

## Estudio Genealógico del Insomnio Familiar Letal en el País Vasco

*Genealogical study of Fatal Familial Insomnia in the Basque Country*

Ana B. Rodríguez-Martínez<sup>1</sup>, Juan J. Zarranz<sup>2</sup>, Antón Digón<sup>3</sup>, Luis Galdós<sup>4</sup>, Agustín Ibáñez<sup>4</sup> y Marian M. de Pancorbo<sup>1,5</sup>

1 Departamento de Zoología y Biología Celular. Facultad de Farmacia, Universidad del País Vasco. España

2 Servicio de Neurología, Hospital de Cruces. Baracaldo, Vizcaya. España.

3 Servicio de Neurología, Hospital de Santiago. Vitoria-Gasteiz, Álava. España.

4 Servicio de Neurología, Hospital de Txagorritxu. Vitoria-Gasteiz, Álava. España

5 Servicio General de Investigación Genómica: Banco de ADN y Departamento de Z. y Biología Celular A., Facultad de Farmacia, Universidad del País Vasco UPV/EHU, 01006 Vitoria-Gasteiz, Araba, Spain

**Correspondencia:** Marian M. de Pancorbo. Servicio General de Investigación Genómica: Banco de ADN. Facultad de Farmacia, Universidad del País Vasco UPV/EHU. 01006 Vitoria-Gasteiz, Araba, Spain. Tel: + 34 945.01.30.45. Fax: + 34 945.01.30.14. E-mail: marian.mdepancorbo@ehu.es

**Palabras clave:** Insomnio Letal Familiar, ancestro común, genealogía, enfermedad priónica, gen PRNP, archivos parroquiales.

**Key words:** Fatal Familial Insomnia, common ancestor, genealogy, prion disease, PRNP gene, parish registers.

### Resumen

El Insomnio Letal Familiar es una forma familiar de enfermedad priónica causada por la mutación D178N-129M que presenta un patrón de herencia autosómico dominante. Estudios previos de nuestro grupo de investigación, mediante el análisis de marcadores microsatélites apuntan hacia la existencia de un efecto fundador de la mutación D178N-129M en el País Vasco. Por tanto, el objetivo del presente trabajo es realizar un estudio genealógico de los casos de ILF para buscar el ancestro común de los casos descritos en el País Vasco. La búsqueda genealógica ha permitido agrupar los casos estudiados en dos grandes pedigrís que se remontan hasta los siglos XVI y XVII. Las limitaciones propias de la búsqueda en archivos parroquiales no han permitido encontrar el ancestro común para ambas genealogías.

## Abstract

Fatal Familial Insomnia constitutes an inherited form of prion disease caused by the D178N-129M mutation which shows an autosomal dominant pattern of inheritance. Previous research work of our group by means of microsatellite markers suggest a founder effect of the D178N-129M mutation in the Basque Country. Therefore, the aim of this work is to perform a genealogical study of FFI cases in order to look for the common ancestor in this region. The genealogical search allowed us to cluster the cases into two main pedigrees dated back to XVI and XVII centuries. The limiting factor related to the search within ancient documents has not lead us to find the common ancestor of the two pedigrees found.

## Introducción

El Insomnio Letal Familiar (ILF) es una forma familiar de enfermedad priónica causada por la mutación D178N en asociación con metionina en el polimorfismo del codón 129 del gen PRNP (Goldfarb *et al.*, 1992). La mutación se transmite con un patrón de herencia autosómico dominante y una de las principales características es que la mayoría de los casos expresa la enfermedad en la edad adulta, lo que permite haber tenido descendencia y haber podido transmitir la mutación a los descendientes con un 50% de probabilidad.

El ILF se clasifica como una enfermedad rara, ya que el número de casos descritos hasta el año 2002 en once países (EUROCID) es muy bajo (n=66) (Kovacs *et al.*, 2005). En España, en el 2002 había descritos 28 (hasta octubre de 2007 la cifra había aumentado hasta 35) de los que aproximadamente el 50% (n=15) se localiza en el País Vasco (hasta octubre de 2007 la cifra había aumentado hasta 16) (Figura 1).



**Figura 1.** Distribución de los casos de ILF descritos en España hasta el 01 de octubre del año 2007. Datos obtenidos del Centro Nacional de Epidemiología (<http://www.isciii.es/htdocs/centros/epidemiologia>).

**Figure 1.** Regional distribution of FFI cases described in Spain until October, 2007. Data from the National Center of Epidemiology (<http://www.isciii.es/htdocs/centros/epidemiologia>).

En un estudio molecular previo de nuestro grupo de investigación, se analizaron STRs ligados al gen PRNP en casos de ILF registrados en el País Vasco (Rodríguez-Martínez *et al.*, 2005). La separación de moléculas haploides mediante la técnica de happy typing, permitió establecer que el haplotipo de microsatélites asociado a la mutación D178N-129M en 7 de los 9 casos (aparentemente no relacionados) era el mismo, sugiriendo por tanto, un efecto fundador de la mutación como causa del elevado número de casos descritos en esta región. La existencia de un efecto fundador implica que los casos previamente mencionados comparten un ancestro común. Por tanto, el objetivo del presente trabajo es realizar un estudio genealógico de los casos de ILF

para buscar el nexo común de todos los casos que portan el mismo haplotipo de microsatélites asociado a la mutación D178N-129M, y por tanto, el ancestro común en el País Vasco.

### Materiales y Métodos

Se realizó la búsqueda genealógica a partir de la información de doce casos, en diez de los cuales se analizó el haplotipo de STR asociado a la mutación según lo descrito en Rodríguez-Martínez *et al.*, 2005, y dos fueron diagnosticados retrospectivamente (Zarranz *et al.*, 2005a) (Tabla 1). La búsqueda genealógica se hizo a partir de dos tipos de información: comunicaciones personales y archivos parroquiales de bautismo, matrimonio y defunción. Los archivos parroquiales son muy útiles porque ofrecen una amplia información sobre fechas, lugares y familiares. Así, de los libros de bautizados podemos obtener desde información sobre la fecha de bautismo, el nombre del pueblo y el nombre de los padres en los archivos más sencillos, hasta la fecha completa de nacimiento, incluso a veces la hora, su legitimidad, santo abogado bajo cuyo patrocinio se encomienda, abuelos paternos y maternos, naturaleza y vecindad de los mismos, padrinos y testigos en los archivos más actuales. En los libros de casados, fundamentalmente en los actuales, se pueden encontrar datos sobre la fecha de la celebración del matrimonio, nombre, estado, edad y naturaleza de los contrayentes, así como el nombre y procedencia de sus padres y su consentimiento a la celebración del matrimonio, el nombre de los padrinos y testigos, el cumplimiento de los requisitos pedidos por el Concilio de Trento, y el grado de parentesco de los novios, con su correspondiente dispensa, en caso de que lo hubiere. Y en los libros de difuntos se puede obtener información desde la fecha del fallecimiento, nombre de la persona fallecida y si dejó alguna fundación piadosa en favor de su alma, en las partidas más sencillas; hasta el lugar de sepultura, padres, cónyuge e hijos, en su caso, causa de fallecimiento, si hizo testamento con cláusulas a favor de la Iglesia y si recibió los últimos sacramentos en su postrera enfermedad en los archivos más actuales (Vicario, 1988).

Dado que los archivos de acceso público son los que tienen una antigüedad de 75 años o superior, la búsqueda se comenzó a realizar a partir del lugar y la fecha aproximada de nacimiento (p.e: el año) de los abuelos de los casos objeto de estudio. La mayoría de los archivos consultados se encuentran centralizados en el Archivo Histórico Diocesano de Vitoria.

Referencia caso	Localización en el pedigrí	Descripción
1	(A) XII-1	Caso 2/IV-4 &
2	(A) XII-6	Caso C1*, Caso S-10#, Caso 7/IV-5\$
3	(A) XII-7	Caso 7/IV-10 \$&
4	(A) XII-8	Caso A1*, Caso S-08#, Caso 4/III-5\$
5	(A) XII-9	Caso A2*, Caso S-09#, Caso 4/III-6\$
6	(A) XIII-1	Caso D1*, Caso S-11#
7	(B) IX-2	Caso 10/III-2\$, Caso S-03♣
8	(B) IX-3	Caso 6/III-12\$, Caso S-04♣
9	(B) IX-6	Caso B2,* Caso S-05#, Caso 6/III-9\$
10	(B) VIII-11	Caso 6/II-5\$, Caso S-01♣
11	(B) VIII-13	Caso 6/II-7\$, Caso B1,* Caso S-02#
12	Sin pedigrí	Caso 12/III-1\$, Caso E1*, Caso S-12#

**Tabla 1.** Descripción de casos a partir de los que se ha realizado la búsqueda genealógica. El caso se identifica por su localización en las genealogías; entre paréntesis se indica el pedigrí al que pertenece el caso. La descripción hace referencia a la asignación de los casos aquí estudiados en los trabajos de investigación previos. Los casos previamente citados en Rodríguez-Martínez *et al.*, (2005) se indican con el símbolo (\*), los que han aparecido en Rodríguez-Martínez *et al.*, (2008) se indican con el símbolo (#), los estudiados en Zarranz *et al.*, (2005b) se indican con el símbolo (\$), los descritos en Zarranz *et al.*, (2005a) se indican con el símbolo(&) y los estudiados en Rodríguez-Martínez *et al* (manuscrito en preparación) se indican con (♣).

**Table 1.** Description of the cases from which the genealogical reconstruction has been realized. Each case is identified by his location in the genealogy; between parentheses the pedigree to which the case belongs. The description alludes to previous papers. The cases previously quoted in Rodríguez-Martínez *et al.* (2005) are indicated by the symbol (\*); those who have appeared in Rodríguez-Martínez *et al.* (2008) are indicated by the symbol (#); studied in Zarranz *et al.* (2005b) are indicated by the symbol (\$); studied in Zarranz *et al.* (2005a) are indicated by the symbol (&) and studied in Rodríguez-Martínez *et al.* (manuscript in preparation), are indicated with (♣).

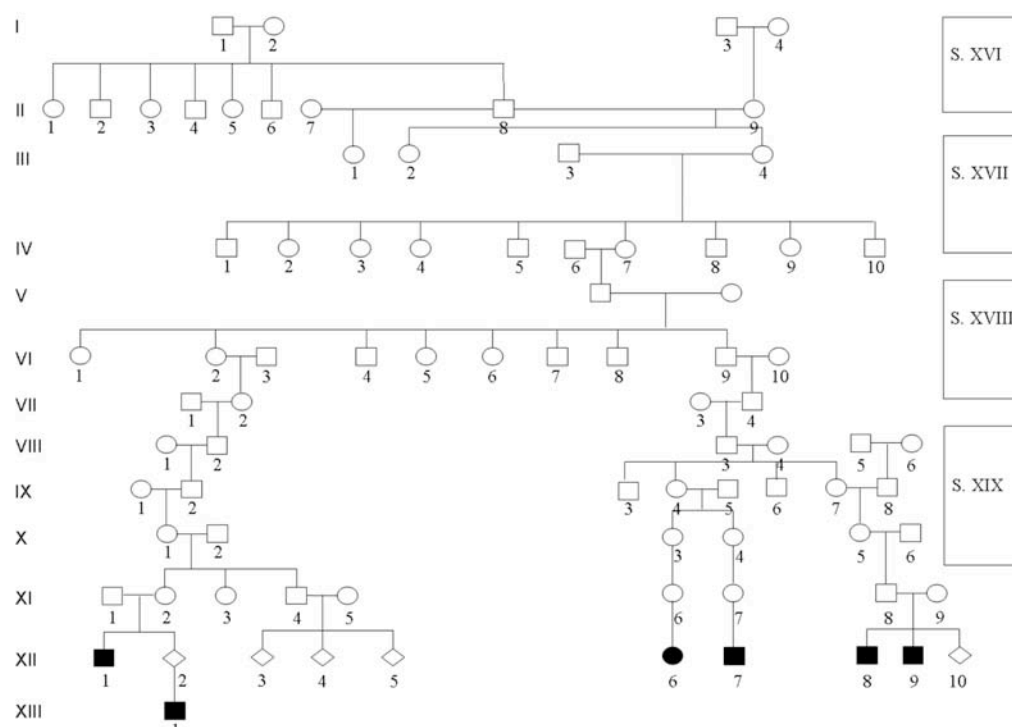
**Resultados.**

De los 12 casos, 11 fueron agrupados en dos grandes pedigríes (Figuras 2 y 3) cuyo origen se localiza en una pequeña región del sur del País Vasco (Norte de España). El caso 12 quedó sin situar en ninguna genealogía, ya que no se encontró la información referente a sus antepasados en los archivos consultados, sin embargo, se sabe que es natural de la misma región en donde se localizaron los dos pedigríes. Se consultaron más de 50 archivos bautismales, de matrimonio y de defunción y se recopilaron más de 150 casos distribuidos en 13 generaciones. Los pedigríes resultantes constituyen una pequeña representación de los individuos emparentados, ya que la búsqueda se ha centrado, no tanto en buscar todos los antepasados, sino en remontar generaciones hasta encontrar un nexo común.

En el pedigrí A (Figura 2) se remontó en la genealogía hasta mediados del siglo 16, y en ella se agruparon 6 de los 12 casos objeto de estudio. En el pedigrí B (Figura 3) se remontó hasta el siglo 17, y se agruparon en la misma a los otros cinco casos. Los ancestros comunes de los pedigríes encontrados no comparten apellidos idénticos pero se observa que se situaban en villas cercanas localizadas en una región del sur de Álava caracterizada por tener numerosos pueblos y villas de pequeño tamaño, no muy distantes entre sí.

En ambas genealogías se observó la movilidad de sus miembros a pueblos cercanos. Así, se observó que los matrimonios entre individuos nacidos en diferente pueblo solían trasladarse al pueblo del cónyuge varón en la mayoría de los casos. También se observa que la descendencia de los cónyuges solía ser muy numerosa (hasta 12 hijos por matrimonio), lo que en parte podría explicar el éxito de expansión de la mutación D178N-129M en esta región y el elevado número de casos encontrados en la actualidad.

Por tanto, la agrupación de los casos en dos grandes pedigríes localizados en villas muy cercanas sugiere la posible existencia de un ancestro común a todos los casos portadores del mismo haplotipo de STR asociado a la mutación.



**Figura 2.** Pedigrí A. Los círculos corresponden a individuos de género femenino, y los cuadrados a individuos de género masculino. Para conservar la privacidad de los familiares no afectados de los individuos objeto de estudio (con relleno negro), éstos se han indicado con un rombo.

**Figure 2.** Pedigree A. Circles correspond to females, and squares to males. To preserve the privacy of not affected relatives, these have been indicated by a rhomb.

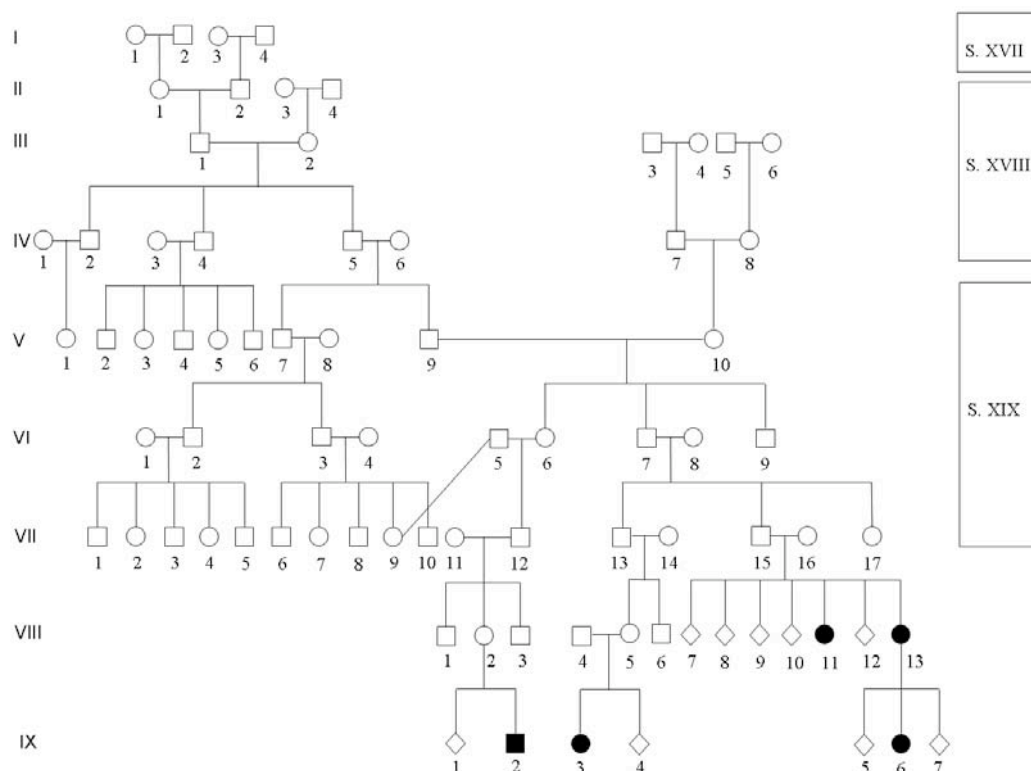


Figura 3. Pedigrí B.  
Figure 3. Pedigree B.

### Discusión

La búsqueda genealógica ha permitido confirmar, en parte, los datos moleculares del trabajo previo de nuestro grupo de investigación, en el que explicábamos que la alta incidencia de casos de ILF en el País Vasco era atribuible a un efecto fundador de la mutación D178N-129M (Rodríguez-Martínez *et al.*, 2005) en esta región. Se ha conseguido establecer un nexo común entre 6 casos aparentemente no relacionados por un lado (Figura 2), y entre otros cinco casos, por el otro (Figura 3). Aunque no se ha podido encontrar la conexión entre los dos pedigrís observados, la posibilidad de que haya un nexo de unión entre ellos y con el caso 12 es muy elevada, ya que al ser el ILF una enfermedad genética que se hereda de manera autosómico dominante, es de esperar que los marcadores que se transmiten junto con la mutación sean idénticos en individuos pertenecientes a la misma genealogía. El encontrar un haplotipo de STR idéntico en todos los casos analizados, junto con el hecho de que sendos pedigrís se localizan en áreas geográficas muy próximas, parece confirmar, por tanto, que los dos pedigrís encontrados y el caso 12 presentan un ancestro común.

Las dos genealogías obtenidas en el presente trabajo se localizan en pequeñas villas o pueblos muy cercanos entre sí situados en el sur del País Vasco. Esta pequeña región ha estado situada en un enclave fronterizo y de paso obligado a tierras riojanas para mercaderes y viajeros, lo que podría haber favorecido el movimiento de gentes entre pueblos cercanos, explicando la movilidad encontrada dentro de cada pedigrí y entre ellos.

Resultados similares han sido encontrados en el estudio de la mutación D178N-129M en Alemania (Harder *et al.*, 1999). En éste, el estudio genealógico de casos de ILF de la región de Sajonia (sureste de Alemania) mostró la agrupación de los casos estudiados en tres grandes pedigrís que abarcaban más de 800 individuos en 12 generaciones cuyos ancestros se remontaban hasta el siglo 17. Aunque no encontraron evidencias de relación entre estas tres

genealogías, los autores argumentaron que su ubicación en la misma región geográfica y el hecho de encontrar apellidos idénticos en la ramas más ancestrales de dos de ellas sugerían que, al menos éstas presentaban el mismo ancestro común. En nuestro caso, la diferencia en los apellidos no descarta la posibilidad de que los dos pedigrís compartan un ancestro común, ya que la transmisión de la mutación no está ligada al sexo y puede ser transmitida tanto por vía materna como por vía paterna, siendo, por tanto, independiente de la transmisión del apellido. En el caso de Harder *et al.*, 1999, el hallazgo de apellidos idénticos podría estar indicando posiblemente que el ancestro común de los dos pedigrís era más bien cercano al momento en el que detuvieron la búsqueda.

La metodología basada en la investigación en archivos sacramentales presenta ciertas limitaciones. Primero, la conservación de los propios documentos, que en ocasiones no sólo dependía de las condiciones de conservación en las parroquias, sino también de robos, incendios y saqueos ocurridos principalmente durante el transcurso de guerras. Se documenta que una etapa especialmente devastadora para los archivos sacramentales fue durante la guerra de la Independencia (1808-1814), período en el que las tropas francesas, además de apropiarse de vasos sagrados, alhajas y otras obras de arte, destruyeron parte de los archivos de las parroquias situadas en los caminos rurales (Vicario, 1988). Segundo, la recopilación de los archivos sacramentales en libros parroquiales. A partir del Concilio de Trento (períodos discontinuos entre 1545 y 1563), se hace obligatoria la recopilación de los documentos (partidas de bautismo, matrimonio y defunción) en cada parroquia en forma de libros o encuadernaciones. Esta norma fue llegando de manera paulatina a los pequeños pueblos y villas por lo que es difícil encontrar en todos los pueblos archivos escritos en años anteriores y siguientes a la instauración de dicha norma. Tercero, el sistema de accesibilidad de los datos. Todos los archivos se encuentran microfilmados con el fin de evitar el deterioro de los documentos originales. Sin embargo, sólo son de acceso público aquellos archivos que tengan una antigüedad superior a 75 años. La limitación de acceso se encuentra cuando se necesita consultar un archivo antiguo que está contenido en el mismo microfilm que uno moderno.

La búsqueda genealógica ha permitido confirmar que muchos de los casos de ILF con relación de parentesco desconocida, pertenecen a la misma genealogía, y por extensión, presentan un ancestro común. La ausencia de conexión entre los dos pedigrís hallados, no indica que no exista un ancestro común a todos los casos de ILF estudiados ya que la información aportada por los marcadores moleculares indica que los casos que portan el mismo haplotipo asociado a la mutación pertenecen al mismo linaje. Prueba de ello es la relación encontrada entre los casos 4, 5 con 3 y 6 y entre éstos con los casos 1 y 2, en el pedigrí A; y entre el caso 7 con 8, 9, 10 y 11, en el pedigrí B. Por tanto, estos hallazgos permiten evidenciar lo que nuestro grupo de investigación sugería inicialmente con el análisis de STR, es decir, que la alta frecuencia de casos de ILF registrados en el País Vasco es debida a la existencia de un ancestro común a todos ellos, y por ende, a un efecto fundador de la mutación D178N-129M en esta región. El estudio genealógico apoya los datos moleculares, sin embargo, las dificultades que este tipo de estudios conlleva, principalmente por la limitación de archivos, hacen que el estudio molecular constituya una mejor aproximación para el estudio de efectos fundadores. La documentación del ancestro común nos habría aportado datos únicamente del momento en el que posiblemente existía la enfermedad, pero no de si era el origen, si era más antigua, o si podría ser el medio de introducción de un evento fundador de otra población. La información aportada por los marcadores moleculares (STR y SNP) sí permitirá realizar una estima de la edad del ancestro común más reciente y de establecer la relación entre los casos de ILF del País Vasco y los registrados en otras regiones de España y del mundo.

**Agradecimientos.** Especial agradecimiento a las comunicaciones personales de los familiares y a los neurólogos de la red sanitaria del País Vasco por la recopilación de datos. Agradecemos a la sección de consultas del Archivo Diocesano Histórico de Álava por su atención para la obtención de la información y a Tina Fernández del Pozo por su colaboración en el trabajo. Este trabajo ha sido financiado por el proyecto CICYT, EET-2002/05165. A.B. Rodríguez-Martínez ha sido financiada por una beca predoctoral (BFI02.1) del Departamento de Educación, Universidades e Investigación del Gobierno Vasco.

## **Bibliografía**

- Goldfarb, L. G., Petersen, R. B., Tabaton, M., Brown, P., LeBlanc, A. C., Montagna, P., Cortelli, P., Julien, J., Vital, C., and Pendelbury, W. W., 1992, Fatal familial insomnia and familial Creutzfeldt-Jakob disease: disease phenotype determined by a DNA polymorphism, *Science*, 258, 806-808.
- Harder, A., Jendroska, K., Kreuz, F., Wirth, T., Schafranka, C., Karnatz, N., Theallier-Janko, A., Dreier, J., Lohan, K., Emmerich, D., Cervos-Navarro, J., Windl, O., Kretzschmar, H. A., Nurnberg, P., and Witkowski, R., 1999, Novel twelve-generation kindred of fatal familial insomnia from Germany representing the entire spectrum of disease expression, *Am. J. Med. Genet.*, 87, 311-316.
- Kovacs, G. G., Puopolo, M., Ladogana, A., Pocchiari, M., Budka, H., van Duijn, C., Collins, S. J., Boyd, A., Giulivi, A., Coulthart, M., Delasnerie-Laupretre, N., Brandel, J. P., Zerr, I., Kretzschmar, H. A., Pedro-Cuesta, J., Calero-Lara, M., Glatzel, M., Aguzzi, A., Bishop, M., Knight, R., Belay, G., Will, R., and Mitrova, E., 2005, Genetic prion disease: the EUROCDJ experience, *Hum. Genet.*, 118, 166-174.
- Rodríguez-Martínez, A. B., Alfonso-Sánchez, M. A., Pena, J. A., Sánchez-Valle, R., Zerr, I., Capellari, S., Calero, M., Zarranz, J. J., and de Pancorbo, M. M., 2008, Molecular evidence of founder effects of fatal familial insomnia through SNP haplotypes around the D178N mutation, *Neurogenetics*,
- Rodríguez-Martínez, A. B., Barreau, C., Couprie, I., Yague, J., Sánchez-Valle, R., Galdos-Alcelay, L., Ibanez, A., Digon, A., Fernández-Manchola, I., Goizet, C., Castro, A., Cuevas, N., Álvarez-Alvarez, M., de Pancorbo, M. M., Arveiler, B., and Zarranz, J. J., 2005, Ancestral origins of the prion protein gene D178N mutation in the Basque Country, *Hum. Genet.*, 117, 61-69.
- Vicario, M., 1988, Censo-guía de los archivos parroquiales de la Diócesis de Burgos, 791pp.
- Zarranz, J. J., Digon, A., Atares, B., Arteagoitia, J. M., Carrera, N., Fernández-Manchola, I., Fernández-Martínez, M., Fernández-Maiztegui, C., Forcadás, I., Galdos, L., Ibanez, A., Lezcano, E., Martí-Masso, J. F., Mendibe, M. M., Urtasun, M., Uterga, J. M., Saracibar, N., Velasco, F., and Gonzalez, d. G., 2005a, Familial prion diseases in the Basque Country (Spain), *Neuroepidemiology*, 24, 103-109.
- Zarranz, J. J., Digon, A., Atares, B., Rodríguez-Martínez, A. B., Arce, A., Carrera, N., Fernández-Manchola, I., Fernández-Martínez, M., Fernández-Maiztegui, C., Forcadás, I., Galdos, L., Gomez-Esteban, J. C., Ibanez, A., Lezcano, E., Lopez, d. M., Martí-Masso, J. F., Mendibe, M. M., Urtasun, M., Uterga, J. M., Saracibar, N., Velasco, F., and de Pancorbo, M. M., 2005b, Phenotypic variability in familial prion diseases due to the D178N mutation, *J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry*, 76, 1491-1496.