



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE  
MÉXICO**

**FACULTAD DE MEDICINA**

**INSTITUTO NACIONAL DE CIENCIAS MÉDICAS Y  
NUTRICIÓN "SALVADOR ZUBIRÁN"**

**"CARACTERIZACIÓN DE MUTACIONES EN EL GEN  
PANK2 EN LA NEURODEGENERACIÓN ASOCIADA A  
DEFICIENCIA DE PANTOTENATO CINASA"**

**TÉSIS**

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE ESPECIALISTA EN:

**GENÉTICA MÉDICA**

PRESENTA:

DRA. EDITH ADRIANA PÉREZ GONZÁLEZ

TUTOR: DR. OSVALDO M. MUTCHINICK B.

CO-TUTORA: DRA. JAZMÍN ARTEAGA VÁZQUEZ

MÉXICO, D.F., AGOSTO 2013



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**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 Dios**, por su guía y luz en todo momento

**A mis padres y hermano**, por su apoyo incondicional durante toda mi vida, por que sin ustedes no sería lo que soy, ni estaría donde estoy.

**A Lucio, Ludri y Sofí**, por toda su paciencia durante este camino, por ser mi fortaleza y fuente inagotable de inspiración.

**Al Dr. Osvaldo Mutchinick**, mi tutor, maestro y guía en esta etapa de mi vida, gracias por toda la confianza depositada en mi

**A la Dra Jazmín**, por su guía, por su apoyo constante, por todo su tiempo invertido en cada clase y proyecto compartido.

**A mis amigos**, por sus palabras de aliento, por sus porras y ánimos que me alentaban a ser mejor cada día.

**Al Dr. Juan Carlos Zenteno, Dr. Oscar Chacón, Dr. Hugo Morales**, por todo el tiempo y trabajo dedicado para que se llevara a cabo este proyecto, en el que ahora se ve reflejado todo su empeño y entrega.

## ÍNDICE

<b>INTRODUCCIÓN</b> .....	3
Neurodegeneración con acúmulo cerebral de hierro.....	3
Neurodegeneración asociada a deficiencia de pantotenato cinasa.....	4
Historia.....	5
Clínica.....	5
Forma Clásica.....	6
Forma Atípica.....	7
Resonancia Magnética Cerebral.....	10
Neuropatología.....	12
Gen <i>PANK2</i> .....	13
Mutaciones en el gen <i>PANK2</i> .....	16
Tratamiento.....	18
Médico.....	18
Quirúrgico.....	18
Síndrome de HARP.....	19
Diagnósticos diferenciales.....	19
<b>JUSTIFICACIÓN</b> .....	23
<b>OBJETIVOS</b> .....	24
Objetivo general.....	24
Objetivos específicos.....	24
<b>MATERIAL Y MÉTODOS</b> .....	25
Diseño del estudio.....	25
Selección de la muestra.....	27
Variables estudiadas.....	27
<b>RESULTADOS</b> .....	28
Manifestaciones clínicas.....	28
Resonancias Magnéticas cerebrales.....	30
Análisis Genealógico y molecular.....	31
Localización proteica de las mutaciones.....	36
Origen geográfico de las familias estudiadas.....	37
<b>DISCUSIÓN</b> .....	38
<b>CONCLUSIONES</b> .....	43
<b>REFERENCIAS</b> .....	44

# INTRODUCCIÓN

---

## NEURODEGENERACIÓN CON ACÚMULO CEREBRAL DE HIERRO

La neurodegeneración con acúmulo cerebral de hierro (NACH) comprende un amplio grupo de enfermedades neurodegenerativas, genéticamente heterogéneas, caracterizadas por la acumulación progresiva de hierro en los ganglios basales (más a menudo en el globo pálido y sustancia negra) y en el núcleo dentado del cerebelo. Frecuentemente se observa además atrofia cerebral generalizada y cerebelosa. Las manifestaciones clínicas de esta entidad son distonía progresiva, disartria, espasticidad, parkinsonismo, degeneración retiniana y atrofia óptica; la presentación clínica varía fenotípicamente desde datos de neurodegeneración de inicio temprano y mortalidad prematura hasta la presentación de parkinsonismo-distonía en la edad adulta <sup>1</sup>.

Existen nueve genes reconocidos asociados a NACH. Se atribuye el 40% de la NACH, a la neurodegeneración asociada (NDA) a deficiencia de pantotenato cinasa 2, por mutaciones en el gen *PANK2* (pantotenato cinasa 2), el 20% a la neurodegeneración asociada a *PLA2G6*, por mutaciones en el gen *PLA2G6* (fosfolipasa A2 del grupo 6), el 8% a la neurodegeneración asociada a proteína de membrana mitocondrial (NDA proteína MM)g, por mutaciones en el gen *C19orf12* (marco de lectura abierto 12 del cromosoma 19), el 2% a la neurodegeneración asociada a hélice beta, por mutaciones en el gen *WDR45* (dominio de repetición WD 45), y el 30% restante engloba entidades poco frecuentes como la aceruplasminemia, neuroferritinopatía, síndrome de Kufor-Rakeb, neurodegeneración asociada a hidroxilasa de ácidos grasos 2 (*FA2H*), síndrome de Woodhouse-Sakati, y los casos idiopáticos en los que no se ha identificado etiología. La mayoría de estos trastornos tienen un modo de herencia autosómico recesivo (AR), a excepción de 2 entidades la neurodegeneración asociada a hélice beta, como modo de herencia ligado al cromosoma X (LX) y la neuroferritinopatía con modo de herencia autosómico dominante (AD). (*Figura1*)

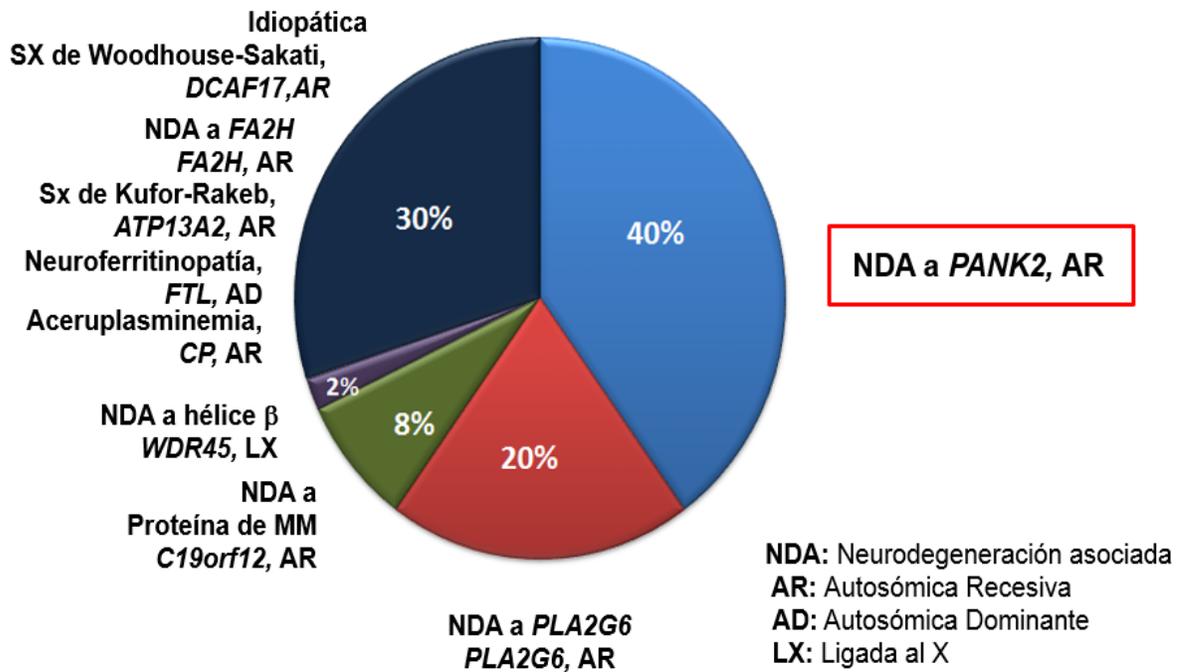


Figura 1. Gráfica de NACH

## NEURODEGENERACIÓN ASOCIADA A DEFICIENCIA DE PANTOTENATO CINASA

Anteriormente conocida como enfermedad de Hallervorden-Spatz, OMIM# 234200, la neurodegeneración asociada a deficiencia de la enzima pantotenato cinasa, PKAN por sus siglas en inglés, es una afección autosómica recesiva. Esta patología se ha observado en todas las razas y tiene una frecuencia similar en ambos sexos, su prevalencia estimada es de aproximadamente 1 a 3 por millón, con una frecuencia del heterocigoto de 1/275 a 1/500, en la población general. Es la forma más frecuente de neurodegeneración con acúmulo cerebral de hierro (NACH), caracterizándose por alteraciones del movimiento (disonía, rigidez y coreoatetosis), disartria, deterioro cognitivo y retinitis pigmentosa, así como degeneración por acúmulo de hierro en el globo pálido y la sustancia negra y niveles normales de este metal en sangre y líquido cefalorraquídeo <sup>1-3</sup>. En 2001 Zhou et al, demostraron que la PKAN era causada por mutaciones en el gen *PANK2* (pantotenato cinasa 2), localizado en el locus 20p13.2 <sup>4</sup>, aproximadamente un 15% de los casos son esporádicos.

## Historia

La enfermedad fue descrita en 1922, por los neuropatólogos alemanes Julius Hallervorden y Hugo Spatz, en cinco hermanos que presentaban distonía, coreoatetosis, espasticidad y demencia precoz<sup>2</sup>. Dichos médicos fueron desacreditados posteriormente por su participación en crímenes de guerra nazi; la evidencia disponible indica que ambos aprobaron los programas de eutanasia masiva de sujetos "defectuosos" física y mentalmente en los centros de concentración bajo el poder de Adolfo Hitler, aceptando cerebros para su estudio. Por lo anterior el síndrome de Hallervorden-Spatz fue renombrado, después de la identificación del gen responsable, con el nombre de neurodegeneración asociada a deficiencia de pantotenato cinasa 2<sup>3</sup>.

## Clínica

Existen dos formas clínicas de esta enfermedad, basadas en la edad de inicio y la progresión de la enfermedad: una forma clásica y una atípica. (Tabla 1).

**Tabla 1. Características clínicas del fenotipo clásico y atípico**

Características	Clásica	Atípica
Edad de inicio	1° década (3.4 años)	2° o 3° década (13.6 años)
Síntoma inicial	Alteraciones de la marcha	Alteraciones del lenguaje
Progresión	Rápida	Lenta
Pérdida de la deambulaci3n	10-15 a1os del inicio	15 a 40 a1os del inicio
Retraso psicomotor	++	-
Deterioro cognitivo	++	+
Trastornos psiquiátricos	+	+++
Alteraciones del lenguaje	++	+++
Convulsiones	+	-
Retinopatía pigmentaria	70%	30%
Movs. oculares anormales	++	+
Atrofia óptica	+/-	-
Distonía	+++	++
Afecci3n tracto corticoespinal	+++	++
Tics Motores y verbales	+	+++

## ***Forma Clásica***

Dos tercios de los pacientes con PKAN tienen un fenotipo clásico, el cual se caracteriza por ser rápidamente progresivo, de aparición temprana, por manifestaciones principalmente extrapiramidales (rigidez, distonía y coreoatetosis) así como disartria. Los síntomas se inician en la primera década de la vida, alrededor de los 3 a 4 años, la mayoría de los casos (90%) antes de los 6 años, pero hay una gran variabilidad en la edad de presentación (con un intervalo de 6 meses a 12 años) <sup>5-7</sup>.

Los niños afectados son a menudo considerados como dispráxicos o "torpes" antes de que se haga evidente la afección neurológica <sup>6</sup>. La mayoría inicia con problemas en la marcha o la postura, secundarios a la distonía; algunos niños tienen retraso en el desarrollo, principalmente motor, aunque puede ser un retraso global. Un estudio en 16 niños y adultos con PKAN mostró un coeficiente intelectual muy variable, el cual iba desde muy por debajo de la media hasta medio alto. La edad de comienzo tuvo una correlación inversa con la discapacidad intelectual (mayor deterioro cognitivo en el inicio más temprano) <sup>8</sup>. Sin embargo, un análisis reciente de la función cognitiva en una serie de 7 niños con diagnóstico confirmado de PKAN *clásico*, tratados con estimulación cerebral profunda sugiere que el declive cognitivo podría ser sobrestimado por las dificultades para acceder a la información debido a la gravedad de sus deficiencias motoras <sup>9</sup>. Otra característica observada es el trastorno de hiperactividad con déficit de atención (TDAH), el cual se diagnostica generalmente antes del reconocimiento del síndrome como enfermedad de base <sup>8,9</sup>.

Los síntomas extrapiramidales predominan en el curso de la enfermedad. De éstos, la distonía es la manifestación extrapiramidal más frecuente (87% de los casos) y de aparición temprana. La distonía craneal y de las extremidades es la más común, pudiendo provocar daño recurrente de la lengua y fracturas no traumáticas de huesos largos, respectivamente. Algunos signos del tracto corticoespinal también son comunes e incluyen espasticidad, hiperreflexia y respuesta plantar extensora positiva. Las convulsiones, y el parkinsonismo son raros <sup>7</sup>.

La mayoría de los pacientes (75%) presentan retinitis pigmentosa <sup>3</sup> y pueden desarrollar cataratas como complicación de la misma. La degeneración retiniana tiene un curso clínico típico caracterizado por nictalopía (ceguera nocturna) seguida por la pérdida progresiva de la visión periférica. La evaluación con electro-retinograma con frecuencia detecta cambios retinianos en etapas asintomáticas <sup>5-7</sup>. Otras alteraciones en los pacientes con PKAN se observan en los estudios de motilidad ocular, en donde se muestran hipometría (producción de movimientos de amplitud disminuida) y alteración de los movimientos sacádicos. Un estudio realizado en 10 pacientes con

PKAN mostró que ocho tuvieron reacciones pupilares lentas con parálisis bilateral de una región del iris y pérdida irregular del borde pupilar, similares a la pupila de Adie (desorden neurológico del sistema nervioso autónomo) <sup>10</sup>.

La historia natural de la PKAN clásica se caracteriza por períodos de estabilidad clínica que duran meses o incluso años, intercalados con períodos de rápido deterioro neurológico, en los que existe una mayor gravedad de los síntomas tanto extrapiramidales como del tracto corticoespinal; dicho periodo de exacerbación dura de uno a dos meses. La infección u otras causas de estrés catabólico no parecen precipitar estos períodos de declive. La mayoría de las personas (85%) se convierten en no ambulantes dentro de los 10 a 15 años del inicio de la enfermedad<sup>3,7</sup>. Las complicaciones en etapas posteriores incluyen disfagia, reflujo gastroesofágico y estreñimiento, por lo que los pacientes normalmente no sobreviven más allá de los 20 años después del inicio de los síntomas. La muerte suele ser secundaria a complicaciones cardiorrespiratorias, a los efectos nocivos secundarios de la desnutrición y en raras ocasiones por estado distónico permanente <sup>5,6,11</sup>.

### ***Forma Atípica***

La PKAN atípica representa alrededor del 25% de los casos, no se presenta sino hasta la segunda o tercera década de la vida, con una edad media de 14 años<sup>3,7</sup>. Las características clínicas son más variadas que las que se observan en la enfermedad de aparición temprana, con progresión más lenta que la del tipo clásico.

Los primeros síntomas incluyen trastornos de la marcha, defectos del habla como palilalia, taquilalia o disartria. Casi un tercio de los casos manifiestan problemas psiquiátricos del tipo inestabilidad emocional, cambios de personalidad, agresividad, impulsividad, trastorno obsesivo-compulsivo, depresión, y en algunos pacientes demencia frontotemporal desde el inicio de la enfermedad. El deterioro cognitivo puede, incluso, ser el síntoma de presentación en los casos atípicos de aparición tardía. Han sido también descritos en estos pacientes los tics motores y vocales sugerentes de síndrome de Tourette <sup>3,5,6,11</sup>.

La mayoría de los pacientes con PKAN atípico desarrollan con el tiempo un fenotipo extrapiramidal, siendo la distonía menos grave que la observada en la forma clásica <sup>3</sup>. Los individuos con PKAN atípico rara vez tienen evidencia de un trastorno del movimiento como presentación inicial, aunque hay pacientes reportados que iniciaron con acinesia pura del adulto <sup>12</sup>, parkinsonismo de inicio temprano <sup>4</sup>, distonía focal de la

mano y distonía intermitente grave<sup>4</sup>. En este grupo de pacientes también se han observado frecuentemente signos del tracto corticoespinal y congelación de la marcha (periodos transitorios en los cuales la actividad voluntaria que se está realizando es interrumpida).<sup>3</sup>

La retinitis pigmentosa también se presenta en la forma atípica, aunque es menos frecuente que en la forma clásica de la enfermedad. La PKAN atípica es menos agresiva que la forma clásica, con conservación de la marcha aún en la edad adulta; cuando hay pérdida de la marcha, ésta ocurre en los 15 a 40 años del inicio <sup>6</sup>.

El fenotipo clínico de los pacientes con mutaciones en el gen *PANK2* es heterogéneo y de expresividad variable. Con el propósito de definir este aspecto del síndrome se realizó una búsqueda intencionada de todos los casos reportados en pubmed, introduciendo como palabras clave: "*PANK2* human mutation". Se revisaron cada uno de los artículos disponibles, eliminándose aquellos casos que no tenían edad de inicio de la sintomatología o en los cuales no estaba especificada de manera clara la presencia de la mutación en *PANK2*. Al finalizar la búsqueda se incluyeron 195 casos, de los cuales 106 se clasificaron con fenotipo clásico y 89 con fenotipo atípico; en estos 195 casos está incluida la serie de pacientes descrita por Hayflick et al <sup>3</sup>, de la cual se obtuvieron las frecuencias de los síntomas para el fenotipo clásico y atípico que hasta ahora se reconocen y que son citadas en diversas publicaciones. (*Tabla 2*). La información sobre la frecuencia de los síntomas con los cuales debutan ambos fenotipos, están basadas en 57 casos, 34 con fenotipo atípico y 23 con el clásico, debido a que no todos los reportes cuentan con dicha información.

**Tabla 2. Recopilación de características clínicas en casos reportados**

<b>Características</b>		<b>Clásico n=106</b>	<b>Atípico N=89</b>
		<b>%</b>	<b>%</b>
<b>Edad de inicio (años)</b>		4.47 (0.5-12)	23 (1-51)
<b>Síntoma inicial N=57</b>	<b>Alt. de la marcha</b>	60.86	14.23
	<b>RPM</b>	21.73	0
	<b>Distonía</b>	13.04	30.2
	<b>Retinitis pigmentosa</b>	4.34	6.25
	<b>Temblor</b>	0	34.72
	<b>Alt. del lenguaje</b>	0	11.8
	<b>Alt. Psiquiátrica</b>	0	2.77
<b>Distonía</b>		78.5	72
<b>Parkinsonismo</b>		12.5	21.19
<b>Temblor</b>		0	25.3
<b>Corea</b>		15	29.22
<b>Alt. piramidal</b>		22.5	20.44
<b>Alt. de la marcha</b>		74	39.63
<b>Pérdida de la deambulación</b>		61.5	27.67
<b>Tics</b>		2.5	0
<b>Alt. del lenguaje</b>		47.5	45.13
<b>Convulsiones</b>		12.5	0
<b>Retraso psicomotor y mental</b>		47	18.86
<b>Alt. psiquiátricas</b>		10	19.48
<b>Retinitis pigmentosa</b>		60.25	10.21
<b>Atrofia óptica</b>		5.25	0
<b>Alt. en mov. oculares</b>		15	4.25
<b>Disfagia</b>		15	13.2
<b>Acantocitos</b>		12.75	8.45
<b>RM Ojo de tigre</b>		100	93.61

Las alteraciones neurooftalmológicas como son la formación de espículas, la atenuación de vasos retinianos y depósitos globulares de color amarillo-blancos se han correlacionado histopatológicamente con la degeneración de los fotorreceptores, con un marcado adelgazamiento de la capa exterior de la retina, acumulación de melanina y lipofusina, el acúmulo de esta última ocurre por el aumento en la peroxidación lipídica <sup>1</sup>. De acuerdo con estas observaciones, las anomalías

electrorretinográficas van desde una leve disfunción de conos hasta una grave disfunción de conos y bastones <sup>10,13-20</sup>. (Figura 2)



Figura 2. Paciente con PKAN: fondo de ojo con retinitis pigmentosa

Los síntomas psiquiátricos que acompañan al trastorno, como sucede en otras enfermedades neurodegenerativas, tienen una correlación con la afección de los ganglios basales por varias razones <sup>21-28</sup>, la principal se debe por las interconexiones recíprocas entre los lóbulos frontales, ganglios basales y cerebelo<sup>29,30</sup>.

## **Resonancia Magnética Cerebral**

La correlación entre la RM y los hallazgos neuropatológicos se describió por primera vez en 1983 <sup>16</sup>. La acumulación de hierro cerebral es radiológicamente identificable, siendo la RM cerebral una herramienta de diagnóstico importante y un procedimiento esencial para el diagnóstico de los trastornos de NACH <sup>5</sup>, pudiendo también contribuir a distinguir las diferentes formas de NACH <sup>31</sup>.

El depósito de hierro aparece como una imagen de reducción en la intensidad de la señal (hipointensidad) en T2, secuencias FLAIR y SWAN en el globo pálido y la sustancia negra <sup>31</sup>. El hierro cerebral también aparece como reducción de la densidad en la tomografía computarizada (CT).

El característico signo de "ojo de tigre" en la RM en T2, corresponde a una señal hiperintensa central rodeada por un borde de hipointensidad en el globo pálido. El punto

brillante en la parte anterior/medial del globo pálido representa un daño agudo del tejido neuronal representado por la acumulación de edema en un inicio y gliosis (proliferación de astrocitos en regiones lesionadas del sistema nervioso central) en etapas posteriores; mientras que la señal hipointensa en el tejido circundante se debe al hierro extracelular acumulado. Esta acumulación está relacionada con la deficiencia de la enzima pantotenato cinasa mitocondrial, lo cual conduce a la acumulación de N-pantotenoilcisteína y N-pantoteína que inducen daño celular debido a peroxidación de lípidos por la producción de radicales libres <sup>31-38</sup>. Además la cisteína que se unió al hierro y forma un complejo (hierro-cisteína) que sufre auto-oxidación. Estos procesos son responsables tanto del acúmulo de hierro como de la destrucción de las membranas celulares <sup>31-41</sup> (Figura 3)

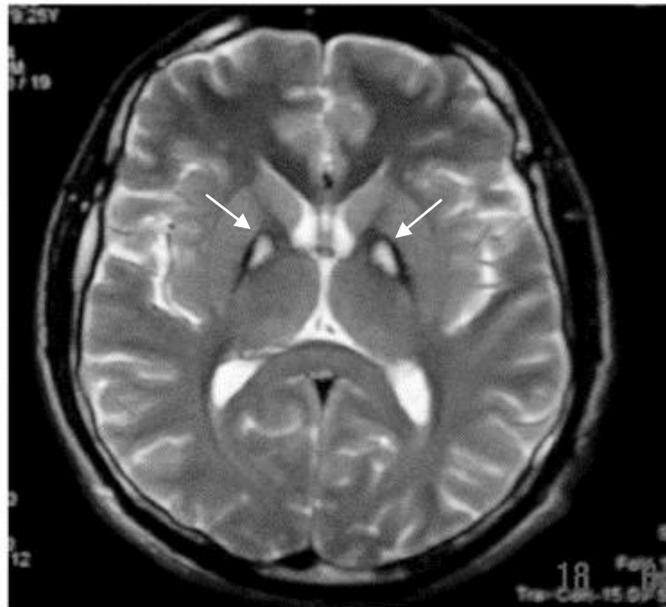


Figura 3. RM cerebral de paciente con PKAN en donde se observa la imagen característica de “ojo de tigre” (señalada por flechas).

Hay al menos 7 casos reportados con mutación positiva en *PANK2* y ausencia del signo del “ojo de tigre” <sup>36,37</sup>. Existen otros 2 artículos en los que se afirma que el signo estaba ausente pero una exploración posterior mostró una hiperintensidad central, rodeada de una ligera hipointensidad en el globo pálido (Hayflick y Westaway <sup>34</sup>, Zolkipli et al. <sup>36</sup>). Otros dos casos presentaban el signo inicialmente y este desapareció con el tiempo <sup>37</sup>, dicho fenómeno podría explicarse por una acumulación secundaria de los

depósitos de hierro que oscurecen la hiperintensidad central del globo pálido. De acuerdo con la literatura, el “ojo de tigre” puede no ser completamente visible en las etapas posteriores de la enfermedad, sin indicar necesariamente un curso devastador <sup>42-45</sup>.

La especificidad de este signo neurorradiológico ha sido puesta en duda <sup>5,46</sup>, documentándose la presencia del “ojo de tigre” en otras enfermedades neurodegenerativas como la degeneración ganglionar cortico-basal <sup>47</sup>, la atrofia multisistémica <sup>48</sup>, la neuroferritinopatía <sup>48,31</sup> y la parálisis supranuclear progresiva <sup>49</sup>.

Aunque la mayoría de los individuos con mutaciones en *PANK2* tiene este signo radiológico <sup>3</sup>, ciertamente no es patognomónico de PKAN <sup>36,50</sup>. Si bien es útil para el diagnóstico, debe ser interpretado correctamente en el contexto clínico <sup>51</sup>.

## **Neuropatología**

Los análisis morfológicos e histoquímicos de tejidos cerebrales de pacientes con PKAN muestran degeneración, caracterizada por pérdida neuronal y pigmentación marrón asociada al exceso de hierro, en mayor grado, se afectan el globo pálido y la sustancia negra, y en menor medida, las estructuras adyacentes como el putamen, la cápsula interna y la materia blanca subcortical <sup>51</sup>. El hierro se deposita en el citoplasma de las neuronas, la glia y los macrófagos, sobre todo en las células localizadas perivascularmente. Además se puede observar un aumento de forma difusa en el neurópilo del globo pálido, siendo notable esta especificidad, a pesar de la expresión ubicua de la pantotenato cinasa 2 y la función metabólica central de la coenzima A (*Figura 4*). Los macrófagos cargados con hierro son predominantes en todos los casos, lo que sugiere un intento de eliminar el hierro del parénquima cerebral <sup>52</sup>.

Otro hallazgo es la presencia de esferoides neuroaxonales, que representan una forma no específica de la degeneración axonal. A pesar del grado de neurodegeneración que está presente, hay muy poca respuesta inflamatoria además de los infiltrados de macrófagos que contienen hierro; tanto la astrogliosis como la activación microglial están limitadas <sup>52</sup>.

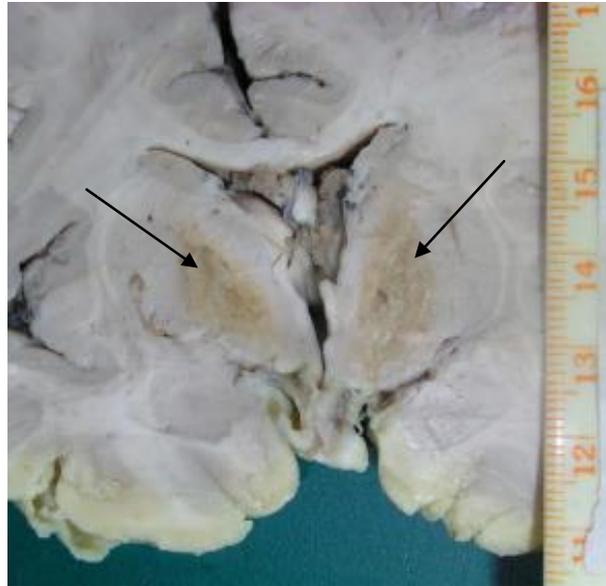


Figura 4. Autopsia cerebral de paciente con PKAN, en la que se observa de color marrón los ganglios basales (señalados con flechas) lo cual corresponde al acúmulo de hierro

### **Gen *PANK2***

En los seres humanos hay tres genes que expresan cuatro isoformas de PANK catalíticamente activas: PANK1 $\alpha$ , PANK1 $\beta$ , PANK2 y PANK3. PANK1 $\alpha$  y PANK1 $\beta$  surgen a partir del gen *PANK1* por corte y empalme alternativo <sup>53</sup>. El gen *PANK2* codifica una proteína de localización mitocondrial <sup>54,55</sup> y *PANK3*, que codifica una sola isoforma citosólica. Todas estas isoformas de PANK comparten un núcleo catalítico común altamente homólogo que está compuesto por 355 aminoácidos (83% del total). PANK1 $\beta$  y PANK3 consisten en un solo núcleo catalítico, mientras que PANK1 $\alpha$  y PANK2 tienen además un dominio regulador <sup>54</sup>. El dominio NH<sub>2</sub>-terminal de PANK2 incluye una señal de orientación mitocondrial, que se elimina de forma proteolítica concomitantemente con su localización en la mitocondria <sup>55-58</sup>. Un cuarto gen, *PANK4*, codifica una proteína con secuencia similar a las otras PANKs, pero que carece del residuo de glutamato, esencial para la actividad catalítica de la enzima, y que tiene un largo extremo carboxilo-terminal de función desconocida <sup>55</sup>. Una característica común de todas las proteínas PANK es que son inhibidas por tio-ésteres de coenzima A (CoA), sin embargo, las isoformas se distinguen por sus sensibilidades individuales a éstos.

La PKAN es un error innato del metabolismo de la vitamina B5, también conocida como pantotenato, micronutriente requerido para la producción de la coenzima A en las células. La vitamina B5 está presente en una variedad de fuentes de la dieta, incluyendo granos enteros y carne, se procesa en el intestino donde es absorbida por

las células endoteliales a través de un transportador multivitamínico dependiente de sodio, que luego pasa a la sangre para su entrega al resto del cuerpo <sup>59,60</sup>. A nivel celular, el pantotenato es fosforilado por la enzima pantotenato cinasa, la primera etapa reguladora en la síntesis de la CoA, conjugándose después con cisteína; posteriormente se descarboxila y se conjuga con un grupo adenosil, fosforilándose de nuevo para convertirse en coenzima A, por lo que la CoA se deriva de la vitamina B5 (pantotenato), cisteína y ATP <sup>61,62</sup>. El paso limitante clave en esta vía es la velocidad de la fosforilación de pantotenato por la enzima pantotenato cinasa 2. <sup>62,63</sup>.

La coenzima A es un cofactor esencial que interviene en una multitud de reacciones metabólicas oxidativas y sintéticas, incluyendo las implicados en el ciclo del ácido tricarbóxico, en la síntesis de esteroides, ácidos biliares, ácidos grasos, del grupo hemo, aminoácidos, la oxidación de ácidos grasos y la lipólisis, entre otros procesos. La actividad de pantotenato cinasa 2 está regulada negativamente por la palmitoil-CoA y la acetil-CoA, y estimulada por palmitoilcarnitina <sup>64,65</sup> (Figura 5).

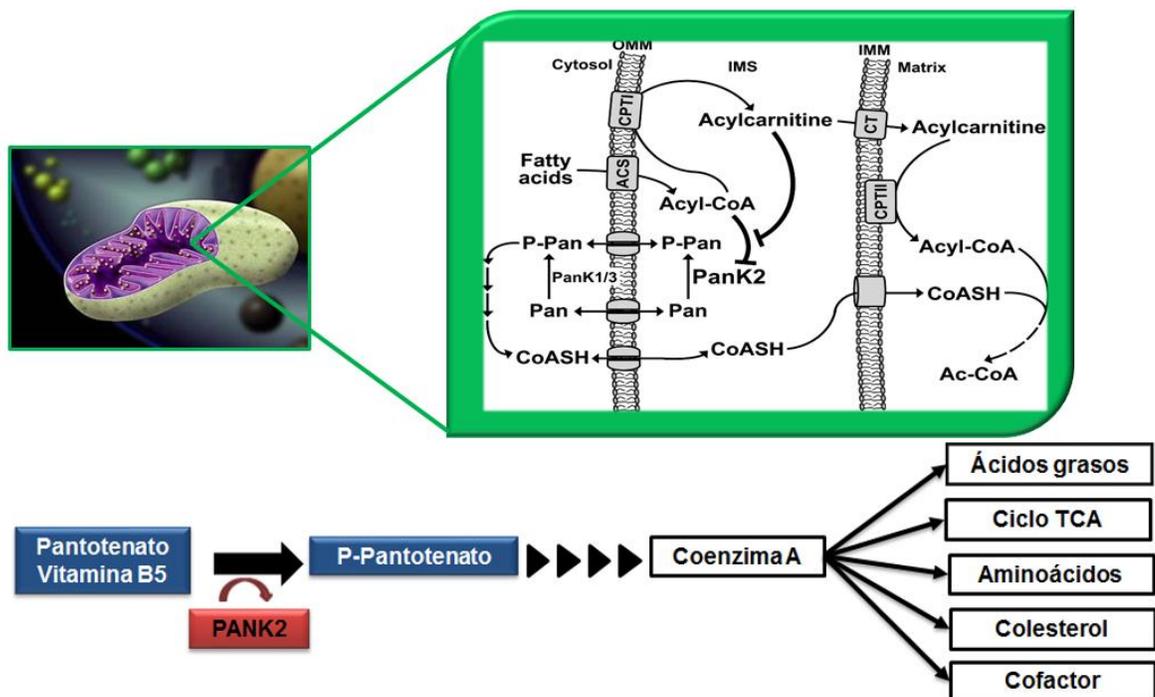


Figura 5. Localización de PANK2 y función en la biosíntesis de la CoA

La PANK2 humana se distribuye tanto en el núcleo como en las mitocondrias<sup>56,58</sup>, sin conocerse la localización precisa dentro del compartimento mitocondrial, aunque se ha propuesto que PANK2 pueden estar situada en el espacio intermembranal para la interacción con la cadena larga de acil-carnitinas en su sitio de síntesis y posteriormente permitir la salida del producto fosforilado (fosfopantotenato) al citosol, donde se encuentran el resto de las enzimas de la biosíntesis de la CoA <sup>66-68</sup>. La PANK2 se encuentra tanto en la mitocondria como en el núcleo durante todo el ciclo celular, con la excepción de la fase G2/M cuando PANK2 se limita exclusivamente a la mitocondria. La enzima PANK2 se trasloca desde el núcleo a la mitocondria debido a la secuencia amino-terminal de 29 aminoácidos que le sirve de señalización. Dicha señal está presente en la proteína de localización nuclear pero no en la proteína mitocondrial, debido a una escisión proteolítica en el residuo 141<sup>55,69</sup> durante su entrada por dicho organelo, dando lugar a una proteína de aproximadamente 48 kDa<sup>56</sup>. La PANK2 madura es una proteína soluble, sus residuos 211-570 se encuentran en el núcleo catalítico y de éstos, el segmento que comprende del residuo 517-525 VVFGNFLR es altamente conservado y es esencial para la actividad de PANK2<sup>57, 64</sup>. (Figura 6)

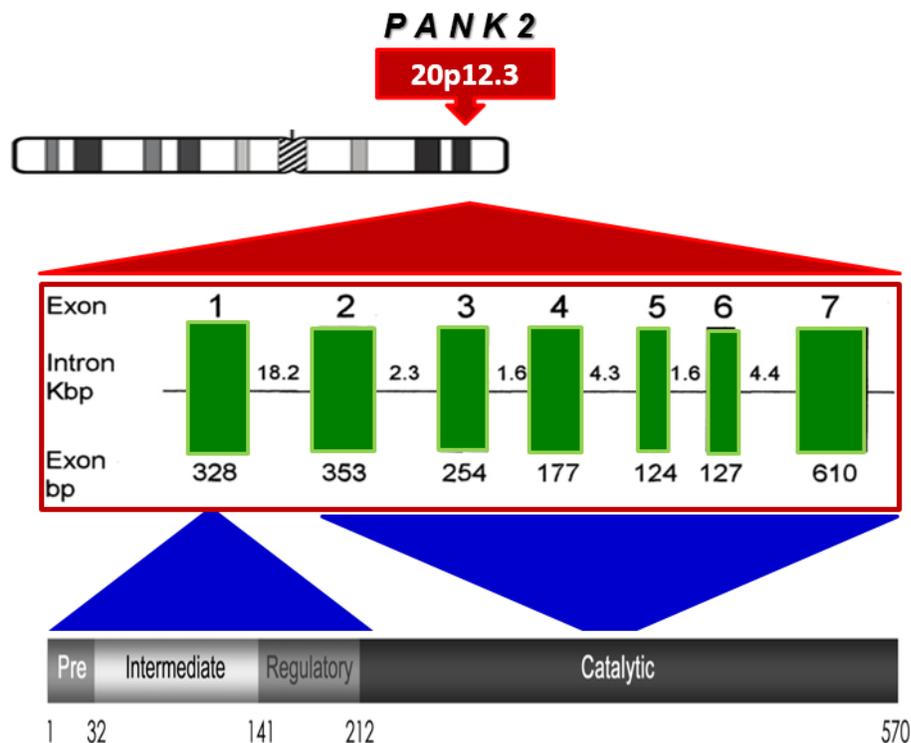


Figura 6. Gen y proteína PANK2

La localización de PANK2 en el núcleo plantea la interesante cuestión de si las mutaciones asociadas con la enfermedad de PKAN pueden afectar la función nuclear en lugar de, o además de, su papel propuesto en la homeostasis de la CoA mitocondrial <sup>65</sup>. Recientemente, se ha planteado la hipótesis de que la disminución de la CoA tiene un efecto perjudicial sobre la acetilación de histonas y tubulina, lo que contribuye al fenotipo neurológico de la PKAN <sup>64</sup>.

El vínculo entre PANK2 y el metabolismo de hierro es en gran medida un enigma. La enzima PANK2 no se espera que utilice el hierro como un cofactor, ni el hierro parece estar involucrado en las otras etapas de la ruta de biosíntesis de la CoA. Sin embargo, una deficiencia de PANK2 puede causar acumulación de cisteína y la cisteína puede actuar como un ligando de hierro, provocando la acumulación del mismo <sup>70</sup>. Alternativamente, un efecto negativo sobre la síntesis de la membrana causada por una deficiencia de CoA puede conducir indirectamente a alteraciones en la homeostasis del hierro y/o al estrés oxidativo <sup>32</sup>; aunque aún no está claro como los defectos en el metabolismo de lípidos podrían causar la acumulación de hierro en el cerebro. La evidencia reciente ha sugerido que la desregulación de ferroportina, el exportador celular de hierro unido a la membrana, está relacionada con una deficiencia de PANK2 al menos en algunos tipos de células <sup>71</sup>. El estrés oxidativo está asociado con la disfunción de las mitocondrias y del retículo endoplásmico, provocando inducción de la apoptosis y un mal plegamiento proteico en las neuronas. El daño inducido por la regulación deficiente de hierro puede conducir, o al menos contribuir, a la neurodegeneración, en particular, en las neuronas dopaminérgicas de los ganglios basales. Estas células son conocidas por tener la cantidad más alta de hierro en el interior del sistema nervioso central y es un sitio de acúmulo de hierro durante el envejecimiento natural <sup>71,73</sup>.

### ***Mutaciones en el gen PANK2***

Se han identificado mutaciones en los siete exones del gen *PANK2* <sup>3,7,11</sup>. A nivel mundial, la transición 1561G>A, una mutación en sentido erróneo, es la causa más común (25%) y los homocigotos para esta mutación tienen un cuadro clásico<sup>7</sup>. Las otras mutaciones más comúnmente identificadas son 1583C>T y 1351C> T. Existen múltiples mutaciones que son específicas y "privadas" para cada familia. Hasta la fecha, se han registrado más de 130 mutaciones (HGMD ® Professional). La mayoría de las cuales son mutaciones en sentido erróneo y sin sentido, el 27% son pequeñas y grandes inserciones/delecciones, y el 1% son mutaciones en los sitios de corte y empalme. Alrededor de dos tercios de los pacientes son heterocigotos compuestos para mutaciones nulas (aquellas que producen una proteína truncada, con pérdida de la función enzimática) de sentido erróneo, en estos casos el curso de la enfermedad suele ser atípico.

No se ha observado una clara correlación genotipo-fenotipo, aunque en general se ha establecido que la cantidad de actividad enzimática residual de la pantotenato cinasa mutada influye sobre la gravedad de la enfermedad, observándose en los individuos homocigotos para mutaciones nulas (sin sentido y de cambio de marco de lectura) un inicio temprano, un cuadro más grave y una evolución de la enfermedad rápidamente progresiva<sup>7</sup>; mientras que los de inicio tardío son individuos con mutaciones que involucran sustituciones de aminoácidos, las cuales dejan una actividad enzimática residual <sup>3</sup>. De acuerdo con los modelos estructurales de proteína, las mutaciones de sentido erróneo que alteran un residuo sobre la superficie del péptido, mantienen la actividad enzimática de la proteína. Otras mutaciones dan lugar a proteínas truncadas que mantienen o reducen sólo parcialmente la actividad enzimática o desestabilizan y promueven la degradación proteica <sup>63</sup>. Por otro lado, existen mutaciones cuyos niveles de actividad enzimática de la pantotenato cinasa son aún más altos en comparación con los controles homocigotos silvestres, lo cual indica una heterogeneidad bioquímica y metabólica entre los pacientes PKAN que sugiere un mecanismo compensatorio, todavía desconocido, posiblemente ejercido por otras proteínas PANK<sup>73</sup>. Las mutaciones en ambos alelos de *PANK2* se identifican en aproximadamente 50% de los pacientes con características clínicas de PKAN y en más del 98% de los pacientes con características radiográficas de la enfermedad <sup>74</sup> (Tabla 3).

**Tabla 3. Correlación entre el tipo de mutación en PANK2 y la actividad enzimática.**

Mutación	Actividad enzimática %	Número de pacientes		Mutación	Actividad enzimática %	Número de pacientes	
		Inicio Temprano	Inicio Tardío			Inicio Temprano	Inicio Tardío
WT	100						
<b>Unión de ATP</b>				<b>Superficie</b>			
G219V	0.4		1	T234A	112		2
G521R	<0.2	24	7	R249P	ND	1	
<b>Dominio de Dimerización</b>				R264W	58	2	
L413P	ND	1		R278L	ND	1	
D447N	ND	1		R278C	ND		1
A469P	NO REPORTADA			R286C	176	2	2
S471N	16	3		E322G	ND	1	
N500I	3.9	2		E322D	ND		1
I497T	ND	1		T327I	91	2	
I501T	ND		1	S351P	78		2
A509V	105	2		N355S	ND		1
N511D	ND	1		N404I	83		3
<b>Interior</b>				C428Y	ND	1	
L282V	ND	1		T528M	146	3	7
A398T	ND	1		R532W	95	2	
L563P	<0.2	1		G555S	NO REPORTADA		

## **Tratamiento**

Actualmente no existe un tratamiento curativo para los trastornos de NACH, y las estrategias actuales se centran en la mejoría clínica y quirúrgica de los síntomas con el fin de mejorar la calidad de vida <sup>5</sup>. Para muchos, la intervención médica o quirúrgica puede brindar sólo un alivio sintomático temporal.

### ***Médico***

Requiere de especial atención el aparato digestivo para evitar el estreñimiento y reflujo gastroesofágico, que pudiera dar como complicación neumonía por aspiración, así como vigilar el mantenimiento de una nutrición adecuada y en casos necesarios colocar gastrostomía.

Se utilizan en el tratamiento de la espasticidad y/o distonía asientos apropiados, aparatos ortopédicos y férulas, así como tratamientos farmacológicos a base de trihexifenidilo y baclofeno (a menudo usados en combinación). Las respuestas son muy variables y cuando el baclofeno oral ya no es capaz de controlar adecuadamente el trastorno del movimiento, se puede considerar la colocación de una bomba de baclofeno intratecal. En general, las personas con PKAN no se benefician de L-dopa<sup>5</sup>. La toxina botulínica puede ser útil para muchos pacientes, especialmente aquellos con afección de una región del cuerpo limitada. Por ejemplo, las inyecciones en los músculos faciales u oromandibulares pueden mejorar en gran medida la capacidad del habla y la alimentación. El babeo excesivo suele tratarse con glicopirrolato o hioscina. Los medicamentos antiepilépticos pueden ser necesarios para el alivio sintomático de las crisis convulsivas.

Los beneficios de los agentes quelantes del hierro no han sido documentados <sup>5</sup>. Algunos pacientes presentan una actividad residual de la enzima, pero el beneficio en la mejoría de los síntomas con la suplementación de pantotenato todavía no se ha probado <sup>5</sup>.

### ***Quirúrgico***

La estimulación cerebral profunda del globo pálido es una técnica quirúrgica en la cual un dispositivo llamado neuroestimulador transmite diminutas señales eléctricas de alta frecuencia a las áreas del cerebro que controlan el movimiento, provocando la supresión o modulación de la actividad neuronal, por lo que resulta en una estrategia eficaz para NACH <sup>76-85</sup>. Esta estrategia puede mejorar la espasticidad y la distonía y reduce por lo tanto la discapacidad con un beneficio sostenido reportado de hasta 42 meses en algunos casos. Otro estudio retrospectivo multicéntrico refiere que la mejoría

media de la distonía después de la estimulación cerebral profunda fue del 25.7% (9 a 15 meses después de la operación), con un mayor beneficio en los individuos con mayor grado de distonía, mostrando una mejoría media de la calidad de vida del 83.3% a los 9 a 15 meses posteriores a la estimulación <sup>78</sup>. Mahoney et al.<sup>9</sup> también han demostrado recientemente la mejoría del rendimiento en las pruebas cognitivas en niños con PKAN después de la estimulación cerebral profunda. Los tratamientos quirúrgicos como la talamotomía y palidotomía se utilizan para aliviar los síntomas de quienes han tenido fallo con los medicamentos o la estimulación cerebral profunda.

## **Síndrome de HARP**

El síndrome de **HARP** (Hipoprebetalipoproteinemia, **A**cantocitosis, **R**etinitis pigmentosa, y degeneración **P**alidal) (OMIM# 607236) es ahora considerado parte del espectro de PKAN ya que es causado por mutaciones en el gen *PANK2*. Se han identificado mutaciones en 2 casos reportados no relacionados con mutación positiva para *PANK2*. El primer caso se reportó en una familia en el que el individuo afectado era homocigótico para una mutación no descrita que causó una proteína truncada. En el otro caso, el individuo afectado era un heterocigoto compuesto y una de las mutaciones encontradas, la c.1413-1G>T, también se ha reportado en individuos diagnosticados con PKAN <sup>86,87</sup>.

## **Diagnósticos diferenciales**

La PKAN puede distinguirse de otras formas de NACH por las siguientes características: en la mayoría de los individuos con NACH no PKAN el globo pálido es uniformemente hipointenso en T<sub>2</sub>, indicando un alto contenido de hierro, diferente al signo de “ojo de tigre” en el que además de una zona hipointensa existe una hiperintensidad central debida a edema y gliosis. La acumulación de hierro en el núcleo rojo y el núcleo dentado además de la atrofia cerebelosa, son datos comunes en el grupo de NACH, pero no en PKAN. Dentro de las NACH la que por RM cerebral podría causar confusión es la neurodegeneración asociada a proteína de membrana mitocondrial por mutaciones en el gen *C19orf12*, en la cual existe una hiperintensidad entre el globo pálido interno y externo que podría dar una imagen parecida al signo de “ojo de tigre”<sup>88</sup>, sin embargo, sólo se observa como una lámina que separa a la parte interna y externa. Un dato clínico que podría ser de apoyo es que las convulsiones suelen estar ausentes en PKAN, mientras que en otros tipos de NACH se presentan de forma frecuente. Otro hallazgo observable en médula ósea es la presencia del histiocito azul marino que recibe este nombre por el color que toman los histiocitos cuando se tiñen con el método de May-Grünwald-Giemsa o con el de Wright. Éste no se encuentra en PKAN pero a veces se observa en otras formas de NACH <sup>89</sup>.

Cuatro trastornos pueden mostrar cambios clínicos tempranos similares a los vistos en PKAN clásico:

1. **Discapacidad intelectual ligada al cromosoma X con malformación de Dandy-Walker.** A diferencia de PKAN, los niños afectados tienen discapacidad intelectual grave. Se descarta dicha patología si en la RM cerebral aparece la imagen de “ojo de tigre”<sup>89</sup>.
2. **Fucosidosis  $\alpha$ .** Los niños afectados tienen rasgos faciales toscos y visceromegalia concordante con una enfermedad de almacenamiento lisosomal. Aunque se ha documentado en algunos casos una señal hiperintensa del globo pálido por resonancia magnética en T<sub>2</sub>, no se ha observado la imagen de “ojo de tigre”<sup>90</sup>.
3. **Síndrome de Leigh.** Presenta una señal simétrica hiperintensa en el globo pálido en T<sub>2</sub> que puede parecerse al signo de “ojo de tigre”, pero carece de la hipointensidad circundante causada por la acumulación de hierro. Además, las hiperintensidades ocurren con frecuencia en otras regiones de los ganglios basales<sup>91</sup>.
4. **Distrofia neuroaxonal infantil.** Una porción de pacientes presentan una señal hipointensa en el globo pálido y sustancia negra pero la imagen característica de “ojo de tigre” está ausente. También es común observar atrofia cerebelosa. Los esferoides axonales están presentes en el sistema nervioso periférico y en PKAN sólo se encuentran en el sistema nervioso central<sup>89</sup>.

El diagnóstico diferencial para PKAN de inicio en adolescentes y adultos debe hacerse con los siguientes cuadros clínicos:

1. **Enfermedad de Parkinson de aparición temprana** incluyendo enfermedad de Parkinson juvenil y distonía-parkinsonismo asociado a *PLA2G6* que puede presentarse inicialmente semejante a PKAN, con una edad de presentación entre los años 20 y 40, distonía de la extremidad inferior, temblor y bradicinesia<sup>89</sup>.
2. **Síndrome de FAHR.** Los individuos afectados tienen depósitos anormales de calcio en los ganglios basales, incluyendo depósitos en el globo pálido que puede parecerse al signo de “ojo de tigre”. Además, tiene características comunes a PKAN como son parkinsonismo, disartria, distonía y espasticidad. Sin embargo, los depósitos de calcio se acumulan con el tiempo en la corteza cerebral, ayudando a distinguirlo de PKAN<sup>89</sup>.
3. **Aceruloplasminemia.** Los individuos afectados tienen acumulación de hierro en las vísceras y desarrollan diabetes mellitus relativamente temprana en la progresión de la enfermedad, también presentan degeneración retiniana<sup>89</sup>.

4. **Neuroferritinopatía** Típicamente presentan movimientos involuntarios en la cuarta a quinta década de la vida y no exhiben la disartria marcada observada en PKAN <sup>89</sup>.
5. **Síndrome de Richardson-Steele-Olzewski**. La edad promedio de aparición es de 66 años y otras características comunes incluyen parálisis de la mirada vertical, diplopía y fotofobia, que no son características de PKAN <sup>89</sup>.
6. **Enfermedades psiquiátricas primarias**. La presencia de impulsividad y otros cambios en el comportamiento sin disartria podría indicar una enfermedad psiquiátrica primaria <sup>89</sup>.

Para todos los trastornos en esta categoría, el diagnóstico de PKAN puede realizarse con RM cerebral en T<sub>2</sub> basada en la presencia del signo “de ojo de tigre”<sup>89</sup>. Otros trastornos a ser considerados, aunque menos probables debido a todo el contexto clínico que presentan son la ceroidolipofuscinosis neuronal, las ataxias hereditarias de inicio en la niñez, especialmente las SCA3 y SCA7, las distonías tipo DYT1, la enfermedad de Huntington juvenil, la corea-acantocitosis, el síndrome de Lesch-Nyhan, la enfermedad de Wilson, la paraplejia espástica hereditaria recesiva y el síndrome de Tourette <sup>92</sup>.

### **Síndromes con neuroacantocitosis**

Un grupo de entidades con neuroacantocitosis que están asociados con una mala absorción de lípidos y afectan principalmente a la médula espinal, cerebelo y sistema nervioso periférico. Las alteraciones neurológicas incluyen dismetría y disartria, una progresiva degeneración espinocerebelosa con ataxia de la marcha, una neuropatía periférica sensoriomotora y axonal desmielinizante con hiporreflexia y disminución de los sentidos de vibración y posición. Estas afecciones incluyen: la hipobetalipoproteinemia tipo 1 y 2, la abetalipoproteinemia (enfermedad de Bassen-Kornzweig), los cuales comparten hallazgos de acantocitosis, disartria, neuropatía y arreflexia, pero difieren en que no tiene implicación de los ganglios basales. Todos éstos son causados por mutaciones que afectan a la proteína de transporte de triglicéridos, en el caso de los 2 primeros trastornos, tanto en estados homocigoto como heterocigoto pueden presentar manifestaciones clínicas, mientras que la abetalipoproteinemia se hereda de forma autosómica recesiva <sup>93,94</sup>.

Un segundo grupo de síndromes con neuroacantocitosis son aquellos en los que predomina la afectación del sistema nervioso central, en particular los ganglios basales, dando por resultado un síndrome de corea que se asemeja a la enfermedad de Huntington. Estos trastornos incluyen el síndrome de neuroacantocitosis de McLeod, el cual es un trastorno multisistémico con manifestaciones del sistema nervioso, hematológico, neuromuscular y del SNC. Las manifestaciones neuromusculares

comprenden axonopatía sensorimotora leve o subclínica, miopatía y cardiomiopatía. Las manifestaciones del SNC se asemejan a la enfermedad de Huntington y consisten en movimientos coreatetósicos, déficits cognitivos, manifestaciones psiquiátricas y en algunos individuos, ataques epilépticos; el modo de herencia es ligado al X. Otra enfermedad a considerarse es la corea-acantocitosis la cual se caracteriza por corea, miopatía, cambios cognitivos y conductuales progresivos y convulsiones. La edad media del inicio de los síntomas es a los 35 años, aunque puede desarrollarse tan temprano como la primera década o tan tarde como en la séptima<sup>89</sup>. También la enfermedad de Huntington-like tipo 2 ,que se manifiesta de la tercera a cuarta décadas de la vida y tiene un curso progresivo durante 10 a 15 años, presenta como hallazgos frecuentes distonía, corea y parkinsonismo, casi todos los individuos afectados reportados hasta la fecha han sido de ascendencia africana <sup>95,96</sup>.

## JUSTIFICACIÓN

---

La prevalencia de la PKAN es de 1-3 por millón de habitantes, sin embargo en México no existe ningún caso reportado con diagnóstico molecular por lo que este estudio nos permitirá realizar la confirmación de pacientes con PKAN en aquellos que presenten distonía y/o parkinsonismo así como en RM cerebral el signo del “ojo de tigre”. De esta manera podremos dar una pauta de estudio para los casos que se diagnostique posterior al mismo.

Aunque la correlación genotipo-fenotipo es muy limitada hasta ahora pretendemos hacer hincapié sobre las principales manifestaciones clínicas de la enfermedad, ya que dicha información puede ser de gran ayuda al médico tratante de los pacientes para tener presente como posible diagnóstico la PKAN.

Es importante el detectar mutaciones en los casos estudiados y posteriormente extender las pruebas genéticas a progenitores y hermanos, especialmente cuando sean más jóvenes que el probando. Este estudio será de gran utilidad desde el punto de vista del asesoramiento genético ya que existe la posibilidad de que sean portadores o casos presintomáticos, es decir, que aún no inicien con los síntomas. De esta forma podremos ofrecerles un riesgo genético (incluido la discusión de los riesgos potenciales a la descendencia y opciones reproductivas) para familiares y parejas que deseen procrear.

# **OBJETIVOS**

---

## **OBJETIVO GENERAL**

Caracterizar el tipo de mutaciones del gen *PANK2* en pacientes con parkinsonismo y/o distonía e imagen con signo de “ojo de tigre” por resonancia magnética cerebral.

## **OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

- 1) Identificar la existencia de una posible correlación genotipo-fenotipo dependiente del tipo de mutaciones identificadas en pacientes de una misma familia y de familias diferentes con las mismas mutaciones
- 2) Determinar la presencia de expresividad variable
- 3) Establecer las frecuencias de las mutaciones encontradas en el estudio.
- 4) Ampliar el “pool” de mutaciones ya existente en caso de encontrar mutaciones no descritas previamente
- 5) Evaluar si la presencia de alguna mutación encontrada, es consecuencia derivada de la formación de una nueva población de individuos a partir de un número muy reducido de éstos, que sugiera un posible efecto fundador.
- 6) Identificar a los posibles portadores de la mutación en parientes de primer grado para brindar un adecuado asesoramiento genético

# MATERIAL Y MÉTODOS

---

## DISEÑO DEL ESTUDIO

El presente trabajo es un estudio ambilectivo, descriptivo, de serie de casos.

La muestra estuvo constituida por 13 casos de 5 familias del INNN y 1 familia del INCMNZS, 12 de los 13 pacientes presentan parkinsonismo (bradicinesia, rigidez, temblor, inestabilidad postural y congelación de la marcha) y/o distonía y RMN con imagen de “ojo de tigre”, y el restante, hermano de un propósito esta asintomático. A todas las familias se les realizó genealogía, así como extracción de ADN genómico al caso índice y a los progenitores a partir de leucocitos de sangre periférica o de células de mucosa oral, utilizando el DNeasy Blood & Tissue Kits on Robotic workstation QIAcube (QIAGEN, Netherlands or Germany)

Los 7 exones y secuencias intrónicas adyacentes de *PANK2* fueron amplificados por PCR utilizando los pares de cebadores derivados de secuencias normales del gen (Ensembl ID 00000316562). Cada 25  $\mu$ l de reacción de amplificado por PCR contenía 1X buffer, 200 ng de ADN genómico, 0.2 mM de cada dNTP, 2U de Taq polimerasa, 1 mM de los cebadores río arriba y río abajo, y 1.5 mM de MgCl<sub>2</sub>. Los productos de PCR se analizaron en geles de agarosa al 1.5% de los cuales se cortaron las bandas amplificadas y el ADN se purificó posteriormente con la ayuda del kit Qiaex II (Qiagen, Hilden, Alemania). La secuenciación automática directa de *PANK2* se realizó con el kit de Terminator Cycle Sequencing BigDye (apllied Biosystems, Foster City, CA). Todas las muestras se analizaron con ABI Prism 3130 Genetic Analyzer (Applied Biosystems). Las secuencias de tipo silvestre y mutante de *PANK2* se compararon manualmente (*Tabla 4*).

**Tabla 4. Oligonucleótidos utilizados y secuencias cubiertas**

<b>Exon</b>	<b>Secuencia del Primer</b>	<b>bp</b>	<b>A.T (°C)</b>
<b>PANK2-E1F</b>	5'ACTCGGGGTCGCCCCAGGAGAGTT 3'	825	58.7
<b>PANK2-E1R</b>	5'ACCACCGTGCGGGGACAGTGT 3'		
<b>PANK2-E1R Int*</b>	5'CCGTTGCGCCAACGCGCAGGAA 3'		
<b>PANK2-E2F</b>	5' GTTGCTACTGTGGTAAGGGT 3'	498	54.6
<b>PANK2-E2R</b>	5'CACCACTTGCTACTGGCATT 3'		
<b>PANK2-E3F</b>	5'TGGTTGTTTCACGTAGTGGG 3'	411	54.6
<b>PANK2-E3R</b>	5'ATACCTGAAAACTCAGCCCG 3'		
<b>PANK2-E4F</b>	5'GCATGATTGGGTTGGATATGTG 3'	350	55.8
<b>PANK2-E4R</b>	5'ATTAAAGGCATGAGCCACCG 3'		
<b>PANK2-E5F</b>	5'GTTCTGTTGGGCTTTGTTGC 3'	260	54.6
<b>PANK2-E5R</b>	5'GAGAAAACAGACGTGATGGG 3'		
<b>PANK2-E6F</b>	5'GCTATGCACATGGTGCTGTA 3'	284	54.6
<b>PANK2-E6R</b>	5'AGTTCCATGACAGTGTGACC 3'		
<b>PANK2-E7F</b>	5'GGGCAGTGGTTGGCTTTAACA 3'	201	57.1
<b>PANK2-E7R</b>	GAAAGTCCACAGATCCCATTG 3'		

**A.T:** Temperatura de alineamiento; **bp:** pares de base

Se confirmó que las nuevas mutaciones encontradas no estuvieran presentes en el ADN de 100 controles sanos, no relacionados, pero coincidentes étnicamente (200 alelos) y que no estuvieran reportadas en el servidor de variantes del exoma (<http://evs.gs.washington.edu/EVS/>) o en la base de datos del proyecto 1000 Genomas ([www.1000genomes.org](http://www.1000genomes.org)). Posteriormente se realizó análisis *in silico* con el programa *PolyPhen2* (*Polymorphism Phenotyping*, <http://genetics.bwh.harvard.edu/pph2/>) para predecir el efecto sobre la estructura y la función de la proteína PANK2.

Se integró un diagnóstico clínico/imagenológico y molecular de PKAN y posteriormente se brindó asesoramiento genético, extendiéndose dicha prueba molecular a hermanos del propósito.

## SELECCIÓN DE LA MUESTRA

Al ser una serie de casos no se realizó una búsqueda aleatorizado, sino más bien se estudiaron a aquellos pacientes que presentan parkinsonismo (bradicinesia, rigidez, temblor, inestabilidad postural y congelación de la marcha) y/o distonía y RM cerebral con signo de “ojo de tigre”.

**TABLA 5. VARIABLES ESTUDIADAS**

Nombre	Definición	Unidad de medida	Tipo
Edad de inicio	Tiempo transcurrido desde el nacimiento a la presentación del primer síntoma	Años cumplidos	Numérica
Síntoma inicial	Primer trastorno o alteración presentada por el enfermo	Asintomático, distonía, alteraciones de la marcha, disartria	Nominal
Edad de diagnóstico	Tiempo transcurrido desde el nacimiento al diagnóstico	Años cumplidos	Numérica
Edad actual	Tiempo transcurrido del nacimiento a la fecha actual	Años cumplidos	Numérica
Distonía	Contracciones musculares anómalas que por lo general causan movimientos repetitivos de torsión o posturas anormales	Distonía generalizada, oromandibular, focal	Nominal
Parkinsonismo	Se refiere a cualquier afección que implique los tipos de cambios de movimiento observados en el mal de Parkinson	Temblor de reposo, síndrome rígido acinético, marcha congelada	Nominal
Retinopatía pigmentaria	Trastorno en el que se produce un daño en los fotorreceptores	Presente, ausente	Dicotómica
Movimientos oculares anormales	Alteraciones en la motilidad ocular	Sacadas hipométricas verticales y horizontales, parálisis de la mirada vertical, nistagmus evocado	Nominal
Alteraciones neuropsiquiátricas	Trastornos del comportamiento o desarrollo psicomotor	Inestabilidad emocional, cambios de personalidad, agresividad, impulsividad, trastorno obsesivo-compulsivo, depresión	Nominal
Alteraciones del lenguaje	Trastornos de la forma de comunicación	Disartria, taquialalia, palilalia	Nominal
Estado de portador	<b>Heterocigoto:</b> Individuo que tiene dos alelos diferentes en un locus, uno en cada cromosoma. En el caso de una mutación patológica, un alelo es normal y otro anormal. <b>Heterocigoto compuesto:</b> Individuo que tiene dos alelos anormales o mutados diferentes en un mismo locus, uno en cada cromosoma. <b>Homocigoto:</b> Individuo que tiene dos alelos idénticos en un mismo locus determinado, uno en cada cromosoma	Heterocigoto, homocigoto mutante o heterocigoto compuesto	Nominal
Mutación	Cambio en la secuencia de ADN que traduce en un cambio en los aminoácidos de la proteína	Cambio de aminoácido y posición en la proteína	Nominal

# RESULTADOS

---

## MANIFESTACIONES CLÍNICAS

Las características fenotípicas de los 13 pacientes estudiados se muestran en la tabla 6, los cuales provienen de 6 familias diferentes (A-F).

La edad de inicio en los 13 casos varió de los 3 a los 26 años, con la excepción de un caso, que actualmente a los 24 años no presenta sintomatología. El síntoma inicial predominante en los pacientes estudiados fue la distonía focal de miembros torácicos en 5 de 13, seguido de alteraciones de la marcha en 4 de 13.

Los casos A1 y A2, son heterocigotos compuestos para las mutaciones p.A469P/p.N404I, la edad de inicio fue en la 2ª década de la vida; la evolución ha sido más grave y rápida en A1 que en A2, por lo que podemos hablar de expresividad variable. En ambos se observaron como principales síntomas la distonía, aunque en el caso A1 es generalizada y en la paciente A2 es en miembros superiores y oromandibular de acción, así como los dos presentaron alteraciones del lenguaje.

El paciente B1 es heterocigoto compuesto para p.G521R/p.G555S, en él aunque la edad de inicio fue en la primera década de la vida, la evolución ha sido lenta. Presenta como sintomatología distonía generalizada y oromandibular, disartria, demencia y retinitis pigmentosa severa.

Los casos de C1-E2 son homocigotos para p.N404I, la edad de inicio varió de la primera a la tercera década de la vida, y predominan en ellos signos de parkinsonismo, así como alteraciones neuropsiquiátricas y del lenguaje. El fondo de ojo fue normal en todos, aunque, en C2 mediante electroretinograma (ERG) se evidenció degeneración retiniana. El paciente C1, hermano de C2, resultó homocigoto mutante para p.N404I, al examen físico no presenta ninguna manifestación clínica compatible con la enfermedad.

En la última familia (F), los 3 hermanos son homocigotos para p.G219V, el inicio fue durante la primera década de la vida, la evolución ha sido tan rápida y grave, que 2 de 3 pacientes fallecieron antes de los 10 años de edad. Los 3 casos comparten síntomas como distonía generalizada, retraso psicomotor y en 2 de 3 se observó un fondo de ojo sin alteraciones.

Debido al inicio y a la evolución de los síntomas los homocigotos para p.G219V correspondería a un fenotipo clásico, con un inicio temprano, evolución rápida y grave. Otro de los casos A1 podría corresponder al fenotipo clásico pues inició a los 10 años, y 10 años después perdió la ambulación, así como presenta una distonía generalizada y oromandibular grave. El resto de casos por haber tenido la mayoría un inicio durante la segunda a tercera década de la vida y/o una evolución lenta, ni pérdida de la marcha, los clasificamos como atípicos (*Tabla 6*).

Las mutaciones mostradas en color rojo no han sido descritas previamente en las bases de datos, las de color azul son mutaciones raras, y la de negro es una mutación común.

**Tabla 6. Hallazgos clínicos y mutaciones en *PANK2* de pacientes**

No.	ID	Edad de Inicio	Síntoma inicial	Edad de Dx	Edad Actual	Distonía	Parkinsonismo	Anomalías Neuropsiquiátricas	Alteraciones del lenguaje	Hallazgos neurooftalmológicos	Mutación
1	A1	10	Distonía focal de brazo	12	21	Generalizada, DOM	No	Deterioro cognitivo	Anartria	Fundoscopia normal, nistagmus evocado	p.A469P p.N404I
2	A2	16	Distonía focal de brazo	16	16	Distonía focal de brazos y pies, DOM	No	No	Disartria	Fundoscopia normal	p.A469P p.N404I
3	B1	4	Alteraciones en la marcha	20	23	Distonía generalizada, DOM	No	Depresión	Disartria	Retinitis pigmentosa	p.G521R p.G555S
4	C1	NO	Asintomático	24	24	Asintomático	Asintomático	Asintomático	Asintomático	Fundoscopia normal	p.N404I p.N404I
5	C2	26	Distonía focal	28	30	Generalizada, DOM	Síndrome rígido acinético, marcha congelada	No	Anartria	Degeneración retiniana en ERG, Fundoscopia normal	p.N404I p.N404I
7	D1	3	Alteraciones de la marcha	25	45	No	Síndrome rígido acinético, marcha congelada	Deterioro cognitivo, TOC, apatía, agresividad, tics motores y vocales simples, afección pseudobulbar	Disartria, palilalia, taquialia	Fundoscopia normal	p.N404I p.N404I
8	D2	25	Alteraciones de la marcha	45	55	Distonía de Mts, marcha distónica	Síndrome rígido acinético, marcha congelada	Deterioro cognitivo, TOC, apatía, agresividad, tics motores y vocales simples, afección pseudobulbar	Disartria, palilalia, taquialia	Fundoscopia normal	p.N404I p.N404I
9	E1	8	Disartria	36	49	DOM	Síndrome rígido acinético, marcha congelada	Deterioro cognitivo, TOC, tics motores y vocales simples	Disartria, palilalia, taquialia	Fundoscopia normal	p.N404I p.N404I
10	E2	18	Alteraciones de la marcha	25	42	No	Síndrome rígido acinético	Deterioro cognitivo, TOC, apatía, agresividad, afección pseudobulbar	Disartria, palilalia, taquialia	Fundoscopia normal, sacadas hipométricas verticales y horizontales, parálisis de a mirada vertical	p.N404I p.N404I
11	F1	5	Distonía focal de brazo	6	9†	Generalizada	No	Retraso psicomotor, Deterioro cognitivo, afección pseudobulbar	Disartria	Retinopatía pigmentosa	p.G219V P.G219V
12	F2	4	Distonía focal de brazo	4	4	Generalizada	No	Retraso psicomotor, Deterioro cognitivo	Disartria	Fundoscopia normal	p.G219V P.G219V
13	F3	7	Disartria	7	8†	Generalizada	No	Retraso psicomotor, Deterioro cognitivo, afección	Disartria	Fundoscopia normal	p.G219V P.G219V

## RESONANCIAS MAGNÉTICAS CEREBRALES

A todos los casos se les realizó RM cerebral (excepto el caso asintomático), en todos ellos sin importar el tipo de mutación encontrada o si se encontraba en estado homocigoto mutante o heterocigoto compuesto, se observó en T2, secuencias FLAIR y SWAN la imagen de “ojo de tigre”, es decir una señal hiperintensa central rodeada por un borde hipointenso en el globo pálido, que si bien no es patognomónico de PKAN<sup>36,50</sup>, es útil para el diagnóstico, sobre todo cuando se correlaciona con el contexto clínico,<sup>51</sup> como fue en nuestros casos. (Figura 13).

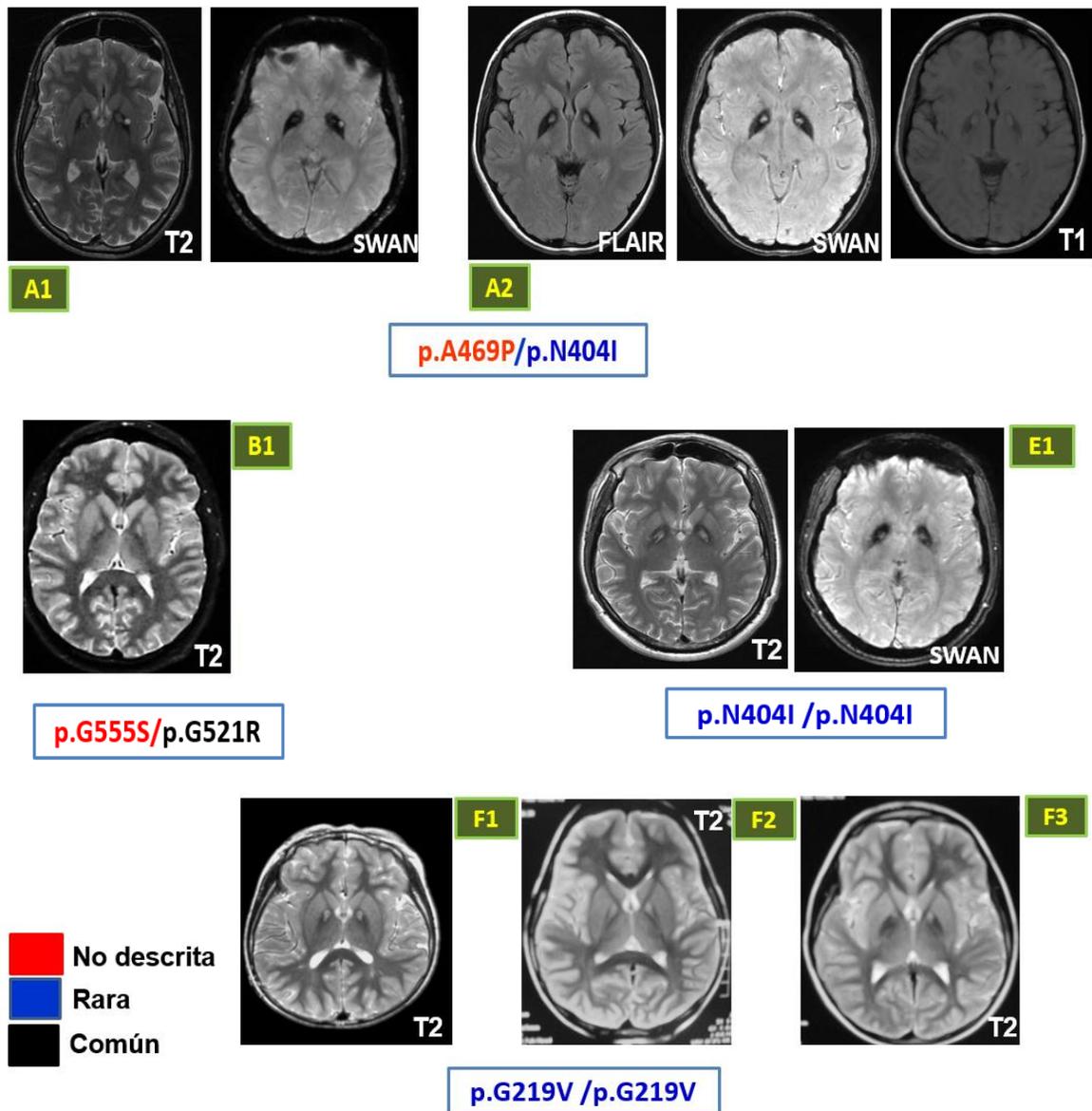


Figura 13: RM cerebral de los casos estudiados en T1, T2, secuencia FLAIR y SWAN

## ANÁLISIS GENEALÓGICO Y MOLECULAR

Se presentan 6 genealogías con un patrón autosómico recesivo, en las cuales se muestran generaciones con algún miembro afectado, separadas por generaciones en las que no hay ningún individuo enfermo, debido a que los progenitores son portadores sanos heterocigotos.

En la familia A, existen dos afectados los cuales son heterocigotos compuestos para p.N404I/p.A469P, el alelo p.N404I fue transmitido por el padre, mientras que el alelo p.A469P fue por la madre. (Figura 7)

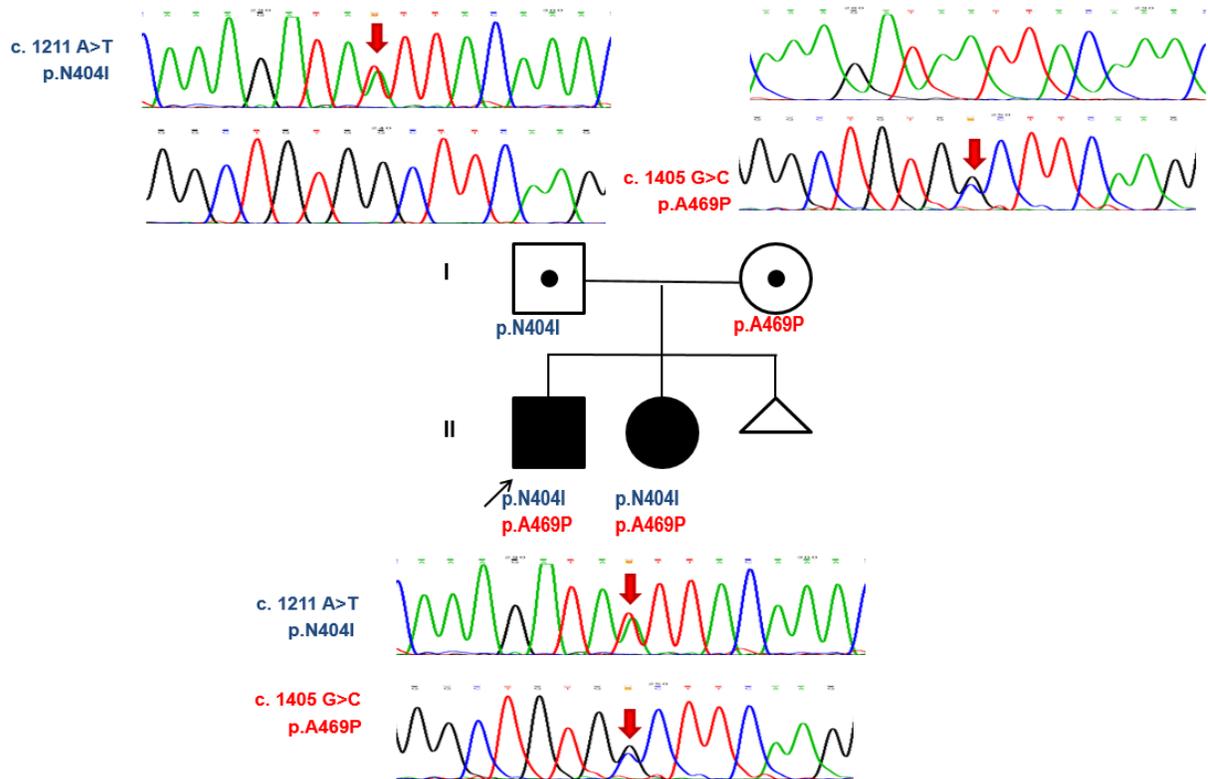


Figura 7: Familia A

En la familia B en la generación II se observa el caso en estado heterocigoto compuesto para las mutaciones p.G521R/p.G555S, en donde el alelo p.G521R fue transmitido por el padre y el alelo p.G555S por la madre. Un hermano es homocigoto silvestre y el otro resultó heterocigoto para p.G555S (Figura 8).

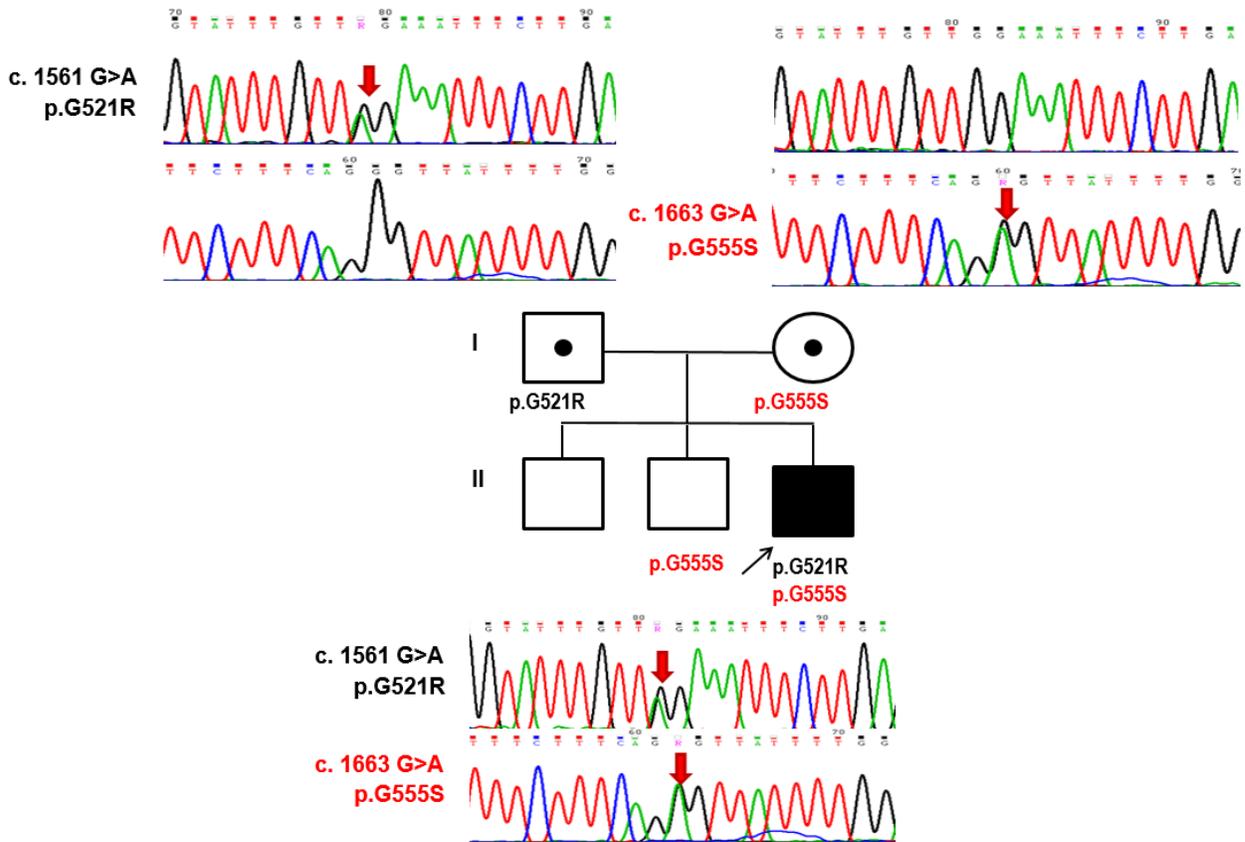


Figura 8: Familia B

En la familia C, se detectaron dos casos homocigotos para p.N404I, uno de ellos asintomático a los 24 años de edad, cabe señalar que su hermano inició con sintomatología a los 26 años (*Figura 9*).

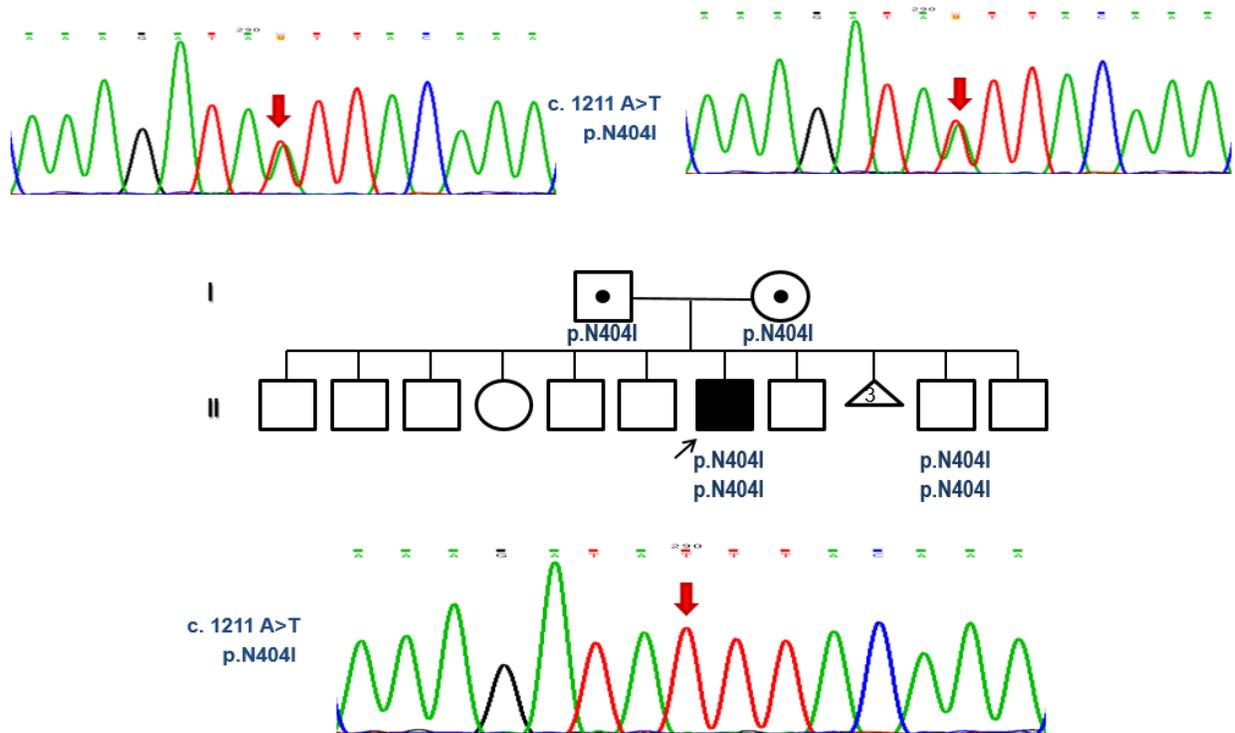


Figura 9: Familia C

En la familia D, los dos pacientes son homocigotos para p. N404I (Figura 10).

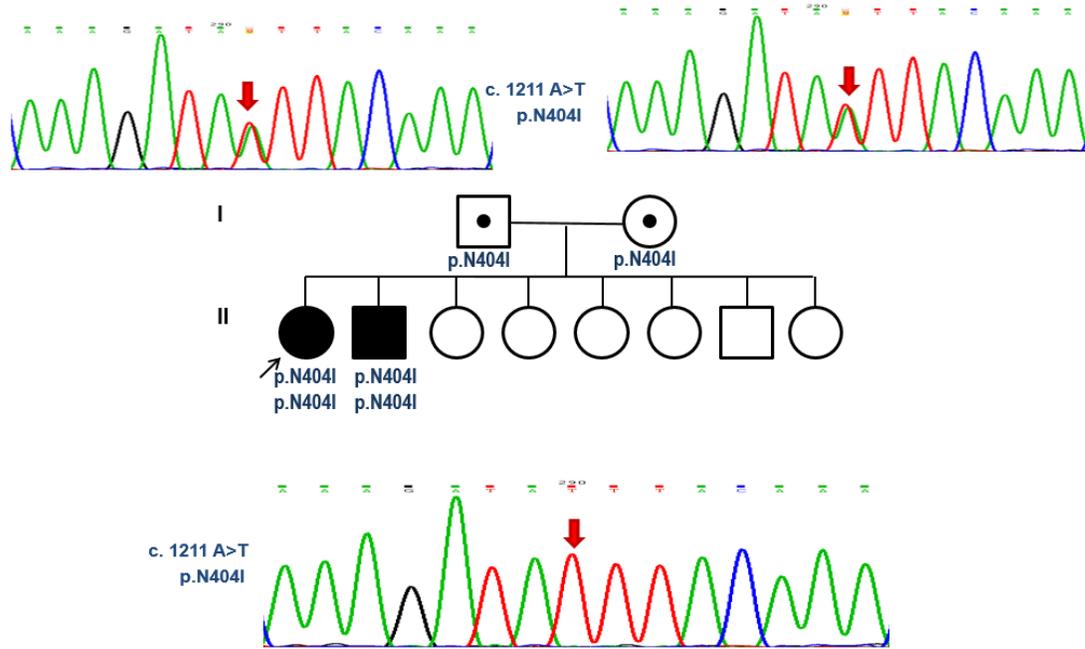


Figura 10: Familia D

La familia E fue la única en la que se conocía la existencia de consanguinidad, aunque desconocen en qué grado. Los 3 casos son homocigotos para p.N404I (Figura 11).

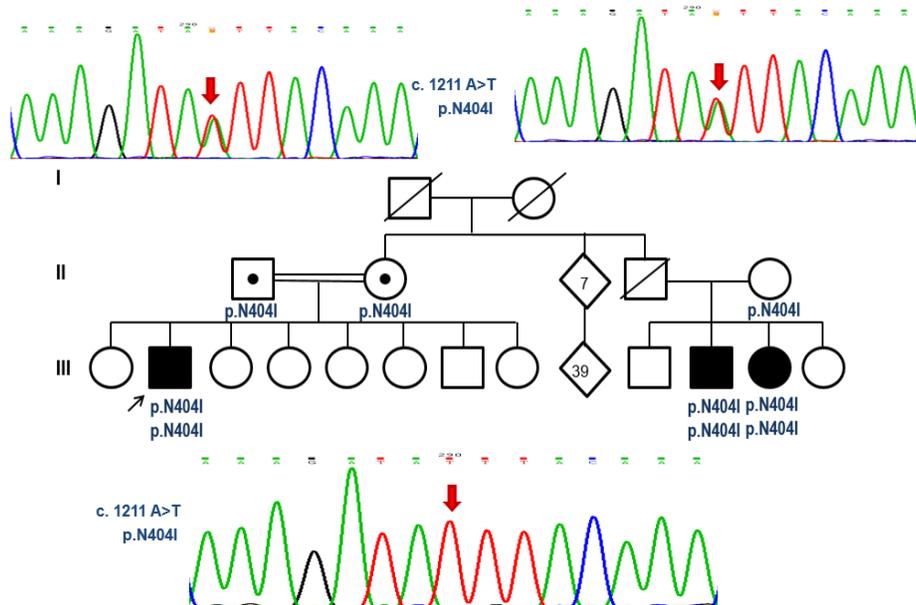


Figura 11: Familia E

Entre las familias D y E existe isonimia, es decir comparten apellidos en común.

En la familia F, los 3 descendientes están afectados y son homocigotos para p.G219V, siendo ambos padres heterocigotos (Figura 12).

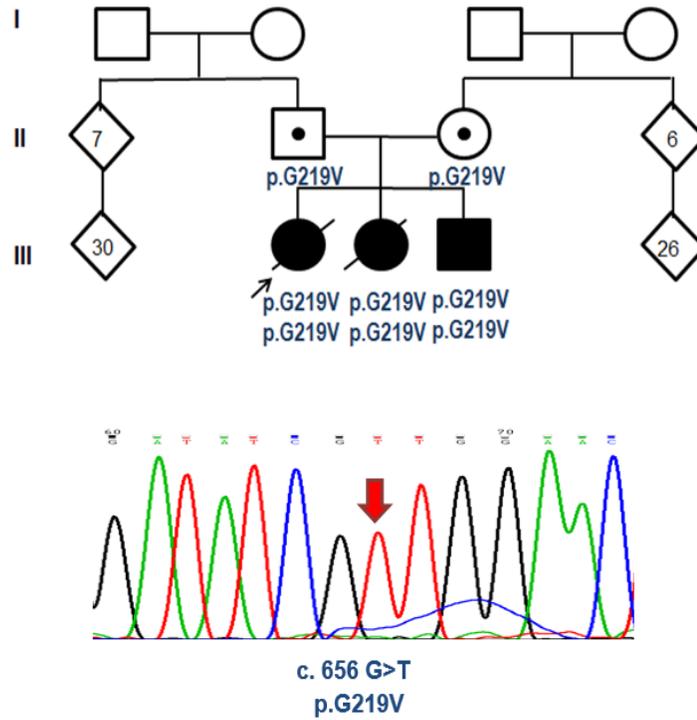


Figura 12: Familia F

## LOCALIZACIÓN PROTEICA DE LAS MUTACIONES

Las 5 diferentes mutaciones son en sentido erróneo, lo cual concuerda con la literatura, en que este tipo de mutaciones son las más frecuentes. Todas se localizaron en el dominio catalítico de la enzima, aunque en diferentes regiones de la proteína, dos de estas mutaciones p.G219V y p.G521R, se encuentran en el sitio de unión del ATP. Las mutaciones p.G555S y p. N404I se localizaron en la superficie y la mutación p.A469P en el sitio de dimerización. <sup>57</sup>

La mutación p.G555S y p.A469P no han sido reportadas previamente, el análisis “*in silico*” de ambas mutaciones muestra que tanto la estructura como la función de la proteína se ven alteradas. Se han reportado 3 casos atípicos de la mutación p.N404I y un caso atípico de p.G219V <sup>57</sup>. Existen varios casos de la mutación p.G521R, de hecho se ha observado a nivel mundial en el 25% de los casos de PKAN <sup>7</sup>. (Figura 15)

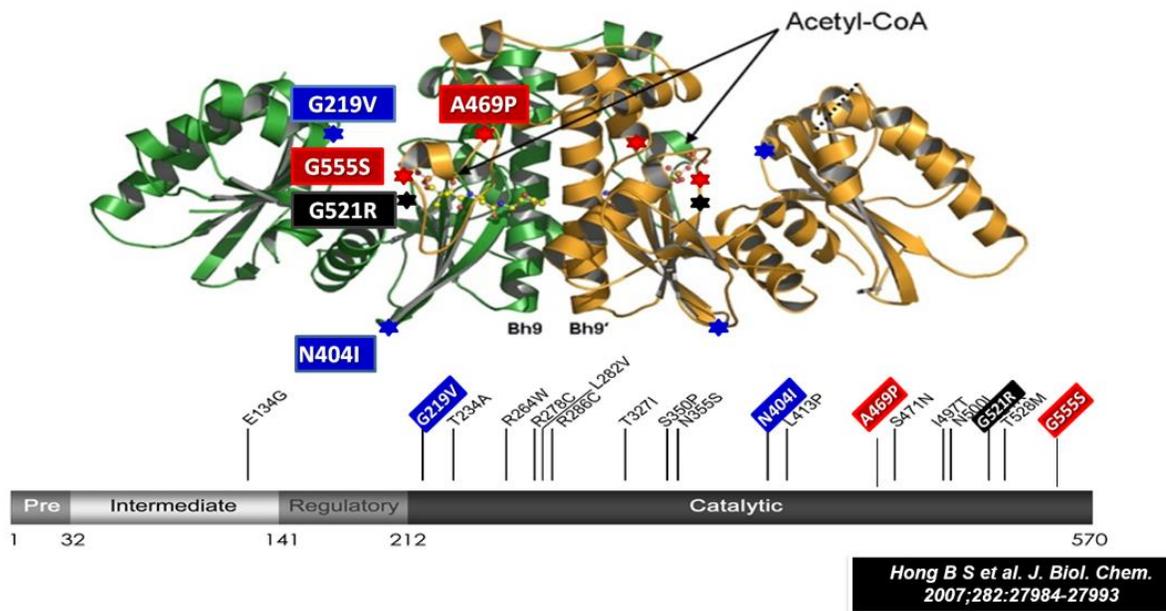


Figura 15. Localización de las mutaciones en la proteína

## ORIGEN GEOGRÁFICO DE LAS FAMILIAS ESTUDIADAS

En la familia A, el padre es originario de Coalcomán y la madre de Aguililla, ambos municipios de Michoacán, sus dos descendientes heterocigotos compuestos para p.N404I/p.A469P

En la familia B, ambos progenitores son originarios de Guadalajara, Jalisco, el propósito resultó heterocigoto compuesto para las mutaciones p.G521R/p.G555S.

La familia C es originaria del municipio de Tancítaro, la D de Tlazazalca y la E de Tocumbo, todos municipios del oeste de Michoacán. Los casos de estas familias son homocigotos mutantes para p.N404I, por lo que se evidenció un clúster para dicha mutación en esta zona, cabe resalta que dichas comunidades fueron conquistadas por los españoles entre 1524-1534. Entre las familias de Tlazazalca (D) y Tocumbo (E) existe isonimia, es decir comparten un apellido en común, dicho apellido corresponde a una familia de origen español que en 1800 compró tierras en la región. (Figura 14)



**Tlazazalca- Tocumbo:** 82.5 km. **Tlazazalca-Tancítaro:** 135 km. **Tocumbo-Tancítaro:** 57.8 km.  
**Tancítaro-Aguililla:** 111 km. **Aguililla-Coalcomán:**187km. **Tocumbo-Coalcomán:** 184km

Figura 14. Localización geográfica de las 6 familias estudiadas, así como las mutaciones encontradas y en la parte inferior las distancias en Km entre los municipios de Michoacán

# DISCUSIÓN

---

En una búsqueda cuidadosa de la literatura no se ha encontrado algún caso confirmado por estudio molecular de PKAN publicado en México, siendo el presente el primer reporte de pacientes con diagnóstico clínico, imagenológico y molecular.

Las 5 mutaciones detectadas en este estudio en las 6 familias estudiadas: N404I, A469P, G219V, G521R, G555S se encuentran dentro de la región que comprende los residuos 211 a 570, que contiene el núcleo catalítico, por lo que es muy probable que reduzcan la función catalítica sin alterar la localización mitocondrial de la proteína, pues no se ven afectados los primeros 29 residuos que sirven de señalización para dirigir a la proteína hacia la mitocondria. En particular, las mutaciones G219V y G521R, reducen significativamente o incluso pueden anular completamente la actividad catalítica de la pantotenato cinasa 2, debido a que entre los aminoácidos 517 a 525 se encuentra segmento altamente conservado, esencial para la actividad de PANK2; además de que dichas mutaciones se encuentran en los sitios de unión al ATP.<sup>57</sup>

Se encontraron en estado homocigoto a las mutaciones N404I y G219V y las mutaciones G521R/G555S y A469P/N404I en estado heterocigoto compuesto. De las 5 mutaciones identificadas, 2 de ellas, las mutaciones A469P y G555S corresponden a mutaciones nuevas, no reportadas previamente. Otras 2, las mutaciones N404I, de la que se han reportado solamente 3 casos atípicos y la G219V de la que solo existe el antecedente de un caso atípico<sup>57</sup>. La otra mutación identificada, la G521R, es frecuente, habiéndose reportado en el 25% de los casos<sup>7</sup>. Este estudio molecular del gen *PANK2* muestra una serie de mutaciones características, en pacientes mexicanos, con diagnóstico de PKAN clínico/imagenológico,

Aunque no se ha analizado el haplotipo para el alelo mutado N404I, la localización geográfica observada en 3 familias del oeste michoacano, sugiere fuertemente un efecto fundador para esta mutación, debido a su alta prevalencia en las poblaciones mencionadas (*Figura 9*).

Las mutaciones identificadas fueron cambios en sentido erróneo teniendo probablemente una actividad enzimática residual de PANK2, lo que condicionaría un fenotipo atípico con una sintomatología más leve y presentación más tardía. Tal como fue observado en los homocigotos para N404I en los que la mayoría de los pacientes la edad de inicio ocurrió durante la segunda y tercera década de la vida y su fenotipo fue menos grave que en los casos clásicos. En los pacientes homocigotos N404I predominaron los síntomas de parkinsonismo en 5 de 6 casos (83.3%), alteraciones del

lenguaje en la misma proporción y las alteraciones neuropsiquiátricas en 4 de 6 pacientes (66.7%), manifestaciones clínicas que se presentaron con una frecuencia mucho mayor que la descrita en la literatura que para el fenotipo atípico fue del 21.19%, 45.13% y 19.48% respectivamente (*Tabla 2*). Es interesante señalar que existe un individuo en estado homocigoto mutante N404I/ N404I en la familia C, que a los 24 años no ha presentado aún ninguna sintomatología. No siempre las mutaciones en sentido erróneo se presentan como la forma atípica, prueba de ello son los tres hermanos de la familia F, todos ellos homocigotos G219V/G219V. Por su localización y consiguiente pérdida casi completa de la actividad enzimática mostraron un fenotipo compatible con la forma clásica de PKAN.

Se identificaron dos heterocigotos compuestos, N404I/A469P y G521R/G555S, familias A y B respectivamente, en las que se ha postulado que, debido a la dimerización de PANK2, existe complementariedad alélica, condicionando una interacción entre subunidades haciendo que la proteína sea capaz de restaurar su función de forma parcial, dicho efecto de complementariedad alélica es más evidente en el último caso, en la que G521R tiene una actividad enzimática casi nula y al compartir con G555S el estado de heterocigoto compuesto, permite postular que pantotenato cinasa conservaría cierta actividad residual, lo cual explicaría el fenotipo atípico del paciente de la familia B. Los 2 hermanos N404I/A469P de la familia A, presentaron distonía y alteraciones del lenguaje, destacando que el cuadro clínico es más grave en el hermano mayor que en su hermana menor, estando éste confinado ya a silla de ruedas por una distonía generalizada grave, mientras que la hermana solo presenta distonía focal en miembro torácico y distonía oromandibular de acción, haciendo evidente la expresividad variable intrafamiliar. En el caso A1, por un inicio a los 10 años, un distonía generalizada y oromandibular grave, así como pérdida de la ambulación 10 años después del inicio, lo podríamos considerar como fenotipo clásico, mientras que a su hermana como una forma atípica, por un inicio en la segunda década de la vida y una evolución hasta ahora lenta.

La distonía se presentó en 9 de 13 pacientes (69.23%) con PKAN, siendo en 5 de 13 (38.46%) el síntoma inicial, hallazgo muy semejante a lo reportado en la literatura, que dependiendo del fenotipo suele presentarse en el 72-78.5% y suele ser el síntoma inicial en el 13-30% de los casos (*Tabla 2*). La distonía se debe a la afección de los globos pálidos, lugar donde se expresa PANK2 y la disminución de los niveles de pantotenato cinasa condiciona que las células sean más sensibles a la privación de oxígeno, pues es una zona con alta demanda de energía. Por otra parte, la reducción de expresión de PANK2 puede conducir a fugas membranales a causa de una síntesis defectuosa de lipoproteínas, lo que permitiría la filtración de hierro en el axoplasma de

las neuronas de los ganglios basales provocando finalmente la degeneración de las mismas.

La retinitis pigmentaria se presentó en 3 de 13 pacientes (23.07%) frecuencia similar a la observada en la literatura que va del 10-60% (*Tabla 2*). Esta retinopatía es el resultado del daño membranal de los fotorreceptores por alteración de la biosíntesis lipoproteica, ya que estos tienen un cambio frecuente de este organelo<sup>61-64</sup>.

En 5 de 13 pacientes (38.46%) se observaron alteraciones psiquiátricas y en 8 de 13 casos (61.53%) retraso psicomotor, manifestaciones esperadas si consideramos que los ganglios basales y el cerebelo tienen interconexiones recíprocas con la zonas prefrontales, temporales y parietales, las cuales están relacionadas con diferentes aspectos de la conducta, la cognición y la función motora <sup>21-28</sup>. En la literatura dichas alteraciones se observaron del 10-20% para los trastornos psiquiátricos mientras que para el retraso psicomotor o mental va del 20-47% presentándose en el presente estudio con una frecuencia mayor (*Tabla 2*).

Para 3 de las 5 mutaciones se conoce la actividad enzimática, siendo para la N404I del 83 ±8.4%, para la G219V del 0.4± 1% y para la G521R menor al 0.2%<sup>57</sup>. Se considera que la actividad residual de la enzima sería el mejor indicador de los resultados clínicos para algunas mutaciones, en particular se ha observado una fuerte correlación con la edad de inicio. Así las mutaciones en estado homocigoto que están en la región conservada de Val-Val-Phe-Val-Gly<sup>521</sup>-Asn-Phe-Leu-Arg, la edad de inicio suele ser en la primera década de la vida, como se observó en los hermanos homocigotos para G219V. Dicha correlación no existe para diversas mutaciones como las A509V, T234A, T528M y R286C las que presentan una actividad enzimática mayor de 105, 112, 176 y 146% respectivamente, habiéndose reportado dichas mutaciones tanto en la forma clásica como atípica. Debido a esta falta de correlación, en la actualidad no está indicado el estudio de la actividad enzimática de la pantotenato cinasa 2 <sup>57</sup>.

Entre los casos homocigotos para N404I y heterocigotos compuestos N404I/A469 se observó expresividad variable de las manifestaciones clínicas de PKAN entre hermanos afectados y entre individuos que compartían la misma mutación de familias diferentes lo que podría ser explicado por la existencia de modificadores genéticos que alteren la actividad catalítica de PANK2, porque dicha actividad enzimática de PANK2, no sea la única causa subyacente de la enfermedad o porque participen reguladores de la expresión génica de *PANK2* como: mir-103-2, NF-Y y la ribonucleoproteína heterogénea nuclear de la familia A/B, los cuales juegan un papel en la regulación del promotor, en el procesamiento del ARN y por lo tanto en la regulación

transcripcional<sup>98,99</sup>. También se ha sugerido un mecanismo compensatorio, pero aún desconocido, posiblemente debido a otras proteínas PANK<sup>73</sup>. Otra hipótesis planteada es que debido a que PANK2 se localiza en el núcleo, la proteína mutada podría afectar la función nuclear en lugar de, o además de, su papel propuesto en la homeostasis de la CoA mitocondrial<sup>65</sup>, proponiéndose que la disminución de la CoA tendría un efecto perjudicial sobre la acetilación de histonas y tubulina, lo que contribuiría al variado fenotipo neurológico de PKAN observado<sup>64</sup>.

Todos los pacientes mostraron lesiones hipointensas en T2 restringidas al globo pálido y sustancia negra, que corresponden a un alto contenido de hierro y una zona medial hiperintensa que corresponde a edema y gliosis, dicha acumulación se sugiere esté relacionada con el agotamiento de pantotenato, lo cual conduce a la acumulación de cisteína y la quelación secundaria por los restos de cisteína del hierro, formando un complejo hierro-cisteína, que produce daños a los tejidos por la inducción de estrés oxidativo<sup>31-40</sup>. Schneider et al.<sup>97</sup> sugieren que el depósito de hierro no es el factor inicial y causal, sino un epifenómeno de las células por la degeneración. Es probable que el acúmulo de hierro tenga un papel en la perpetuación de la cascada de acontecimientos que siguen al inicio de la enfermedad. Cuando se amplió el estudio a familiares, se detectó a un homocigoto para la mutación N404I, asintomático, de 24 años de edad, hermano de un paciente (familia C) en el cual está pendiente la realización de la RM cerebral.

Debido a que el fenotipo clínico de los pacientes con mutaciones en *PANK2* es heterogéneo y mucho más amplio de lo esperado, es importante que los médicos consideren a PKAN como diagnóstico diferencial en pacientes con distonía y trastorno de la marcha, en pacientes con un inicio menor a los 20 años de edad y que se sospeche en pacientes mayores de 20 años con parkinsonismo, alteraciones del habla y psiquiátricas. En estos casos se recomienda el análisis molecular (secuenciación de los 7 exones y cercanas a las uniones exón/intrón) para todos los pacientes que presentan cualquiera de las características previamente señaladas y el signo de ojo-de-tigre en la resonancia magnética cerebral, cuya presencia apoya fuertemente la presencia de mutaciones en el gen *PANK2*.

Otro aspecto de suma importancia de poder hacer un diagnóstico temprano, es por un lado para detectar a pacientes presintomáticos o en etapas iniciales, ya que a medida que progresa la enfermedad, las comorbilidades se harán presentes, probablemente como resultado de la disfunción extrapiramidal, lo que sugiere la necesidad de una detección temprana, para llevar a cabo un tratamiento de las complicaciones que puedan ir surgiendo y puedan tener los pacientes una mejor calidad de vida. Por otro lado el ofrecer un cribado a las familias para búsqueda de portadores,

tiene una gran implicación en el asesoramiento genético, ya que al ser un trastorno autosómico recesivo, tiene repercusión en el riesgo para la descendencia ya sea para las familias que tienen un hijo afectado o para aquellas parejas en la que ambos son heterocigotos sanos y pretendan iniciar una vida reproductiva, debido a que el riesgo de tener un hijo afectado en cada embarazo es del 25%. Se deberá brindar información de dicho riesgo así como de las opciones reproductivas y técnicas de diagnóstico prenatal que existen, para que tomen una decisión libre, pensada, meditada y reflexionada.

## CONCLUSIONES

---

1. En pacientes con parkinsonismo y/o distonía secundaria y RM cerebral con signo de “ojo de tigre” está indicada la búsqueda de mutaciones en *PANK2*.
2. Se identificaron 5 mutaciones diferentes, dos de estas (p.A469P, p.G555S) no reportadas previamente y dos (p.G219V y p.N404I) muy raras
3. En los heterocigotos compuestos p.N404I/p.A469P predomina la distonía, mientras que en p.G521R/G555S el inicio fue temprano pero la evolución lenta
4. Observamos que en los homocigotos p.N404I/N404I los síntomas se centran en parkinsonismo, trastornos psiquiátricos y alteraciones del lenguaje
5. Encontramos que los homocigotos p.G219V/G219V presentan un fenotipo clásico
6. En todas las mutaciones encontradas se evidenció expresividad variable intrafamiliar
7. Se detectó un “clúster” de mutaciones en el estado de Michoacán, lo cual sugiere fuertemente un posible efecto fundador para la mutación N404I
8. Una segunda fase del proyecto contempla una visita de campo en las comunidades del oeste de Michoacán, así como de casos con sospecha clínica e imagenológica para ampliar el número de casos y muy probablemente el pool de mutaciones

## REFERENCIAS

---

1. Kurian MA, McNeill A, Lin JP, Maher ER. Childhood disorders of neurodegeneration with brain iron accumulation (NACH). *Dev. Med. Child. Neurol.* 2011;53:394–404.
2. Hallervorden, J., & Spatz, H. (1922). *Eigenartige Erkrankung im extrapyramidalen System mit besonderer Beteiligung des Globus pallidus und der Substantia nigra.* *Journal of Neurology & Psychiatry*, 79, 254–302.
3. Hayflick SJ, Westaway SK, Levinson B, et al. Genetic, clinical, and radiographic delineation of Hallervorden-Spatz syndrome. *N Engl J Med* 2003; 348: 33–40.
4. Zhou B, Westaway SK, Levinson B, et al. A novel pantothenate kinase gene (PANK2) is defective in Hallervorden–Spatz syndrome. *Nat Genet* 2001; 28: 345–9.
5. Gregory A, Polster BJ, Hayflick SJ. Clinical and genetic delineation of neurodegeneration with brain iron accumulation. *J Med Genet* 2009; 46: 73–80
6. Thomas M, Hayflick SJ, Jankovic J. Clinical heterogeneity of neurodegeneration with brain iron accumulation (Hallervorden-Spatz syndrome) and pantothenate kinase-associated neurodegeneration. *Mov Disord.* 2004;19(1):36-42.
7. Hartig MB, Hortnagel K, Garavaglia B, et al. Genotypic and phenotypic spectrum of PANK2 mutations in patients with neurodegeneration with brain iron accumulation. *Ann Neurol* 2006; 59: 248–56.
8. Freeman K, Gregory A, Turner A, et al. Intellectual and adaptive behaviour functioning in pantothenate kinase-associated neurodegeneration. *J Intellect Disabil Res* 2007; 51: 417–26
9. Mahoney R, Selway R, Lin J-P. Cognitive functioning in children with pantothenate-kinase-associated neurodegeneration undergoing deep brain stimulation. *Dev Med Child Neurol* 2011; 53: 275–9.
10. Egan RA, Weleber RG, Hogarth P, et al. Neuro-ophthalmologic and electroretinographic findings in pantothenate kinase-associated neurodegeneration (formerly Hallervorden–Spatz syndrome). *Am J Ophthalmol* 2005;140:267–74
11. Pellechia MT, Valente EM, Cif L, et al. The diverse phenotype and genotype of pantothenate-kinase associated neurodegeneration. *Neurology* 2005; 64: 1810–2.
12. Molinuevo JL, Marti MJ, Blesa R, Tolosa E. Pure akinesia: an unusual phenotype of Hallervorden–Spatz syndrome. *Mov Disord* 2003; 18: 1351–3
13. Tripathi RC, Tripathi BJ, Bauserman SC, et al. Clinicopathologic correlation and pathogenesis of ocular and central nervous system manifestations in Hallervorden–Spatz syndrome. *Acta Neuropathol* 1992;83:113–19.
14. Swaiman KF. Hallervorden Spatz syndrome. *Pediatr Neurol.* 2001;25:102-108.
15. Battistella P, Midena E, Suppiej A, Carollo C. Optic atrophy as the first symptom in HSS. *Child Nerv Syst.* 1998;14:135-138.
16. Casteels I., Spileers W, Swinnen T, et al. Optic atrophy as the presenting sign in Hallervorden-Spatz syndrome. *Neuropediatrics.* 1994;25:265-267.
17. Hickman SJ, Ward NS, Surtees RAH, et al. How broad is the fenotype of Hallervorden Spatz disease. *Acta Neurol Scand.* 2001;103:201-203.
18. Luckenbach MW, Green WR, Miller NR, Moser HW, Clark AW, Tennekoon G. Ocular clinicopathologic correlation of Hallervorden-Spatz syndrome with acanthocytosis and pigmentary retinopathy. *Am J Ophthalmol.* 1983;95:369–82.
19. Newell FW, Johnson ROd, Huttenlocher PR. Pigmentary degeneration of the retina in the Hallervorden-Spatz syndrome. *Am J Ophthalmol.* 1979;88(3 Pt 1):467–71.
20. Roth AM, Hepler RS, Mukoyama M, Cancilla PA, Foos RY. Pigmentary retinal dystrophy in Hallervorden-Spatz disease: clinicopathological report of a case. *Survey of Ophthalmology.* 1971;16:24–35.

21. Morphy MA, Feldman JA, Kilburn G. Hallervorden-Spatz disease in a psychiatric setting. *J Clin Psychiatry* 1989;50:66-8.
22. Öner Ö, Öner P. Psychotic disorder in a case with Hallervorden-Spatz disease. *Act Psychiatr Scand* 2003;108:394-8.
23. Panas M, Spngos, et al. Psychosis as presenting symptoms in adult onset Hallervorden-Spatz syndrome. *Acta neuropsychiatrica* 2007;19:122-4.
24. Sunwoo YK, Lee JS, Kim WH, Shin YB, Lee MJ, Cho IH, et al. Psychiatric Disorder in Two Siblings with Hallervorden-Spatz Disease. *Psychiatry Invest* 2009;6:226-9.
25. Sadock BJ, Sadock VA. Kaplan-Sadock. *Sinopsis de Psiquiatría*. Novena edición. Barcelona: Waverly Hispanica, 2004.
26. Belger A, Dichter G. Neuroanatomía estructural y funcional. En:Lieberman JA, Stroup TS, Perkins DO. *Tratado de esquizofrenia*. Barcelona: Ars Medica, 2008.
27. Taber KH, Hurley RA. Neuroanatomía para el psiquiatra. In: Hales RE, Yudofsky SC, Gabbard GO. *Tratado de Psiquiatría Clínica*. Barcelona: Elsevier, 2009.
28. Pearson RCA. Neuroanatomia. En: Gelder MG, López-Ibor JJ, Andreasen N. *Tratado de psiquiatría*. Tomo I. Barcelona: Ars Medica 2003.
29. Cummings JL. Organic delusions: phenomenology, anatomical correlations, and review. *British Journal of Psychiatry*, 1985;146:184-97.
30. Ron MA. Psychiatric manifestations of demonstrable brain disease. Ron MA, David AS. *Disorders Of Brain and Mind*, 177- 95. Cambridge: Cambridge University Press, 1998.
31. McNeill A, Birchall D, Hayflick SJ, et al. T2\* and FSE MRI distinguishes four subtypes of neurodegeneration with brain iron accumulation. *Neurology* 2008; 70: 1614–9
32. Hayflick S.J.. Neurodegeneration with brain iron accumulation: from genes to pathogenesis. *Semin Pediatr Neurol*, 13 (2006), pp. 182–185
33. Delgado RF, Sanchez PR, Speckter H, Then EP, Jimenez R, Oviedo J, Dellani PR, Foerster B, Stoeter P. Missense PANK2 Mutation Without “Eye of the Tiger” Sign: MR Findings in a Large Group of Patients With Pantothenate Kinase-Associated Neurodegeneration (PKAN). *J Magn Reson Imaging*. 2012 Apr;35(4):788-94
34. Hayflick S, Westaway S. Pantothenate kinase 2 mutation without “eye-of-the-tiger” sign; letter to the editor. *Pediatr Radiol* 2006; 36: 1329.
35. S.J. Hayflick, M. Hartman, J. Coryell, J. Gitschier, H. Rowley. Brain MRI in Neurodegeneration with brain iron accumulation with and without PANK2 mutations. *AJNR Am J Neuroradiol*, 27 (2006), pp. 1230–1233
36. Zolkipli Z, Dahmouh H, Saunders DE, Chong WK, Surtees R. Pantothenate kinase 2 mutation with classic pantothenate-kinase-associated neurodegeneration without ‘eye-of-the-tiger’ sign on MRI in a pair of siblings. *Pediatr Radiol* 2006; 36: 884–6.
37. Baumeister FA, Auer DP, Hortnagel K, Freisinger P, Meitinger T. The eye-of-the-tiger sign is not a reliable disease marker for Hallervorden-Spatz syndrome. *Neuropediatrics* 2005; 36: 221–222.
38. Bostan A.C, Strick P.L.. The cerebellum and basal ganglia are interconnected. *Neuropsychol Rev*, 20 (2010), pp. 261–270
39. Gregory A., Hayflick S.J. Neurodegeneration with brain iron accumulation. *Folia Neuropathol*, 43 (2005), pp. 286–296
40. Pfefferbaum A, Adalsteinsson E, Rohlfing T, Sullivan EV. MRI estimates of brain iron concentration in normal aging: comparison of field-dependent (FDRI) and phase (SWI) methods. *Neuroimage* 2009; 47: 493–500
41. Hayflick SJ. Unraveling the Hallervorden-Spatz syndrome: pantothenate kinase-associated neurodegeneration is the name. *Curr Opin Pediatr* 2003; 15: 572–577.
42. Hajek M, Adamovicova M, Herynek V, Skoch A, Jiru F, Krepelova A, Dezortova M. MR relaxometry and 1H MR spectroscopy for the determination of iron and metabolite concentrations in PKAN patients. *Eur Radiol* 2005; 15: 1060–1068

43. Gupta R, Kumar A, Sharma MC, Sarkar C, Goyal V, Bihari M. Autopsy always teach and tell: neurodegeneration with brain iron accumulation: a case report. *Indian J Pathol Microbiol* 2007; 50: 792–794.
44. Szumowski J, Bas E, Gaarder K, Schwarz E, Erdogmus D, Hayflick S. Measurement of brain iron distribution in Hallervorden-Spatz syndrome. *J Magn Reson Imaging* 2010; 31: 482–489
45. Aquino D, Bizzi A, Grisoli M, et al. Age-related iron deposition in the basal ganglia: quantitative analysis in healthy subjects. *Radiology* 2009; 252: 165–172
46. Kumar N, Boes CJ, Babovic-Vuksanovic D, Boeve BF. The 'eye-of-the-tiger' sign is not pathognomonic of the PANK2 mutation. *Arch Neurol* 2006; 63: 292–3.
47. Molinuevo JL, Munoz E, Valldeoriola F, Tolosa E (1999) The eye of the tiger sign in cortical-basal ganglionic degeneration. *Mov Disord* 14:169–171.
48. Streker K, Hesse S, Wegner F, et al. Eye of the Tiger sign in multiple systems atrophy. *Eur J Neurol* 2007; 14: e1–2.
49. Davie CA, Baker GJ, Machado C, Miller DH, Lees AJ (1997) Proton magnetic spectroscopy in Steele Richardson Olszewski syndrome. *Mov Disord* 12:767–771
50. Erro R, Amboni M, Vitale C, Longo K, Rocco M, Russo C, Pappatà S, Brunetti A, Barone P. The "eye of the tiger" sign in pure akinesia with gait freezing. *Neurol Sci*. 2011 Aug;32(4):703-5. doi: 10.1007/s10072-011-0589-1
51. Koeppe A.H., Dickson A.C. Iron in the Hallervorden-Spatz syndrome. *Pediatr. Neurol.* 2001;25:148-155
52. Kruer M.C., Hiken M., Gregory A., Malandrini A., Clark D., Hogarth P., Grafe M., Hayflick S.J., Woltjer R.L. Novel histopathologic findings in molecularly-confirmed pantothenate kinase-associated neurodegeneration. *Brain* 2011;134:947-958.
53. Rossi D, De Grandis E, Barzaghi C, Mascaretti M, Garavaglia B, Zanotto E, Morana G, Biancheri R. Early-onset neurodegeneration with brain iron accumulation due to PANK2 mutation. *Brain Dev.* 2012 Jun;34(6):536-8
54. Rock CO, Karim MA, Zhang YM, Jackowski S. The murine pantothenate kinase (Pank1) gene encodes two differentially regulated pantothenate kinase isozymes. *Gene*. 2002;291:35–43.
55. Hörtnagel K, Prokisch H, Meitinger T. An isoform of hPANK2, deficient in pantothenate kinase-associated neurodegeneration, localizes to mitochondria. *Hum. Mol. Genet.* 2003;12:321–327.
56. Kotzbauer PT, Truax AC, Trojanowski JQ, Lee VMY (2005) Altered neuronal mitochondrial coenzyme A synthesis in neurodegeneration with brain iron accumulation caused by abnormal processing, stability, and catalytic activity of mutant pantothenate kinase 2. *J Neurosci* 25: 689–698.
57. Zhang Y-M, Rock CO, Jackowski S (2006) Biochemical properties of human pantothenate kinase 2 isoforms and mutations linked to pantothenate kinase-associated neurodegeneration. *J Biol Chem* 281: 107–114
58. Johnson MA, Kuo YM, Westaway SK, Parker SM, Ching KH, et al. (2004) Mitochondrial localization of human PANK2 and hypotheses of secondary iron accumulation in pantothenate kinase-associated neurodegeneration. *Ann N Y Acad Sci* 1012: 282–298.
59. Spector R, Johanson CE. Vitamin transport and homeostasis in mammalian brain: focus on Vitamins B and E. *J. Neurochem.* 2007;103:425–438.
60. Daugherty M, Polanuyer B, Farrell M, Scholle M, Lykidis A, De Crécy-Lagard V, Osterman A. Complete reconstitution of the human coenzyme A biosynthetic pathway via comparative genomics. *J. Biol. Chem.* 2002;277:21431–21439.
61. Skrede S, Halvorsen O. Mitochondrial biosynthesis of coenzyme A. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 1979;91:1536–1542.
62. Siudeja K, Srinivasan B, Xu L, Rana A, De Jong J, Nollen EAA, Jackowski S, Sanford L, Hayflick S, Sibon OCM. Impaired Coenzyme A metabolism affects histone and tubulin acetylation in *Drosophila* and human cell models of pantothenate kinase associated neurodegeneration. *EMBO Mol. Med.* 2011;3:1–12.

63. Kuo YM, Duncan JL, Westaway SK, Yang H, Nune G, Xu EY, Hayflick SJ, Gitschier J. Deficiency of pantothenate kinase 2 (*Pank2*) in mice leads to retinal degeneration and azoospermia. *Hum. Mol. Genet.* 2005;14:49–57.
64. Hong BS, Senisterra G, Rabeh WM, Vedadi M, Leonardi R, et al. (2007) Crystal structures of human pantothenate kinases. Insights into allosteric regulation and mutations linked to a neurodegeneration disorder. *J Biol Chem* 282: 27984–27993
65. Alfonso-Pecchio A, Garcia M, Leonardi R, Jackowski S. Compartmentalization of mammalian pantothenate kinases. *PLoS One.* 2012;7(11):e49509.
66. Leonardi R, Rock CO, Jackowski S, Zhang Y-M. Activation of human mitochondrial pantothenate kinase 2 by palmitoylcarnitine. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2007;104:1494–1499.
67. Gasser SM, Ohashi A, Daum G, Bohni PC, Gibson J, Reid GA, Yonetani T, Schatz G. Imported mitochondrial proteins cytochrome b2 and cytochrome c1 are processed in two steps. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1982;79:267–271.
68. Van Loon AP, Brandli AW, Pesold-Hurt B, Blank D, Schatz G. Transport of proteins to the mitochondrial intermembrane space: the 'matrix-targeting' and the 'sorting' domains in the cytochrome c1 presequence. *EMBO J.* 1987;6:2433–2439.
69. Zhang YH, Tang BS, Zhao AL, Xia K, Long ZG, Guo JF, et al. Novel compound heterozygous mutations in the *PANK2* gene in a Chinese patient with atypical pantothenate kinase-associated neurodegeneration. *Mov Disord* 2005;207:819-21
70. Perry T.L., Norman M.G., Yong V.W., Whiting S., Crichton J.U., Hansen S., Kish S.J. Hallervorden-Spatz disease: cysteine accumulation and cysteine dioxygenase deficiency in the globus pallidus. *Ann. Neurol.* 1985;18:482-489
71. Poli M., Derosas M., Luscieti S., Cavadini P., Campanella A., Verardi R., Finazzi D., Arosio P. Pantothenate kinase-2 (*Pank2*) silencing causes cell growth reduction, cell-specific ferroportin upregulation and iron deregulation. *Neurobiol. Dis.* 2010;39:204-210
72. Zecca L., Youdim M.B., Riederer P., Connor J.R., Crichton R.R. Iron, brain ageing and neurodegenerative disorders. *Nat. Rev. Neurosci.* 2004;5:863-873
73. Leoni V, Strittmatter L, Zorzi G, Zibordi F, Dusi S, Garavaglia B, Venco P, Caccia C, Souza AL, Deik A, Clish CB, Rimoldi M, Ciusani E, Bertini E, Nardocci N, Mootha VK, Tiranti V. Metabolic consequences of mitochondrial coenzyme A deficiency in patients with *PANK2* mutations. *Mol Genet Metab.* 2012 Mar;105(3):463-71
74. Kazek B, Jamroz E, Gencik M, Jezela Stanek A, Marszal E, Wojaczynska-Stanek K. A novel *PANK2* gene mutation: clinical and molecular characteristics of patients short communication. *J Child Neurol.* 2007;22:1256–1259
75. Burke RE, Fahn S, Marsden CD, et al. Validity and reliability of a rating scale for the primary torsion dystonias. *Neurology* 1985; 35: 73–77.
76. Castelnau P, Cif L, Valente EM, et al. Pallidal stimulation improves pantothenate kinase-associated neurodegeneration. *Ann Neurol* 2005; 57: 738–41.
77. Isaac C, Wright I, Bhattacharyya D, Baxter P, Rowe J. Pallidal stimulation for pantothenate kinase associated neurodegeneration. *Arch Dis Child* 2008; 93: 239–40.
78. Timmermann L, Pauls KA, Wieland K, et al. Dystonia in neurodegeneration with brain iron accumulation: outcome of bilateral pallidal stimulation. *Brain* 2010; 133: 701–12.
79. Gordon N. Pantothenate kinase-associated neurodegeneration (Hallervorden-Spatz syndrome). *Eur J Pediatr Neurol*, 6 (2002), pp. 243–247
80. Albright A.L., Barry M.J, Fasick P., Barron W, Shultz B.. Continuous intrathecal baclofen infusion for symptomatic generalized dystonia. *Neurosurgery*, 38 (1996), pp. 934–938
81. Tsukamoto H, Inui K., Taniike M, et al. Case of Hallervorden-Spatz disease: Progressive and intractable dystonia controlled by bilateral thalamotomy. *Brain Dev*, 14 (1992), pp. 269–272

82. Umemura A., Jaggi J.L., Dolinskas C.A, Stern M.B, Baltuch G.H. Pallidal deep brain stimulation for longstanding severe generalized dystonia in Hallervorden-Spatz syndrome Case report. *J Neurosurg*, 100 (2004), pp. 706–709
83. Magarinos-Ascone C.M., Regidor I., Martinz-Castrillo J.C., Gomez-Galan M., Figueiras-Mendez R.. Pallidal stimulation relieves myoclonus-dystonia síndrome. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*, 76 (7) (2005), p. 904
84. Sharma M.C., Aggarwal N., Bihari M., Goyal V., Gaikwed S., Vaishya S, et al. Hallervorden spatiz disease: MR and pathological findings of a rare case. *Neurol India*, 53 (2005), pp. 102–104
85. Umemura A, Jaggi J.L., Dolinskas C.A, Stern M.B, Baltuch G.H. Pallidal deep brain stimulation for longstanding severe generalized dystonia in Hallervorden–Spatz síndrome. *J Neurosurg*, 100 (4) (2004), p. 706
86. Ching KH, Westaway SK, Gitschier J, Higgins JJ, Hayflick SJ. HARP syndrome is allelic with pantothenate kinase-associated neurodegeneration. *Neurology*. 2002;58:1673–4.
87. Houlden H, Lincoln S, Farrer M, Cleland PG, Hardy J, Orrell RW. Compound heterozygous PANK2 mutations confirm HARP and Hallervorden-Spatz syndromes are allelic. *Neurology*. 2003;61:1423–6
88. Hogarth P, Gregory A, Kruer MC, Sanford L, Wagoner W, Natowicz MR, Egel RT, Subramony SH, Goldman JG, Berry-Kravis E, Foulds NC, Hammans SR, Desguerre I, Rodriguez D, Wilson C, Diedrich A, Green S, Tran H, Reese L, Woltjer RL, Hayflick SJ. New form of neurodegeneration with brain iron accumulation: features associated with MPAN. *Neurology*. 2013;80:268–75
89. Gregory A, Hayflick SJ. Pantothenate Kinase-Associated Neurodegeneration. 2002 Aug 13 [Updated 2013 Jan 31]. In: Pagon RA, Adam MP, Bird TD, et al., editors. *GeneReviews™* [Internet]. Seattle (WA): University of Washington, Seattle; 1993-2013. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK1490/>
90. Terespolsky D, Clarke JT, Blaser SI. Evolution of the neuroimaging changes in fucosidosis type II. *J Inherit Metab Dis*. 1996;19:775–81
91. Medina L, Chi TL, DeVivo DC, Hilal SK. MR findings in patients with subacute necrotizing encephalomyelopathy (Leigh syndrome). *AJNR Am J Neuroradiol*. 1990;154:1269–74.
92. Scarano V, Pellecchia MT, Filla A, Barone P. Hallervorden-Spatz syndrome resembling a typical Tourette syndrome. *Mov Disord*. 2002;17:618–20
93. Danek A, Jung HH, Melone MA, Rampoldi L, Broccoli V, Walker RH. Neuroacanthocytosis: new developments in a neglected group of dementing disorders. *J Neurol Sci*. 2005;229-230:171–86.
94. Danek A, Walker RH. Neuroacanthocytosis. *Curr Opin Neurol*. 2005;18:386–92.
95. Margolis RL, O'Hearn E, Rosenblatt A, Willour V, Holmes SE, Franz ML, Callahan C, Hwang HS, Troncoso JC, Ross CA. A disorder similar to Huntington's disease is associated with a novel CAG repeat expansion. *Ann Neurol*. 2001;50:373–80
96. Stevanin G, Camuzat A, Holmes SE, Julien C, Sahloul R, Dode C, Hahn-Barma V, Ross CA, Margolis RL, Durr A, Brice A. CAG/CTG repeat expansions at the Huntington's disease-like 2 locus are rare in Huntington's disease patients. *Neurology*. 2002;58:965–7
97. Schneider SA, Hardy J, Bhatia KP (2009) Iron accumulation in syndromes of neurodegeneration with brain iron accumulation 1 and 2: causative or consequential? *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 80:589–590
98. Polster BJ, Yoon MY, Hayflick SJ. Characterization of the human PANK2 promoter. *Gene*. 2010 Oct 1;465(1-2):53-60
99. Wilfred BR, Wang WX, Nelson PT. Energizing miRNA research: a review of the role of miRNAs in lipid metabolism, with a prediction that miR-103/107 regulates human metabolic pathways. *Mol Genet Metab*. 2007 Jul;91(3):209-17.