descrito dos tipos principales para la isoforma PrPSc: tipo 1 que corresponde a un peso molecular de 21 kDa y el sitio primario de unión en el residuo 82 y tipo 2 con un peso molecular relativo de 19 kDa y su sitio primario de unión en el residuo 97 (22).

En cerca de dos-tercios de los casos al menos uno de los 2 subtipos de PrPSc se logra observar en los cerebros de individuos afectados con EET (22); es así que en muchas ocasiones el hallazgo de alguna de los subtipos de PrPSc en conjunto con polimorfismos en *PRNP* nos permite explicar la causa de algunas EET y nos permiten hacer una clasificación de estas enfermedades.

Para tratar de explicar el mecanismo fisiopatológico de las EET se han descrito dos fases en la enfermedad por priones: 1) Se requiere la expresión de PrPC, los cambios conformacionales de ésta llevan a su agregación y transformación a PrPSc, resultando en mayor o menor medida la formación de fibrillas de amiloide. De forma paralela se lleva a cabo la replicación y transmisión de PrPSc. 2) Se inician las alteraciones funcionales del sistema nervioso central y el daño neuronal (5).



Las prionopatías en el hombre poseen alta heterogeneidad en el fenotipo, epidemiología y patogénesis. Según su etiología se clasifican en tres grupos: a) esporádica o de etiología desconocida; b) genética o hereditaria donde la formación de PrPSc es favorecida por la presencia de mutaciones que alteran la forma nativa de PrPC; y c) adquiridas, las cuales son secundarias a infecciones donde PrPSc exógena actúa como un templete para generar la forma endógena de PrPSc (16). (Cuadro 1)

Los casos esporádicos ocurren en patrones irregulares, diseminados e impredecibles. Los casos genéticos se transmiten de padres a hijos, mientras que las formas infecciosas se adquieren por instrumental médico infectado o se han reportado también casos por la por la ingesta de carne bovina contaminada.

<b>Clasificación de las enfermedades priónicas humanas</b>	
<b>Esporádicas</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Enfermedad de Creutzfeldt-Jakob esporádica</li> <li>- Insomnio letal esporádico</li> </ul>
<b>Genéticas</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Enfermedad de Creutzfeldt-Jakob familiar</li> <li>- Síndrome de Gerstmann–Sträussler–Scheinker</li> <li>- Insomnio familiar fatal</li> </ul>
<b>Infecciosas</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Bovina= Variante de la enfermedad de Creutzfeldt-Jakob</li> <li>- Humana= Kuru</li> <li>- Iatrogénica= Enfermedad de Creutzfeldt-Jakob</li> </ul>

Cuadro 1. Clasificación de las Enfermedades Priónicas.

De todas las prionopatías se considera a la ECJ esporádica como la forma más frecuente en humanos (85%), presentándose mayormente en adultos mayores de 60 años y con una incidencia mundial de 1 a 2 millones de personas al año (2),

afectando de manera igual a hombres y mujeres, sin predilección por alguna etnia (4). Se reporta un aumento en la incidencia superior a tres por cada millón para el grupo de 65 a 74 años de edad y menor a 0.2 por cada millón en los individuos menores de 40 años (6). En 10-15% de los casos se identifica mutación en el gen *PRNP*, y en <1% se consideran como formas adquiridas (23).

En países como Inglaterra, Francia y Alemania se calcula una incidencia de 0.75 por cada millón (6); el promedio anual de mortalidad en un estudio realizado entre 1999 y 2002 en estos países (incluyendo España, Austria, Suiza, Canadá y Australia), fue de 1.67 por cada millón para todos los casos y de 1.39 por millón para las formas esporádicas (6).

En México se han reportado 3 casos de ECJ esporádico confirmados por clínica, 5 probables y 7 como posibles casos (24), sin embargo no se cuenta con las cifras exactas de prevalencia e incidencia de los diferentes tipos de EET en la población mexicana.

Las formas genéticas, de acuerdo a la clínica y neuropatología a su vez se han dividido en tres grandes enfermedades: Enfermedad de Creutzfeldt Jakob familiar (ECKf), enfermedad de Gerstmann–Strâussler–Scheinker (GSS) y el insomnio familiar fatal (IFF). En los casos hereditarios se observa una herencia autosómico dominante con alta penetrancia y aumentando su incidencia con la edad (2, 17). (Cuadro 2)

La ECJ esporádica se presenta con un pico de incidencia en la séptima década de la vida, los casos tempranos (20-40 años) y las tardíos (>80 años) son poco frecuentes (25). Su presentación clínica clásica se caracteriza por deterioro cognitivo rápidamente progresivo llegando hasta la demencia, acompañado de alteraciones visuales, ataxia y mioclonías (2). La triada clásica descrita se compone de demencia rápidamente progresiva, mioclonía y alteraciones en el electroencefalograma (EEG) (4).

<b>Enfermedad de Creutzfeldt Jakob y otras prionopatías.</b>					
<b>EPRs</b>	<b>sECJ</b>	<b>vECJ</b>	<b>fECJ</b>	<b>GSS</b>	<b>IFF</b>
<b>Edad de inicio</b>	60-70 años	28 años	60 años	60 años	50 años
<b>Duración de la enfermedad</b>	5 meses	14 meses	6 meses	5 años	14 meses
<b>Clínica</b>	Deterioro cognitivo rápido, mioclonías	Síntomas psiquiátricos tempranos, deterioro cognitivo	Similar a sECJ	Signos cerebelosos	Insomnio
<b>Hallazgos en RM</b>	Hiperintensidad en ganglios basales o corteza	Signo pulvinar 90%	Hiperintensidad en ganglios basales y corteza	Raramente anormal	Atrofia inespecífica
<b>Hallazgos de EEG</b>	60-70% en PSWC	PSWC negativo	PSWC 75%	Raramente positiva	Raramente positiva
<b>14-3-3</b>	Positivo 90%	Positivo 50%	Similar a sECJ	Negativo	Raramente positiva
<b>Epidemiología</b>	1/millón	38 casos Confirmados	100 casos	Aproximadamente 50 familias	9 familias identificadas
<b>Genética</b>	MM1 70%	MM 100%	Mutación en <i>PRNP</i>	Mutación p.P102L	Mutación p.D178N

Cuadro 2. Enfermedad de Creutzfeldt Jakob y otras prionopatías. sECJ: enfermedad de Creutzfeldt Jakob esporádica. GSS: Síndrome de Gerstmann-Straussler-Scheinker. vECJ: Variante de la ECJ. IFF: Insomnio Familiar Fatal. PSWC: complejo de ondas afiladas periódicas. Fuente: Manix M, Kalakoti P, Henry M, Thakur J, Menger R, et al. Creutzfeldt-Jakob disease: updated diagnostic criteria, treatment algorithm, and the utility of brain biopsy. *Neurosurg Focus* 39 (5):E2, 2015

En fases avanzadas de la enfermedad puede aparecer mutismo acinético con posturas de decorticación o decerebración (4). Los pacientes pueden presentar diversos síntomas inespecíficos como son la fatiga, malestar general, así

como trastornos del sueño y alimentarios antes del desarrollo de la sintomatología propia de la encefalopatía espongiiforme.

Para la ECJ esporádica se han descrito algunas variantes de acuerdo a las características clínicas e histopatológicas que predominan: La variante atáxica o también conocida como de Oppenheimer ocurre en 10% de los casos acompañado de síndrome pancerebeloso. Prevalen las alteraciones cognitivas y las mioclonías. Por lo general, la demencia antecede a los problemas motores (6).

En la variante de Heidenhain o amaurótica la característica principal es la afeción visual temprana, que se observa en 20% de los casos. Estas alteraciones pueden incluir defectos campimétricos, visión borrosa, agnosia de los colores, metamorfopsias, alucinaciones visuales y ceguera cortical. La variante panencefalítica se presenta casi exclusivamente en Japón, los pacientes sufren afeción extensa de las sustancias blanca y gris, así como de alteraciones cognitivas acompañado de síntomas y signos cerebelosos (6). Otras variantes descritas son la talámica y la amiotrófica (16).

El curso de la ECJ se considera fatal, la duración promedio de la enfermedad es de 6 (2) a siete meses (6); cerca de 90% de los pacientes mueren en el primer año a partir de la aparición de los primeros síntomas (6, 25) y otro 5% mueren en el siguiente año (4). Se conocen casos de sobrevida hasta 5 (4) a 8 (25) años pero son muy pocos.

La mayoría de los pacientes heterocigotos para la mutación en *PRNP* se asocian con la enfermedad de Creutzfeldt-Jakob tipo hereditaria o familiar (ECKf), la cual sigue una herencia autosómica dominante con penetrancia incompleta, la cual depende del tipo de mutación que presente. Solo en 50-75% de los casos se cuenta con historia familiar positiva de ECJ (1).

Para la ECKf se observa gran variabilidad en la edad de presentación que va desde los 20 hasta los 90 años, siendo la edad media de presentación los 55 años. Los síntomas son similares a los que se presentan en los casos esporádicos, siendo la demencia el principal síntoma (95-98%), síntomas cerebelosos (70%), mioclonía (60-70%), signos extrapiramidales y psiquiátricos (50% y 25% respectivamente) (1).

Las variantes patogénicas reportadas en el gen *PRNP* son principalmente de sentido equivocado, aunque también se han identificado sin sentido y OPRI. Algunas de estas mutaciones se registran con baja penetrancia, otras se refieren como factor de riesgo para desarrollar la enfermedad y unas pocas como variantes benignas (23).

De todas las variantes patogénicas, 5 se consideran las principales responsables de cerca de 85% de los casos hereditarios en el humano: p.E200K, p.V210I, p.V180I, p.P102L y p.D178N (26); asociándose p.E200K, p.V210I, p.V180I y p.D178N ECKf. (13). Algunas de estas variantes se consideran con efecto fundador ya que se han encontrado en grandes grupos regionales, particularmente en los países de Eslovaquia y en judíos libaneses para p.E200K, p.V180I particularmente hallada en Japón y p.V210I en Italia (1, 26).

La variante p.E200K se considera la más frecuente a nivel mundial, registrándose en los 5 continentes y consiste en la sustitución de glutamato (E) por lisina (K) en el codón 200 debido a un cambio de bases de guanina por adenina (17). Se le considera con penetrancia alta dependiendo de la región geográfica de origen así como de la edad (1).

La variante p.E200K se caracteriza por determinar la aparición temprana de pérdida de memoria y confusión que luego se acompañan de demencia rápidamente progresiva, signos piramidales y extrapiramidales, ataxia y mioclonías. También se ha informado con esta mutación la ocurrencia de

oftalmoplejía supranuclear, neuropatía periférica desmielinizante, crisis convulsivas (20-35%) y cefaleas (20-30%) (23). Los pacientes con esta mutación tienen una edad de inicio más temprana que las formas esporádicas y la duración de la enfermedad es de aproximadamente 5 a 6 meses de vida (23).

Los hallazgos anatomopatológicos consisten en atrofia cerebral y cerebelosa, vacuolización del neuropilo en la sustancia gris con disminución de la población neuronal, astrocitosis marcada, placas amiloides y ausencia de infiltrado inflamatorio (10). En la literatura a nivel mundial se han descrito poco más de 100 casos de ECJf (23).

Algunas variantes de *PRNP* se han caracterizado como polimorfismos, el más relevante para las EET en el humano se localiza en el codón 129 en el que existe un cambio de ATG por GTG (NM\_000311.4(*PRNP*):c.385A>G (p.M129V)) produciendo el cambio de valina (V) por metionina (M), esto modifica la susceptibilidad y la presentación clínica de los pacientes portadores del polimorfismo (1,12). La presencia de homocigotos M/M incrementa cuatro veces el riesgo de llegar a padecer enfermedad de Creutzfeldt-Jakob y reduce a una tercera parte su duración que cuando hay heterocigotos (4).

Se calcula que aproximadamente 55% de la población en general son homocigotas para metionina (MM), 36% heterocigotos (MV) y 9-11% homocigotos para valina (VV) (1, 4, 27).

En 1960 se establecieron las características clínicas, electroencefalográficas e histopatológicas cardinales para establecer el diagnóstico. Para 1998 la organización mundial de la salud (World Health Organization/WHO) publicó los criterios diagnósticos para la ECJ (6). (Cuadro 3)

Criterios de la Organización Mundial de la Salud para la enfermedad de Creutzfeldt-Jakob	
I	<ul style="list-style-type: none"> <li>A. Alteración neuropsiquiátrica progresiva</li> <li>B. Duración de la enfermedad mayor de seis meses</li> <li>C. Ningún otro diagnóstico alternativo</li> <li>D. Sin historia de exposición iatrogénica posible</li> <li>E. Sin antecedentes familiares de enfermedad por priones</li> </ul>
II	<ul style="list-style-type: none"> <li>a. Síntomas psiquiátricos tempranos</li> <li>b. Síntomas sensitivos dolorosos persistentes</li> <li>c. Ataxia</li> <li>d. Mioclonía, corea o distonía</li> <li>e. Demencia</li> </ul>
III	<ul style="list-style-type: none"> <li>A. Electroencefalograma sin patrón típico de enfermedad de Creutzfeldt-Jakob o no realizado</li> <li>B. Signo del pulvinar bilateral en resonancia magnética</li> </ul>
IV	<ul style="list-style-type: none"> <li>a. Biopsia positiva</li> </ul>
<p><b>DEFINITIVO:</b> IA y confirmación neuropatológica</p> <p><b>PROBABLE:</b> I y 4/5 de II y IIIA Y IIIB o I y IVa</p> <p><b>POSIBLE:</b> I y 4/5 o II y IIIA</p>	

Cuadro 3. Criterios diagnósticos WHO 1998. Fuente: Blumenkron D, Guerrero P, Ramiro M. Enfermedad de Creutzfeldt-Jakob. Med Int Mex 2007;23:34-46

En la actualidad se sigue considerando el estudio histopatológico de cerebro como el estándar de oro para el diagnóstico de la ECJ, sin embargo el estudio tiene el inconveniente de realizarse postmortem.

Para el examen neuropatológico las principales características son: degeneración espongiiforme neuronal, formación de placas amiloides sin proceso inflamatorio y gliosis astrocítica severa que no se relaciona con la pérdida neuronal, predominando en la corteza cerebral, ganglios basales y capa molecular del cerebelo. En la variante Heidenhain los cambios se localizan en corteza occipital principalmente (6). En la variante ECJf es posible demostrar el depósito lineal de PrP en la capa molecular del cerebelo mediante inmunohistoquímica (2).

Los hallazgos electroencefalográficos más frecuentes son el complejo de ondas afiladas periódicas (PSWC de las siglas en inglés “Periodic sharp wave complexes”), que se encuentran en 2/3 de los pacientes afectados (27). El patrón característico inicial es conocido como FIRDA (*frontal intermittent rhythmic delta activity*), con ondas delta de voltaje elevado (100-150 mV). Posteriormente se observa el patrón típico de la enfermedad, con actividad periódica, sincrónica y simétrica, con grafoelementos bi o trifásicos de aproximadamente 100 a 300 milisegundos de duración, que se repiten en un intervalo de 0.7 a 1.5 segundos (6). Se describen predominando en la línea frontal bilateral, aunque también se ha observado en regiones temporales. En promedio, se calcula un retraso de 3.7 meses desde el inicio de la enfermedad y las manifestaciones por EEG (28).

Se han investigado varios biomarcadores en el líquido cefalorraquídeo, como la proteína 14-3-3, S100b y tau, los cuales se encuentran en cifras elevadas y pueden apoyar el diagnóstico. La mayoría de los estudios demuestra una sensibilidad para la proteína 14-3-3 de 92-96% y para la proteína Tau sensibilidad de 81% y especificidad de 85%; cuando ambos estudios se realizan en conjunto su valor predictivo positivo es de 91% (28). De las nuevas técnicas desarrolladas en el líquido cefalorraquídeo está la conversión inducida por temblor en tiempo



real (RT-QuIC), al cual se le atribuye hasta 85.7% de sensibilidad y 100% de especificidad (25).

En la actualidad, además de los criterios clínicos, de laboratorio, histopatológicos y electroencefalográficos, se han agregado las imágenes de resonancia magnética con alta sensibilidad y especificidad para esta patología. Entre los hallazgos se observan señales de hiperintensidades en las secuencias T2 en los ganglios basales y en el área cortical, predominantemente en la occipital y la temporal. Las imágenes con difusión difusa (DWI) y secuencias de recuperación de inversión atenuada por fluido (FLAIR) en 80% de los pacientes (25, 29, 30). (Cuadro 4)

Hoy en día existen criterios clínicos bien establecidos para poder determinar los casos como definitivos, probables o posibles (28), el diagnóstico definitivo se basa principalmente en las características de laboratorio, neuropatológicas y en casos familiares la confirmación por estudio molecular de la mutación en el gen *PRNP*. (Cuadro 5)

A pesar de los avances en el entendimiento de las enfermedades por priones el pronóstico de los pacientes sigue siendo fatal. Hasta la fecha no se tiene medicamentos efectivos para aquellos pacientes con EET.

En el caso de la ECJ, el tratamiento hasta la fecha aún no se ha podido establecer para detener o retrasar la evolución de la enfermedad, siendo únicamente sintomático y/o de soporte. Es común el uso de clonazepam para mejorar las mioclonías (28).

<b>Criterios diagnósticos por RM para ECJ</b>	
<b>Diagnóstico</b>	<b>Criterios UCSF 2011</b>
Definitivo	<p>Hiperintensidad por DWI&gt;FLAIR en:</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. Corteza (&gt;1 giro) y estriatum <ul style="list-style-type: none"> <li>- Criterios patognomónicos clásicos: cíngula, estriatum y &gt;1 giro neocortical</li> <li>- Involucro subcortical de soporte:</li> <li>- Estriatum con gradiente antero-posterior</li> <li>- Hipointensidad ADC subcortical</li> <li>- Involucro cortical de soporte:</li> <li>- Involucro asimétrico o línea media de neocorteza o cíngula</li> </ul> </li> <li>2. Solo corteza (&gt;3 giros)</li> </ol>
Probable	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. Estriatum unilateral o corte &lt;3 giros</li> <li>2. Estriatum bilateral o talamo postero-mesial</li> <li>3. Hiperintensidades FLAIR&gt;DWI</li> </ol>
No probable	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. Solo anomalías límbicas con FLAIR/DWI, mapeo ADC normal</li> <li>2. Hiperintensidades DWI</li> <li>3. Hiperintensidades FLAIR&gt;DWI</li> </ol>

Cuadro 4. Criterios diagnósticos por Resonancia Magnética para ECJ. RM: Resonancia Magnética; ECJ: Enfermedad de Creutzfeldt-Jakob; DWI: imágenes con difusión difusa; FLAIR: secuencias de recuperación de inversión atenuada por fluido; UCSF: Universidad de California, San Francisco. Fuente: Gaudino S, Gangemi E, Colantonio R, Botto A, Ruberto E. *Neuroradiology of human prion diseases, diagnosis and differential diagnosis.* Radiol Med. 2017 May;122(5):369-385.

<b>Criterios diagn3sticos para ECJ esporádico 2017</b>	
1.1 Definitivo:	-Síndrome neurol3gico progresivo y -Confirmaci3n por neuropatología, inmunohistoquímica o bioquímico
1.2 Probable:	1.2.1 I + 2 criterios de II y electroencefalograma típico 1.2.2 I + 2 criterios de II y RMI cerebral con cambios típicos 1.2.3 I + 2 criterios de II y FCS para proteína 14-3-3 positivo 1.2.4 Síndrome neurol3gico progresivo y RT-QuIC positivo en FCS u otro tejido
1.3 Posible:	I + 2 criterios II + <2 años de duraci3n
I.	Deterioro cognitivo rápidamente progresivo
II.	A Mioclonía B Alteraci3n visual o cerebelar C Signos piramidales o extrapiramidales D Mutismo acinético

Cuadro 5. Criterios diagn3sticos para ECJ esporádico 2017. ECJ: Enfermedad de Creutzfeldt-Jakob; RMI: Imagen de Resonancia Magnética; FCS: Fluidos Cerebroespinal; RT-QuIC: conversi3n inducida por temblor en tiempo real. Fuente: Mackenzie G, Will R. Creutzfeldt-Jakob disease: recent developments. F1000Res. 2017 Nov 27;6:2053.

Numerosos medicamentos se han probado y fallado en distintos modelos animales. En el estudio realizado por Otto et al, se observ3 un efecto neuroprotector, mejorando la funci3n cognitiva de los pacientes, mediante la utilizaci3n de Flupirtina (31), sin embargo, no se observ3 cambios respecto a la sobrevida de los pacientes.

El último estudio conocido en el uso de medicamentos en pacientes con ECJ fue realizado por Geschwind et al, mediante el uso de quinacrina, la cual mostr3

efectividad *in vitro* para eliminar priones, sin embargo no mostró cambios mejorando la sobrevida de los pacientes *in vivo* (32).

Actualmente se buscan nuevas terapias encaminadas a prevenir el inicio de la enfermedad y/o alterar su progresión, así como para el diseño de células precursoras neuronales (10).

## **2. Planteamiento del problema**

Las enfermedades por priones se consideran trastornos neurodegenerativos letales con un rápido deterioro cognitivo de los pacientes. Hasta 85% de los casos se relacionan con las formas esporádicas (25), siendo la ECJ la más frecuente a nivel mundial; las causas genéticas se consideran hasta 15% de los casos, sin embargo, no existen estudios epidemiológicos extensos en la literatura acerca de éstos. En los últimos 4 años se han logrado identificar clínicamente, casos compatibles con formas familiares de enfermedad de Creutzfeldt-Jakob en el Servicio de Genética Médica del Hospital General de México “Dr. Eduardo Liceaga”, los cuales presentaron deterioro neurológico rápidamente progresivo y contaban con al menos un familiar que presentó las mismas características clínicas. Hasta el momento no existen estudios validados de ECJ en la población mexicana, menos aún de caracterización clínico-molecular de pacientes con ECJ.

## 2.1 Pregunta de investigación

En este trabajo se pretende dar respuesta a la siguiente pregunta:

¿Cuáles son las variantes patogénicas identificadas mediante análisis molecular del gen *PRNP* en los casos clínicamente compatibles con enfermedad de Creutzfeldt-Jakob familiar?

### **3. Justificación**

La enfermedad de Creutzfeldt Jakob, corresponde a un grupo de desórdenes neurodegenerativos que se presentan raramente en la población mundial. La acumulación anormal en las neuronas de la proteína priónica, lleva a la apoptosis y muerte celular, presentándose una demencia rápidamente progresiva con características motoras y un corto tiempo de supervivencia desde el inicio (generalmente 1 año). En México se carece de estadísticas respecto a este tipo de padecimientos y hasta el momento, en nuestro país no se encuentran reportes validados en la literatura de la enfermedad de Creutzfeldt Jakob, siendo la más frecuente en todo el mundo. En el Hospital General de México se han podido identificar pacientes que por clínica, laboratorio y gabinete cuentan con diagnóstico de ECJ, a su vez se pudo identificar uno o más familiares con características similares, lo que da la sospecha de presentarse herencia autosómico dominante, sin embargo hasta la fecha no se han reportado series grandes de pacientes con ECJ en la población mexicana.

La identificación de variantes patogénicas permitirá identificar familiares con alto riesgo y así, brindar un asesoramiento genético preciso en cuanto a los patrones de herencia y la posibilidad de encontrar más afectados en la familia.

A su vez, el estudio de los pacientes con ECJ familiar a nivel molecular, contribuiría con el mayor entendimiento de la fisiopatología de la enfermedad, contribuyendo a las líneas de investigación en la terapia génica para desarrollar medicamentos más eficaces en la detención de la progresión de la enfermedad.

#### 4. Hipótesis

Si aproximadamente el 15% de los casos de ECJ son de causa genética, entonces al analizar variantes patogénicas del gen *PRNP* se logrará una confirmación molecular en el 100% de los individuos con clínica y genealogía compatible.

#### 5. Objetivos:

➤ General:

Identificar variantes patogénicas en el gen *PRNP* en individuos con clínica compatible con ECJ y afectación en familiares, de esta forma clasificarlos como causa genética.

➤ Específicos:

1. Describir la genealogía de los individuos afectados en los que se buscó la variante patogénica.
2. Describir las características clínicas de pacientes afectados con Enfermedad de Creutzfeldt Jakob Familiar.
3. Reportar las variantes asociadas a ECJf encontradas en los individuos estudiados.
4. Identificar a los familiares con alto riesgo de heredar la variante.



## 6. Materiales y métodos

### ➤ **Diseño del estudio**

El presente trabajo se trata de un estudio descriptivo, observacional y transversal.

- **Población y tamaño de la muestra:** La población en estudio está constituida por individuos con diagnóstico de enfermedad de Enfermedad de Creutzfeldt Jakob realizado en el servicio de neurología del Hospital General de México “Dr. Eduardo Liceaga”, los cuales fueron referidos al servicio de genética médica para completar su estudio. El tamaño de la muestra se integró por cuatro individuos no relacionados los cuales presentan la forma familiar de la ECJ.

### ➤ **Criterios de selección:**

- Criterios de inclusión:
  - a. Individuos con clínica compatible de ECJ que presentaran afectación de algún familiar de primer o segundo grado.
  - b. Individuos que hayan aceptado la realización de la prueba molecular y hayan firmado el consentimiento informado.
- Criterios de exclusión:
  - a. Individuos que ya cuenten con un diagnóstico molecular en otra institución de salud.
- Criterios de eliminación:
  - a. Individuos cuya muestra de ADN sea insuficiente o inadecuada para la realización de la prueba.

➤ **Definición de variables y unidades de medida**

Cuadro I. Variables

<b>Variable</b>	<b>Definición conceptual</b>	<b>Tipo</b>	<b>Unidad de medida</b>
<b>Enfermedad de Creutzfeldt-Jakob.</b>	Trastorno neurodegenerativo que se caracteriza demencia rápidamente progresiva, mioclonía y alteraciones en el electroencefalograma	Nominal dicotómica	Presente/Ausente
<b>Género</b>	Se refiere a la identidad sexual de los seres vivos en términos biológicos y a la distinción que se hace entre femenino y masculino.	Nominal dicotómica	Masculino/ Femenino
<b>Edad de diagnóstico</b>	Tiempo transcurrido desde el diagnóstico de la enfermedad	Numérica continua	Años
<b>Tiempo de evolución de la enfermedad</b>	Tiempo transcurrido desde el diagnóstico de la enfermedad y el fallecimiento	Numérica continua	Meses
<b>Variante patogénica</b>	Cualquier alteración o variación en el código genético deletérea que puede ser heredada.	Nominal dicotómica	Presente/Ausente

## ➤ Procedimientos

### a) Pacientes

A los individuos en estudio se les realizó historia clínica completa, estudio de laboratorio de la proteína 14-3-3 y estudio de imagen con resonancia magnética de encéfalo, una vez hecho el diagnóstico clínico por el servicio de neurología de ECJ, los individuos fueron valorados por el servicio de genética médica donde se realizó el árbol genealógico, ante la sospecha de casos familiares se ofreció el estudio molecular confirmatorio; aquellos individuos que aceptaron y que a firmaron el consentimiento informado se prosiguió a tomar muestra de sangre periférica para estudio molecular.

### b) Estudio molecular del gen *PRNP*

#### - Extracción de sangre periférica

Se extrajo de forma aséptica 5 ml de sangre periférica y se colocó en un tubo de ensayo con EDTA. Posteriormente se identifica la muestra con el nombre completo del paciente, diagnóstico clínico y número de caso.

#### - Extracción de DNA

Se utilizó el Kit *Wizard® SV Genomic DNA Purification System* y siguiendo las recomendaciones del proveedor, se extrajo el DNA de sangre periférica.

#### - CUANTIFICACION Y PUREZA DE DNA

Se realiza análisis espectrofotométrico, utilizando software y equipo NanoDrop 2000c para cuantificación y determinación de pureza del DNA, que consiste en determinar la absorbancia de la muestra a dos longitudes de onda (260nm y 280nm). La absorbancia a 260 nm corresponde a las ácidos nucleicos que determinara la concentración de DNA. Absorbancia a 280 nm determina la cantidad de proteínas presentes en la muestra DNA. La muestra de DNA ideal

para realizar el estudio presenta una concentración mayor de 200 ng/ml y una relación longitud de onda 260/280 mayor de 1.8.

- Reacción en cadena de la polimerasa. (PCR)

Se amplificó la región codificante de *PRNP*, usando los siguientes oligos PRNPEX2RW 5'- AGA TGG TGA AAA CAG GAA GAC-3' y PRNPEX2FW 5'-AAA TAT GGG ACT CTG ACG TTC-3', el amplicon obtenido se sometió posteriormente a secuenciación automatizada tipo Sanger.

- TECNICA DE ELECTROFORESIS

Volumen 100ml.

Para productos de PCR – gel al 1.5% con 1.5 gramos de agarosa.

1. En un matraz Erlenmeyer se disuelve la agarosa en 100 ml de TAE 1X (Tris, ácido acético, EDTA), calentando la mezcla den un horno de microondas, dejar enfriar la solución hasta aproximadamente 50° C, colocar 1 gota y vaciar en el porta gel.
2. Dejar solidificar en el porta gel colocando el peine
3. Preparar TAE 1X para llenar la cámara
4. Retirar el peine cuidadosamente para evitar romper los pozos
5. Colocar el porta gel en la cámara de electroforesis y añadir el TAE 1X hasta cubrir el gel aproximadamente un milímetro por encima
6. Mezclar 1ml de producto de PCR con 3 ml de amortiguador de carga
7. Colocar la muestra en el pozo y utilizar una escalera de referencia
8. Conectar los electrodos a la cámara y encender la fuente de poder a 70 volts.
9. Dejar correr la muestra durante 60 minutos.
10. Observar en el transiluminador de luz ultravioleta

➤ **Análisis estadístico**

Los resultados obtenidos se analizaron mediante estadística descriptiva, comparándolos con las bases de datos mundiales.

➤ **Aspectos éticos y de bioseguridad**

El *Consentimiento Informado* se recabará del paciente (o su representante legal), así como de los familiares participantes, siguiendo lineamientos y formatos del Hospital General de México “Dr. Eduardo Liceaga” O.D. específicos. informando sobre los riesgos existentes en la toma de muestra de sangre, mismos que se consideran mínimos. (Anexo 1)

➤ **Recursos materiales**

Expedientes clínicos del servicio de neurología y genética médica del Hospital General de México “Dr. Eduardo Liceaga” de pacientes con diagnóstico clínico de Enfermedad de Creutzfeldt-Jakob.

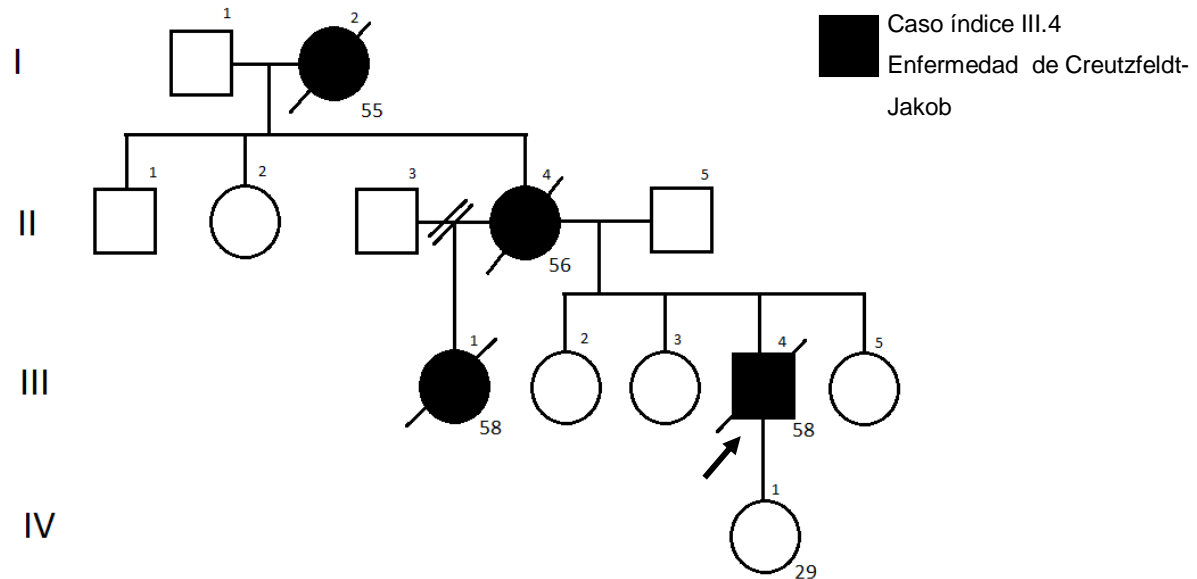
## 7. Resultados

### ➤ Reporte de casos

#### FAMILIA 1

Masculino de 58 años inicia padecimiento con astenia, mareo, ansiedad, irritabilidad, agresividad, labilidad emocional, desinhibición sexual, alucinaciones visuales, mioclonías, demencia progresiva y mutismo acinético. La evolución del cuadro neurológico desde su inicio hasta la muerte fue de 5 meses. Antecedente de media hermana, madre y abuela materna con cuadro neurológico de características similares, todas finadas posterior a los 50 años de edad, originarios del estado de Hidalgo.

Árbol genealógico de familia.



Se realizaron estudios complementarios como proteína 14-3-3 positiva, resonancia magnética craneal con reporte de hiperintensidad del núcleo caudado y putamen y electroencefalograma con patrón periódico con complejo de ondas agudas trifásicas generalizadas. De acuerdo a los datos positivos por clínica y

antecedentes familiares se realizó secuenciación del gen *PRNP* el cual mostró la variante patogénica tipo transición con un cambio de una Guanina por una Adenina en la posición 598 (c. 598 G>A), lo que a nivel proteico cambia un ácido glutámico (E) por una Lisina (K), un aminoácido ácido por un aminoácido básico (p. E200K). (Figura II)

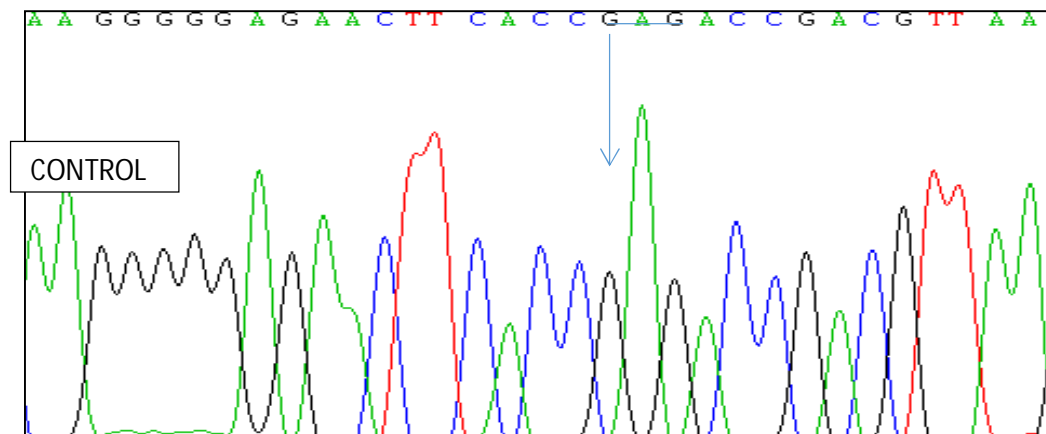


Figura I. Electroferograma de análisis molecular de paciente con ECJf mediante secuenciación. Paciente control.

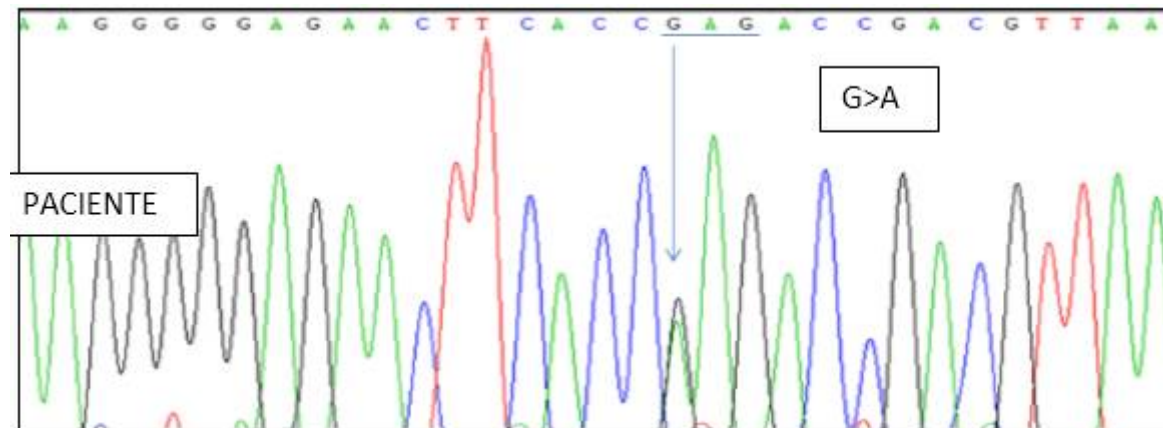


Figura II. Electroferograma de análisis molecular de paciente con ECJf mediante Secuenciación. Variante patogénica c.598 G>A.

Mediante el sistema de Swiss-Model se pudo realizar *in silico* la proteína mutada p.E200K comparándose a su vez con la proteína sin alteración. (Figura III)

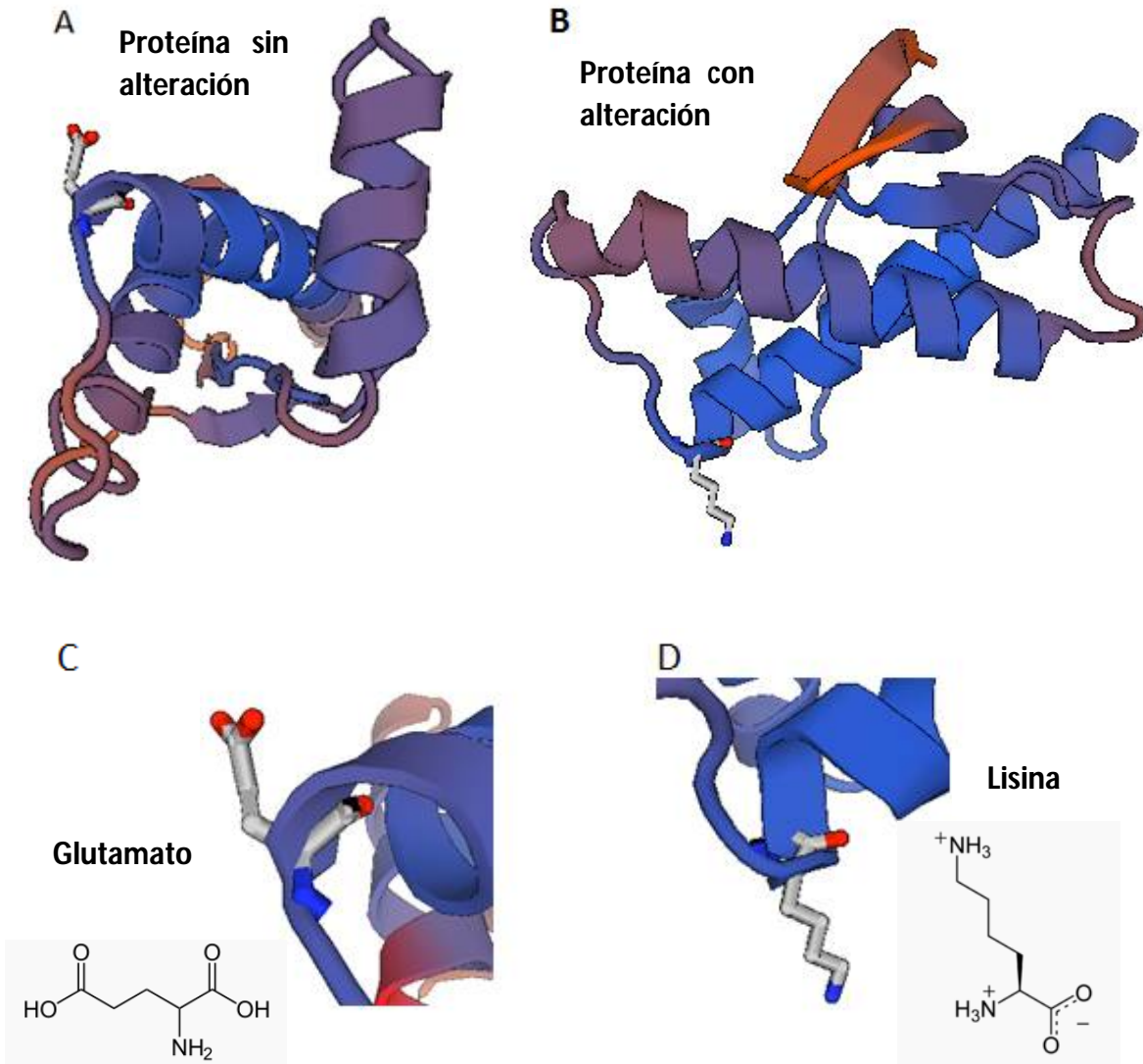


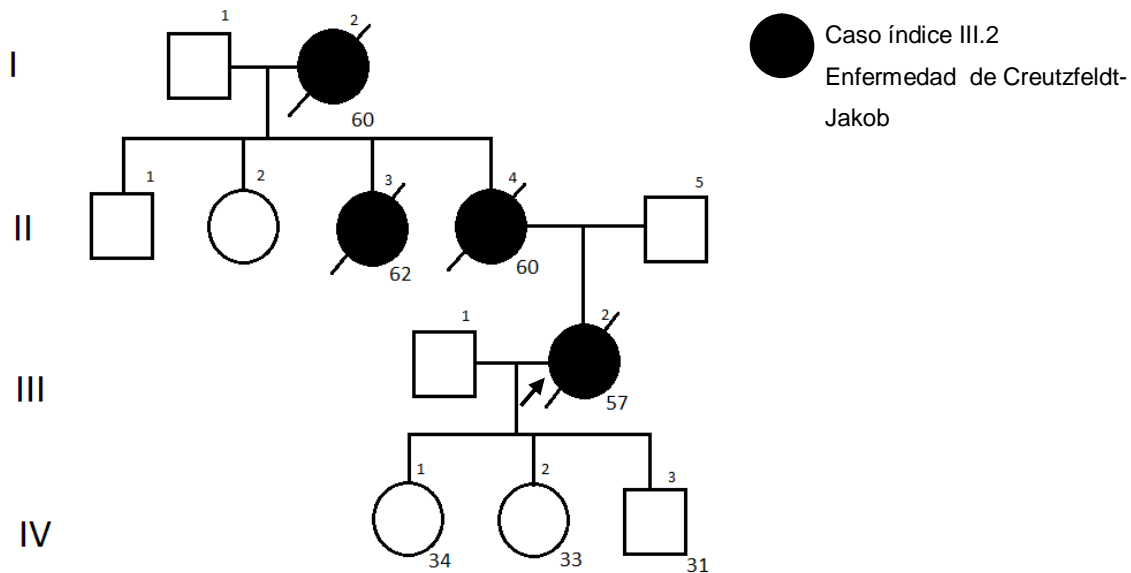
Figura III. A y C: Proteína priónica con Glutamato en posición 200, secuencia sin alteración. B y D: Proteína priónica con Lisina en posición 200, secuencia con variante p.E200K.



## FAMILIA 2

Femenino de 57 años inicia padecimiento con astenia, adinamia, dolor neuropático en hemicuerpo izquierdo de predominio en extremidad inferior ipsilateral, posteriormente aparición de temblor en miembros pélvicos y disminución de la fuerza de forma generalizada, alteraciones del lenguaje, demencia progresiva, incapacidad para deglutir, mioclonías y mutismo acinético. La duración del padecimiento desde su inicio hasta la muerte fue de 4 meses. Antecedente de madre, tía materna y abuela materna con mismo padecimiento neurológico finadas posterior a los 60 años de edad; originarios del estado de Hidalgo.

Árbol genealógico de familia.



Los estudios complementarios que se realizaron fueron proteína 14-3-3 positiva, resonancia magnética craneal con reporte de hiperintensidad de putamen. De acuerdo a los datos positivos por clínica y antecedentes familiares se realizó secuenciación del gen *PRNP* mostrando una variante patogénica de tipo

transición, un cambio de una Guanina por una Adenina en la posición 586 ( c. 586 G>A ), lo que a nivel proteico cambia un ácido glutámico (E) por una Lisina (K), un aminoácido ácido por un aminoácido básico (p. E196K). (Figura V)

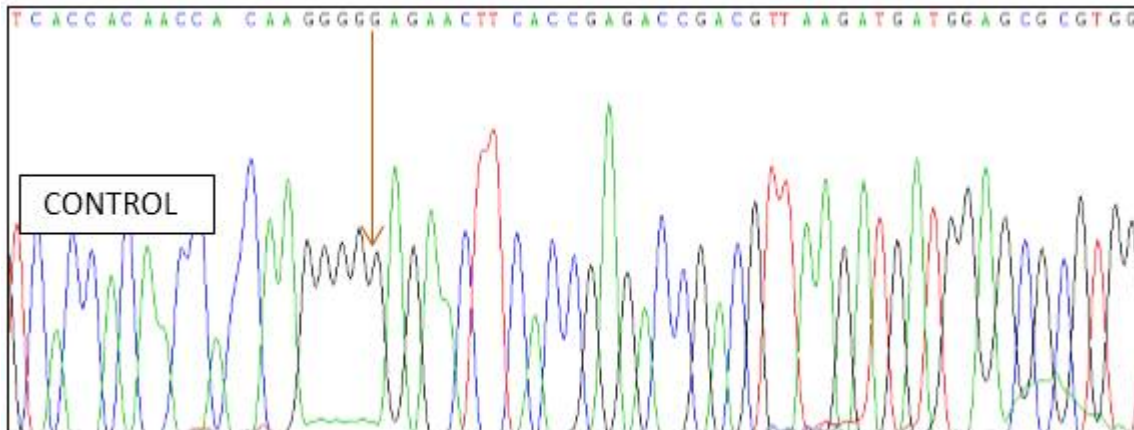


Figura IV. Electroferograma de análisis molecular de paciente con ECJf mediante Secuenciación. Paciente control.

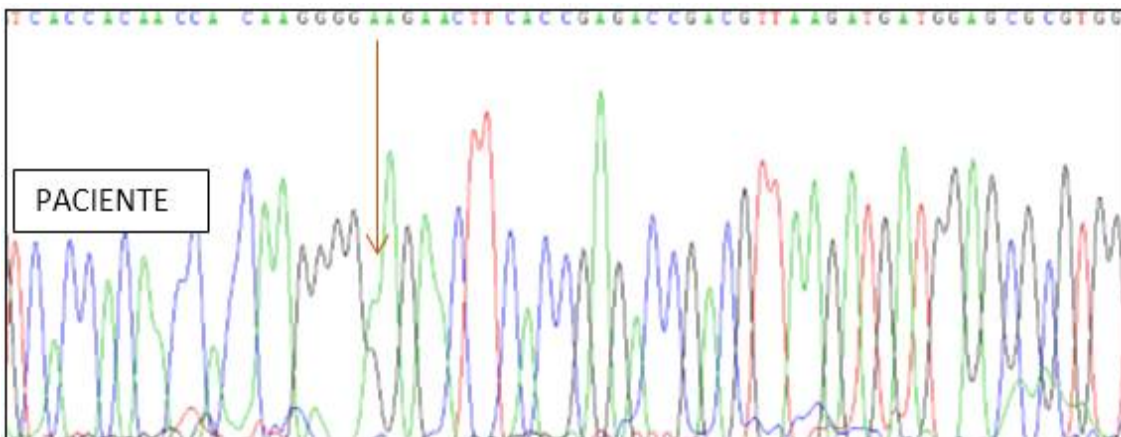


Figura V. Electroferograma de análisis molecular de paciente con ECJf mediante Secuenciación. Variante patogénica c.586 G>A.

Mediante el programa de Swiss-Model se realizó *in silico* la proteína alterada p.E196K comparándose a su vez con la proteína sin alteración (Figura VI).

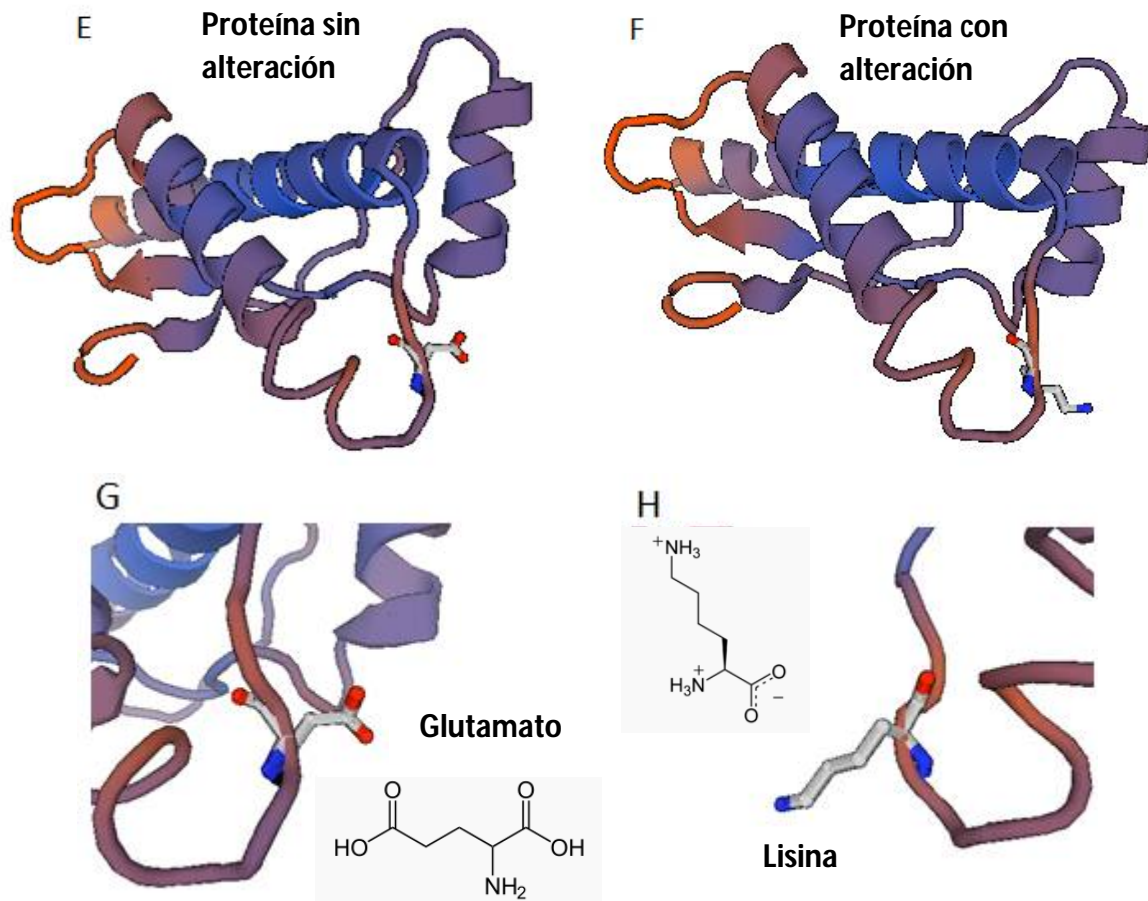
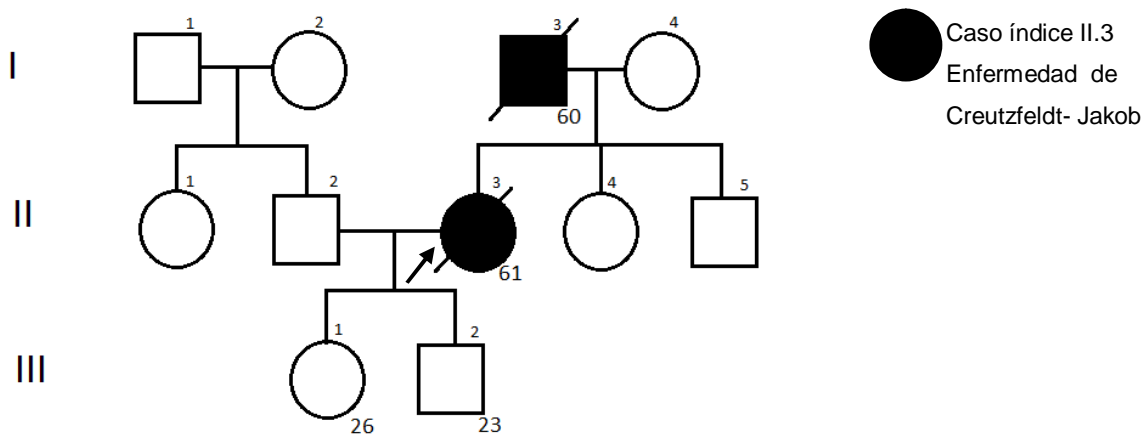


Figura VI. E y G: Proteína priónica con Glutamato en posición 196, secuencia sin alteración. F y H: Proteína priónica con Lisina en posición 196, secuencia con variante p.E196K.

### FAMILIA 3

Femenino de 61 años quien inicia padecimiento con parestesias y dolor en dedo medio y anular de mano derecha que evolucionaron en un mes a toda la extremidad superior ipsilateral. Posteriormente comienza con alteraciones del lenguaje, demencia progresiva, rigidez de extremidades inferiores que impidieron la marcha, movimientos mioclónicos bilaterales en extremidades superiores. La evolución del cuadro neurológico desde el inicio hasta su muerte fue de 5 meses. Antecedente de padre finado a los 60 años por cuadro neurológico con las mismas características. Familia originaria del estado de San Luis Potosí.

Árbol genealógico de familia.



Dentro del protocolo de estudio se realizó proteína 14-3-3, la cual fue positiva, resonancia magnética craneal con reporte de hiperintensidad en corteza temporo-parietal-occipital y electroencefalograma con complejo de ondas agudas trifásicas generalizadas. Correspondiendo los datos positivos clínicos y antecedentes familiares se realizó la secuenciación del gen *PRNP* mostrando una variante patogénica de tipo transición, un cambio de una Guanina por una Adenina en la posición 586 ( c. 586 G>A ), lo que a nivel proteico cambia un ácido

glutámico (E) por una Lisina (K), un aminoácido ácido por un aminoácido básico (p. E196K). [Figura VII]

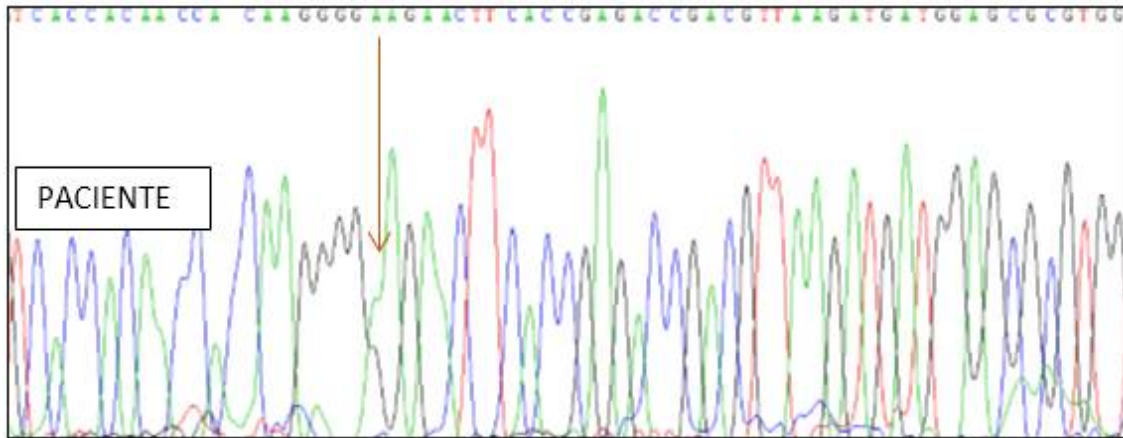


Figura VII. Electroferograma de análisis molecular de paciente con ECJf mediante Secuenciación. Variante patológica c.586 G>A.

Modelaje *in silico* mediante el programa de Swiss-Model de la proteína alterada p.E196K. (Figura VIII)

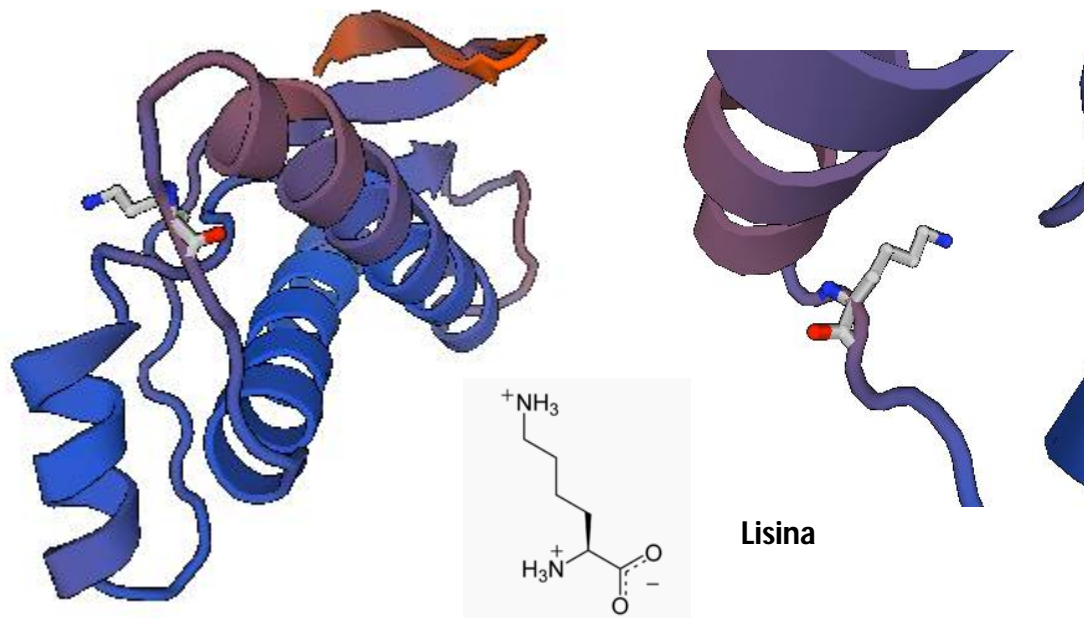
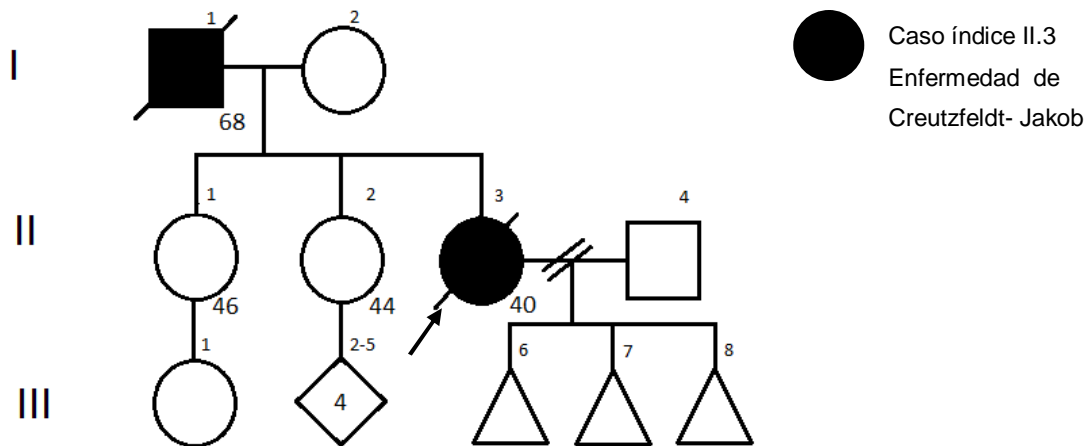


Figura VIII. Proteína priónica con Lisina en posición 196, secuencia con variante p.E196K

#### FAMILIA 4

Femenino de 40 años que inicia padecimiento en marzo 2017 con malestar estomacal, astenia, adinamia; posteriormente se agregó pérdida del equilibrio, debilidad muscular generalizada, crisis convulsivas, deterioro cognitivo y cefalea intensa. La evolución del cuadro neurológico desde su inicio hasta la muerte fue de 3 meses. Antecedente de padre finado a los 68 años con cuadro neurológico de características similares. Familia originaria de la Ciudad de México.

Árbol genealógico de familia.



Se realizaron estudios complementarios como proteína 14-3-3 positiva, TAC craneana con reporte de hipointensidad del lóbulo izquierdo del cerebelo y electroencefalograma con patrón periódico con complejo de ondas agudas trifásicas generalizadas. Correlacionando los datos positivos por clínica y antecedentes familiares se realizó la secuenciación del gen *PRNP* el cual mostró la variante patogénica tipo transición con un cambio de una Guanina por una Adenina en la posición 598 (c. 598 G>A), lo que a nivel proteico cambia un ácido glutámico (E) por una Lisina (K), un aminoácido ácido por un aminoácido básico (p. E200K). (Figura IX)

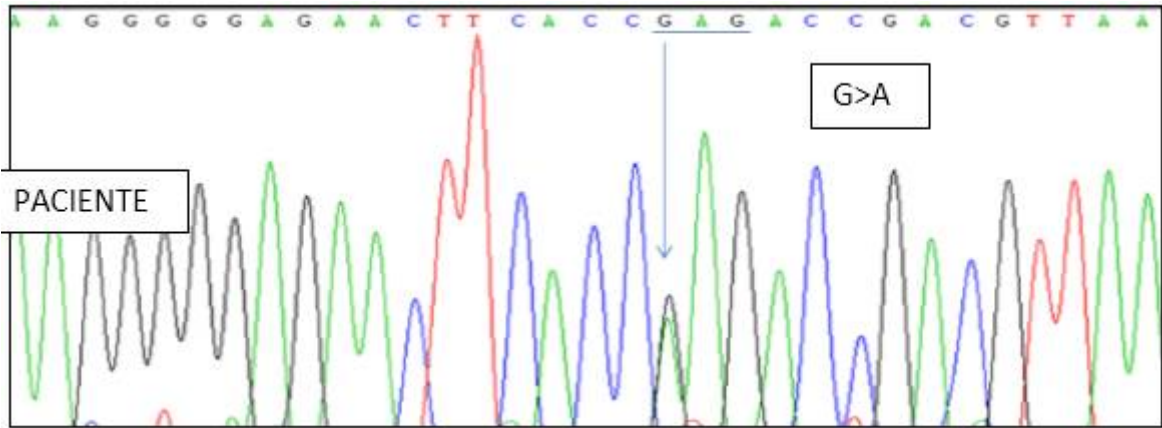


Figura IX. Electroferograma de análisis molecular de paciente con ECJf mediante Secuenciación. Variante patogénica c.598 G>A.

Modelaje *in silico* mediante el programa de Swiss-Model de la proteína alterada p.E200K. (Figura X)

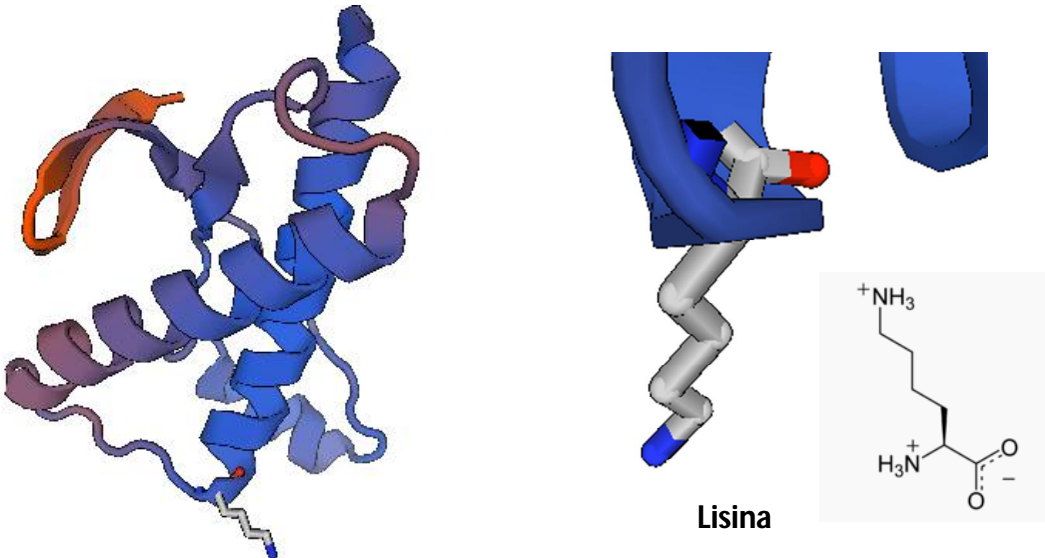


Figura X. Proteína priónica con Lisina en posición 200, secuencia con variante p.E200K

Posteriormente se identificó a una de las hermanas de la probando (Individuo II.2) de 44 años de edad, heterocigota para la misma variante p.E200K, actualmente sin datos clínicos neurológicos.

## 8. Discusión

En México se tienen registro de algunos casos de enfermedad de Creutzfeldt-Jakob esporádico desde 1995, sin embargo se desconoce la prevalencia real y a su vez no se cuentan con casos reportados de las formas genéticas, por lo que el presente estudio es uno de los más amplios para la ECJf en población mexicana hasta el momento, al identificarse cuatro individuos de diferentes familias, y en quienes se confirmó por secuenciación la presencia de variantes patogénicas en el gen *PRNP*.

Nuestro estudio confirmó la ECJf en dos pacientes originarios del estado de Hidalgo, uno de San Luis Potosí y uno de la Ciudad de México. Hasta la fecha solo se cuenta con registro de pacientes con ECJs, originarios de la Ciudad de México (47%), Estado de México (33%), y de los estados de Guerrero, Hidalgo y Sonora (20%) (24).

Actualmente, se han reportado cerca de 60 variantes patogénicas en *PRNP* (23), y en los casos de ECJf se deben mayormente a variantes con alteraciones puntuales y por inserción/delección de los repetidos de octapéptidos. Algunas de las variantes reportadas son cambios de base en el codón 114 (GGT→GTT), 178 (GAC→AAC), 180 (GTC→ATC), 183 (ACA→ACG), 188 (ACG→AAG), 196 (GAG→AAG), 200 (GAG →AAG), 203 (GTT→ATT), 208 (CGC→CAC), 210 (GTT→ATT), 211 (GAG→CAG), 232 (ATG→AGG), y 238 (CCA→TCA) (33). Aproximadamente 85% de los casos de ECJf se deben a las variantes p.E200K, p.V210I, p.V180I, y p.D178N (25).

En nuestro estudio se pudo caracterizar en 50% de los pacientes la variante p.E200K, correspondiendo la otra mitad a la variante p.E196K. En la literatura se tiene registro de aproximadamente 13 casos secundarios a la mutación p.E196K a diferencia de la mutación p.E200K con más de 500 casos reportados (23), ésta última considerándose la variante patogénica más frecuentemente observada a



nivel mundial. Los casos reportados para la variante p.E196K corresponden principalmente a población europea como Francia y Alemania (33).

Los dos pacientes portadores de las variantes p.E200K, eran originarios de los estados de Hidalgo y Ciudad de México, particularmente esta mutación se considera con efecto fundador en poblaciones como Judíos Libios y Árabes Sefárdicos, sin embargo en el caso de nuestra población, los estados coinciden con aquellos en los que también se han reportado casos de ECJs, lo que haría preguntar si realmente eran casos esporádicos o podríamos sospechar de una prevalencia mayor en nuestro país para esta variante. A su vez no se ha realizado el estudio molecular del polimorfismo en el codón 129 del gen *PRNP*, el cual se considera como un modificador de la enfermedad (12).

Se realiza el análisis comparativo de las variantes p.E200K y p.E196K reportadas en la literatura y los hallazgos observados en nuestros pacientes (Cuadro E).

A nivel proteico se realizó el modelaje *in silico* comparándose el producto obtenido secundario a las mutaciones encontradas y las proteínas normales, observando poco o nulo cambio estructural de la proteína pero si un cambio en los aminoácidos de un ácido glutámico (E) por una Lisina (K), un aminoácido ácido por un aminoácido básico en ambas mutaciones (p. E200K y p.E196K). El ácido glutámico se considera un aminoácido no esencial mientras que la lisina si, el primero se encuentra principalmente en tejido neuronal como neurotransmisor excitatorio de la corteza cerebral, participando a su vez en otros procesos importantes como el metabolismo anabólico del músculo y el intercambio de energía en los tejidos, entre otros; por el contrario la lisina se considera pieza clave para la síntesis de diferentes proteínas en el organismo y tiene un papel central para la absorción del calcio. El cambio de aminoácidos y los procesos en los que participan nos podría explicar las alteraciones a nivel neurológico que presentan estos pacientes.

<b>Variante patogénica</b>	<b>p.E196K</b>	<b>Nuestro estudio</b>	<b>p.E200K</b>	<b>Nuestro estudio</b>
<b>Casos en la literatura</b>	13	2	571	2
<b>Edad de inicio</b>	64-69 a	57-61 a	60 a	40-58 a
<b>Clinica</b>	Similar a ECJ	Mioclónia, demencia, debilidad y rigidez muscular	Demencia, mioclónias, signos piramidales o extrapiramidales	Mioclónias, demencia, mutismo acinético, deterioro cognitivo
<b>Historia familiar positiva</b>	100%	100%	50%	100%
<b>Evolución</b>	10-13 m	4-5 meses	1-18 meses	3-5 meses
<b>Polimorfismo codón 129</b>	N/A	No realizado	MM/ MV/ VV	No realizado
<b>14-3-3</b>	N/A	Presente en el 100%	85-100%	Presente en el 100%
<b>EEG (PSWC)</b>	N/A	Presente en 1 paciente	42-85%	Presente en el 100%
<b>Referencias</b>	Kim et al. 2017; Takada et al. 2017		Kovács et al. 2005, 2011; Krasnianski et al. 2016, Kim et al. 2017; Takada et al. 2017	

Cuadro e. Comparativa de variantes patogénicas p.E196K y p.E200K. ECJ: Enfermedad de Creutzfeldt- Jakob. EEG: Electroencefalograma. PSWC: complejo de ondas afiladas periódicas. a: Años. MM: Metionina/Metionina. MV: Metionina/Valina. VV: Valina/Valina. N/A: No disponible

En nuestro estudio se observó gran variabilidad en la edad de presentación, con una media de edad de presentación de 58 años, similar a la reportada en la literatura que va de 55 a 60 años (1, 33).

La paciente más joven en nuestro estudio se registró con 40 años, portadora de la variante p.E200K, según lo reportado por S. Mead (12) se considera que los pacientes portadores de ésta variante tienen un inicio de presentación ligeramente por debajo de la edad promedio que los casos esporádicos, lo cual coincide con nuestro caso índice II.3 de la familia 4, no así el caso III.4 de la familia 1 con 58 años.

Para la mutación p.E196K no existe un consenso sobre la edad de presentación de los pacientes, en nuestro estudio se reportaron las edades de 57 y 61 años; sin embargo, en el estudio realizado por A. Krasnianski et al (34) donde se identificó la variante p.E196K en 5 familias alemanas, la edad de presentación media fue a los 70 años, de igual forma Eigenbrod et al (35) observó una media de edad 72 +/- 3.4 años.

En la literatura se reconoce que no existe prevalencia en cuanto al género, sin embargo en los pacientes analizados 75% correspondió al género femenino, de igual forma el estudio hecho por Pocchiari et al (36) registra mayor porcentaje de mujeres afectadas. A diferencia del estudio realizado por Panegyres et al (37) y Kovacs et al (38), donde se reportaron un mayor número de hombres afectados.

El 100% de los pacientes de nuestro estudio presentaron los datos clínicos típicos de la ECJf; de igual forma 100% presentaron síntomas iniciales inespecíficos como astenia y adinamia, manifestaciones que usualmente no se suelen describir en la literatura, a diferencia de la demencia progresiva (95-98%), síntomas cerebelosos (70%), mioclonía (60-70%), signos extrapiramidales y psiquiátricos (47-50% y 25-30% respectivamente) (1, 38)

La tríada clásica descrita de demencia rápidamente progresiva, mioclonía y alteraciones en el electroencefalograma (EEG), se pudo observar en 3 de los 4 casos índice estudiados, dos correspondiendo a la variante p.E200K, y uno a la variante p.E196K. Coincidiendo con los resultados obtenidos por Krasnianski et al.

donde se observó la triada clásica en aquellos pacientes portadores de la mutación p.E200K (34).

En solo dos pacientes se pudo observar el mutismo acinético: el probando de la familia 1 (p.E200K) y familia 2 (p.E196K) presentándose en etapas tardías de la enfermedad. De igual forma Krasnianski et al, reporta casos con la variante p.E196K presentándose con demencia, signos extrapiramidales y mioclonías con rápida progresión hasta el mutismo acinético (34).

En el caso de la mutación p.E200K se han reportado crisis convulsivas como dato clínico inusual (38), la probando II.3 de la familia 4, fue la única que presentó este signo.

En la familia 4 podemos sospechar de dos características descritas en un bajo porcentaje de pacientes con ECJf: penetrancia incompleta y fenómeno de anticipación. Se refiere el antecedente del padre del caso índice con datos clínicos similares y finado a los 68 años mientras que el caso índice presentó una edad de presentación temprana con rápida evolución hasta la muerte a los 40 años, lo que correspondería con el fenómeno de anticipación. Sin embargo en la literatura existen opiniones que se contraponen ante este hecho.

Pocchiari et al (36) describió una serie de familias no relacionadas donde los hijos presentaban las manifestaciones a edades más tempranas que los padres afectados, así como el fallecimiento más temprano. Esto debido a factores ambientales y epigenéticos que podrían colaborar con la presentación del fenómeno de anticipación. Sin embargo aún no existen suficientes estudios que confirmen este fenómeno.

En cuanto a la penetrancia, en la familia 4 se identificó al individuo II.2 de 44 años (hermana de caso índice) como heterocigota para la variante p.E200K, actualmente sin datos clínicos de la enfermedad, lo que apoyaría la teoría de la penetrancia incompleta en la enfermedad.

La penetrancia para p.E200K se considera, dependiente de la edad y origen geográfico, por ejemplo en los judíos sefárdicos se considera una penetrancia de 70% a los 70 años, elevándose hasta cerca de 100% a los 85 años (23); en algunos casos se han reportado familiares de edad adulta asintomáticos y portadores de la mutación, se considera que los polimorfismos para el codón 129 pudieran condicionar esta variabilidad de presentación (12). En el estudio realizado por Minikel et al, se pudo determinar un rango de penetrancia que va de <0.1% a ~100% para las diferentes mutaciones analizadas (26). En el estudio realizado por Spudic S, et al, se maneja una tasa de supervivencia para los portadores de la mutación p.E200K de 0.23 a la edad de 70 años sin presentar manifestaciones de la enfermedad, con un amplio porcentaje de penetrancia que va desde 1% a los 40 años, 77% de probabilidades de desarrollar la enfermedad posterior a los 70 años y de hasta 100% en edades mayores a 80 años (39).

En los pacientes analizados en nuestro estudio aquellos portadores de la mutación p.E200K mostraron una evolución de 5 y 3 meses, mientras que en los portadores de p.E196K la evolución hasta el fallecimiento fue de 4 y 5 meses.

En total se observó una media de 4 meses 25 días para la evolución desde el inicio de la enfermedad hasta el fallecimiento de los pacientes, considerándose menor a lo reportado en la literatura (5–6 meses (23)). En los casos de las variantes p.V210I y p.E196K se ha observado una duración menor de la enfermedad (<5 meses) a diferencia de otras mutaciones como p.E200K con un rango amplio de evolución (promedio 10 meses) y p.P102L con la mayor duración registrada en un paciente alemán (68 meses) (34).

## 9. Conclusiones

La identificación de variantes patogénicas en el gen *PRNP* en la población mexicana establece el diagnóstico confirmatorio de ECJf.

El estudio integral de las familias donde se identificaron variantes patogénicas en *PRNP* permite la detección de individuos de alto riesgo y a través de esta información, brindar un asesoramiento genético preciso y con una alta complejidad ética, ya que el conocimiento de un resultado positivo podría condicionar deterioro físico y/o mental en el individuo involucrado, debido a que no se puede predecir con exactitud el tiempo de presentación y la rapidez de la evolución de la enfermedad.

La limitación del estudio es que no se pudo estudiar a todos los familiares finados que presentaron un cuadro clínico similar a los casos probando.

## 10. Referencias

1. Takada LT, Kim M-O, Cleveland RW, Wong K, Forner SA, Gala II, Fong JC, Geschwind MD. Genetic Prion Disease: Experience of a Rapidly Progressive Dementia Center in the United States and a Review of the Literature. *Am J Med Genet.* 2017. Part B 174B:36–69.
2. Ironside JW, Ritchie DL, Head MW. Prion diseases. *Handbook of Clinical Neurology*, Vol. 145
3. Requena JR, Wille H. The Structure of the Infectious Prion Protein and Its Propagation. *Progress in Molecular Biology and Translational Science*, Volume 150
4. Dalsgaard N. Prion diseases. An overview. *APMIS* 2002;110(1):3-13.
5. Tatzelt J, Schätzl HM. Molecular basis of cerebral neurodegeneration in prion diseases. *FEBS J.* 2007 Feb;274(3):606-11.
6. Blumenkron D, Guerrero P, Ramiro M. Enfermedad de Creutzfeldt-Jakob. *Med Int Mex* 2007;23:34-46
7. Kalikiri PC, Sachan RG. Prions – Proteinaceous Infectious Particles. *JACM* 2003; 4(4): 334-6
8. Aguzzi A, Heppner FL (2000) Pathogenesis of prion diseases: a progress report. *Cell Death Differ* 7:889 –902
9. Watts JC, Balachandran A, Westaway D. The expanding universe of prion diseases, *PLoS Pathog.* 2 (2006) e26.
10. Dudhatra GB, Kumar A, Modi CM, Awale MM., Patel HB, Mody SK. Transmissible Spongiform Encephalopathies Affecting Humans. *ISRN.* 2013; 11
11. Mahal, S. P., Asante, E. A., Antoniou, M., Collinge, J. Isolation and functional characterisation of the promoter region of the human prion protein gene. *Gene* 268: 105-114, 2001.
12. Mead S. Prion disease genetics. *European Journal of Human Genetics* (2006) 14, 273–281.

13. Colby DW, Prusiner SB. 2011. Prions. *Cold Spring Harb Perspect Biol* 3(1): a006833
14. Bounhar Y, Zhang Y, Goodyer CG, LeBlanc A, et al. Prion protein protects human neurons against Bax-mediated apoptosis, *J. Biol. Chem.* 276 (2001) 39145–39149.
15. Acevedo-Morantes CY, Wille H. The Structure of Human Prions: From Biology to Structural Models — Considerations and Pitfalls. *Viruses* 2014, 6, 3875-3892
16. Puoti G, Bizzi A, Forloni G, Safar JG, Tagliavini F, Gambetti P. 2012. Sporadic human prion diseases: Molecular insights and diagnosis. *Lancet Neurol* 11(7):618–628.
17. Schelzke G, Kretzschmar HA. Clinical aspects of common genetic Creutzfeldt-Jakob disease. *Eur J Epidemiol* (2012) 27:147–149
18. Gasset M, Westaway D. Los priones y su biología. *Rev Neurol* 2000;31(2):129-32.
19. Watts JC, Westaway D. 2007. The prion protein family: diversity, rivalry, and dysfunction. *Biochim Biophys Acta* 1772: 654–672
20. Zahn R, Liu A, Luhrs T, Riek R, von Schroetter C, Lopez Garcia F, Billeter M, Calzolari L, Wider G, Wuthrich K. 2000. NMR solution structure of the human prion protein. *Proc Natl Acad Sci USA* 97(1):145–150.
21. Watts JC, Prusiner SB. Experimental Models of Inherited PrP Prion Diseases. *Cold Spring Harb Perspect Med* (2017)
22. Parchi P, Strammiello R, Notari S, Giese A, Langeveld JP, et al. 2009. Incidence and spectrum of sporadic Creutzfeldt- Jakob disease variants with mixed phenotype and co-occurrence of PrPSc types: An updated classification. *Acta Neuropathol* 118(5):659–671.
23. Kim MO, Takada LT, Wong K, Forner SA, Geschwind MD. Genetic PrP Prion Diseases. *Cold Spring Harb Perspect Biol.* Aug 4. pii: a033134
24. Velásquez-Pérez L, Rembao-Bojorquez D, Guevara J, Guadarrama-Torres RM, Trejo-Contreras A. Creutzfeldt-Jakob disease in Mexico. *Neuropathology.* 2007 Oct;27(5):419-28.



25. Mackenzie G, Will R. Creutzfeldt-Jakob disease: recent developments. *F1000Res*. 2017 Nov 27;6:2053.
26. Minikel EV, Vallabh SM, Lek M, Estrada K, Samocha KE, et al. Quantifying prion disease penetrance using large population control cohorts. *Sci Transl Med* 8(322):322–ra329.
27. 1000 Genomes Project Consortium, Abecasis GR, Auton A, Brooks LD, DePristo MA, Durbin RM, Handsaker RE, Kang HM, Marth GT, McVean GA. 2012. An integrated map of genetic variation from 1,092 human genomes. *Nature* 491(7422):56- 65.
28. Manix M, Kalakoti P, Henry M, Thakur J, Menger R, et al. Creutzfeldt-Jakob disease: updated diagnostic criteria, treatment algorithm, and the utility of brain biopsy. *Neurosurg Focus* 39 (5):E2, 2015
29. Gaudino S, Gangemi E, Colantonio R, Botto A, Ruberto E. Neuroradiology of human prion diseases, diagnosis and differential diagnosis. *Radiol Med*. 2017 May;122(5):369-385.
30. Vitali P, Maccagnano E, Caverzasi E, Henry RG, Haman A, Torres-Chae C et al. Diffusion-weighted MRI hyperintensity patterns differentiate CJD from other rapid dementias. *Neurology* (2011) 76:1711–1719
31. Otto M, Cepek L, Ratzka P, Doehlinger S, Boekhoff I, et al. Efficacy of flupirtine on cognitive function in patients with CJD: A double-blind study. *Neurology*. 2004 Mar 9;62(5):714-8.
32. Geschwind MD, Kuo AL, Wong KS, Haman A, Devereux G, Raudabaugh BJ, Johnson DY, et al. Quinacrine treatment trial for sporadic Creutzfeldt-Jakob disease. *Neurology*. 2013 Dec 3;81(23):2015-23.
33. Jeong B-H, et al. Genetic Studies in Human Prion Diseases. *J Korean Med Sci* 2014; 29: 623-632
34. Krasnianski A, Heinemann U, Ponto C, Kortt J, et al. Clinical findings and diagnosis in genetic prion diseases in Germany. *Eur J Epidemiol*. 2015.
35. Eigenbrod S, Frick P, Giese A, Schelzke G, Zerr I, Kretzschmar HA. Comprehensive neuropathologic analysis of genetic prion disease

- associated with the E196K mutation in PRNP reveals phenotypic heterogeneity. *Neuropathol Exp Neurol*. 2011 Mar;70(3):192-200.
36. Pocchiari M, Pileggi A, Puopolo M, D'Alessandro M, Tiple D, Ladogana A. Age at Death of Creutzfeldt-Jakob disease in subsequent family generation carrying the E200K mutation of the prion protein gene. *PLoS One*. 2013;8(4):e60376.
  37. Panegyres MK, Goh J, Goldblatt J. Codon 200 mutation of the prion gene: genotype–phenotype correlations *J Neurol* (2012) 259:2579–2584
  38. Kovács GG, Trabattoni G, Hainfellner JA, Ironside JW, Knight RSG, Budka H. Mutations of the Prion Protein Gene. *J Neurol* (2002) 249 : 1567–1582
  39. Spudich S, Mastrianni JA, Wrensch M, Gabizon R, Meiner Z, et al. Complete Penetrance of Creutzfeldt-Jakob Disease in Libyan Jews Carrying the E200K Mutation in the Prion Protein Gene. *Molecular Medicine*, Volume 1, Number 6, September 1995

## 11. Anexos

### ANEXO 1 CARTA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO

México, Ciudad de México a \_\_\_\_\_ de \_\_\_\_\_ de 20\_\_\_\_\_

A quien corresponda:

Por medio de la presente hago de su conocimiento que he dado mi consentimiento de forma libre, voluntaria y sin presiones para participar en el proyecto de investigación “ANÁLISIS MOLECULAR DE ENFERMEDADES NEURODEGENERATIVAS Y NEUROMUSCULARES EN POBLACIÓN MEXICANA”, a cargo de la Dra. María del Refugio Rivera Vega.

Acepto en forma voluntaria que me sean practicados los estudios de mi material hereditario (ADN) necesarios para tratar de diagnosticar mi enfermedad, prevenir posibles complicaciones o identificar si existe posibilidad de que otra persona pueda estar afectada en nuestra familia. Se me ha informado adecuadamente de las características del estudio que requerirá de la toma de 3 ml de sangre mediante punción venosa. Esta punción podría ocasionar molestias mínimas como la formación de un pequeño hematoma. Se me ha asegurado también que el ADN que se obtenga no será usado para otro fin que no sea el de investigar la causa de la enfermedad y la información obtenida será confidencial.

Es también de nuestro conocimiento que puedo solicitar información adicional acerca de los riesgos y beneficios de mi participación y que estoy en libertad de negarme a participar en el estudio, sin que esto modifique la calidad de atención médica que reciba en la institución.

NOMBRE DEL PACIENTE:

FIRMA DEL PACIENTE, PADRE O TUTOR:

MEDICO SOLICITANTE:

FIRMA: