

Strokovni prispevek/Professional article

# POPULACIJSKA ŠTUDIJA NAJPOGOSTEJŠIH DEMIELINIZACIJSKIH BOLEZNI CHARCOT-MARIE-TOOTH V SLOVENIJI

## THE MOST FREQUENT TYPES OF DEMYELINATIVE CHARCOT-MARIE-TOOTH DISEASE IN SLOVENIA: A POPULATION-BASED STUDY

Lea Leonardis,<sup>1</sup> Janez Zidar,<sup>1</sup> Borut Peterlin<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Inštitut za klinično nevrofiziologijo, Klinični center, Zaloška 7, 1525 Ljubljana

<sup>2</sup>Laboratorij za molekularno genetiko, Ginekološka klinika, Klinični center, Štajmerjeva 3, 1525 Ljubljana

Prispelo 2003-03-03, sprejeto 2003-07-22; ZDRAV VESTN 2003; 72: 561-5

**Gljučne besede:** dedne bolezni; incidenca; prevalenca; polinevropatije

**Izvleček** – Izhodišča. Demielinizacijska oblika bolezni Charcot-Marie-Tooth (CMT1) nastane najpogosteje zaradi podvojitve kromosomskega odseka 17p11.2 (CMT1A). Klinično različna, genetsko pa s CMT1A povezana demielinizacijska bolezen je dedna nagnjenost h kompresijskim parezom (DNKP), ki je posledica delecije istega dela 17. kromosoma. Želeli smo ugotoviti, kako pogosti sta ti dve mutaciji pri slovenskih bolnikih, kolikokrat pa so vzrok bolezni točkaste mutacije v genih za koneksin 32 (Cx32), protein nič (P<sub>0</sub>), periferni mielinški protein 22 (PMP22) in v N-myc navzdol urejanem genu 1 (NDRG1).

Metode. Podvojitve in delecije 17p11.2 smo ugotavljali s sondami pLR7.8, pNEA102 in pVAW409R3a ter z začetnimi oligonukleotidi RM-11 in Mfd-41. Točkaste mutacije smo dokazovali s sekvencioniranjem.

Rezultati in zaključki. Podvojitve 17p11.2 smo dokazali pri 76% bolnikov s CMT1 iz različnih družin, delecijo pa pri vseh pregledanih bolnikih z DNKP. Pri 8% družin smo odkrili točkasto mutacijo na P<sub>0</sub>. Pri romski družini smo ugotovili mutacijo na NDRG1. Prevalenca CMT1A v Sloveniji je po naši oceni 4,1/100.000 prebivalcev, kar je ob upoštevanju omejitve študije najverjetneje manj od dejanske (okrog 10/100.000 po virih za nekatere druge populacije). Prevalenco DNKP ocenjujemo na 2,2 na 100.000 prebivalcev (tuja literatura: 2-16/100.000).

## Uvod

Značilnosti demielinizacijskih bolezni Charcot-Marie-Tooth tip 1 (CMT1), imenovanih tudi dedne motorične in senzorične nevropatije tip 1 (DMSN1), so atrofije in šibkost mišic na distalnih delih okončin, motnje senzibilnosti v obliki rokavic in nogavic, oslABLJENI ali neizvabljeni miotatični refleksi ter visoko obokana stopala in kladivasto oblikovani prsti na nogah. Prevajanje v motoričnih in senzoričnih aksonih perifernih živcev je

**Key words:** hereditary diseases; incidence; prevalence; polyneuropathies

**Abstract** – Background. The most common genetic defect in demyelinating type of Charcot-Marie-Tooth disease (CMT1) is dominantly inherited duplication of 17p11.2 (CMT1A). Phenotypically rather different, but genetically related to CMT1A, is hereditary neuropathy with liability to pressure palsies (HNPP) which is linked to deletion of the same part of chromosome 17 as duplication in CMT1A. The aim of our study was to analyse the frequency of duplication and deletion of 17p11.2 in CMT1 and HNPP Slovene patients, respectively. We also sought for eventual point mutations in connexin-32 (Cx32), protein zero (P<sub>0</sub>), peripheral myelin protein-22 (PMP22) genes and in N-myc downstream-regulated gene 1 (NDRG1).

Methods. Probes pVAW409R3a, pNEA102 and pLR7.8 were used for Southern blotting and primers RM-11 in Mfd-41 for the polymerase chain reaction. Sequencing was used for the demonstration of eventual point mutations.

Results and conclusions. The duplication or deletion of 17p11.2 was found in 76% and 100% of unrelated CMT1 and HNPP patients, respectively. Point mutations in P<sub>0</sub> were found in 8% of unrelated patients. In a Gypsy family, point mutation in NDRG1 was revealed. The prevalence of CMT1A in Slovenia was found to be 4.1/100,000 which is most likely less than true average (10/100,000 elsewhere). The Slovene prevalence of HNPP was calculated at 2.2/100,000 (2-16/100,000 elsewhere).

upočasnjeno, patohistološko pa so spremembe v njih vidne kot obsežna demielinizacija z remielinizacijo in tudi kot izguba aksonov. Posledica ponavljane demielinizacije in remielinizacije so čebulaste tvorbe (namnožene Schwannove celice), zaradi katerih so živci lahko zadebeljeni tudi na otip (1). Gre za dedno bolezen, ki nastane zaradi mutacij v različnih genih, najpogosteje pa zaradi podvojitve odseka kromosoma 17p11.2. To obliko imenujemo tip A (CMT1A) (2-5) in je večinoma posledica nepravilne rekombinacije homologne DNK

med položajno neenakima pomnoženima elementoma CMT1A (REP-element CMT1A) (3, 6–8). Redkeje je CMT1 posledica dominantno podedovanih točkastih mutacij genov za periferni mielinški protein 22 (*PMP22*) na 17p11.2, ki jo prav tako imenujemo CMT1A, za protein nič (*P<sub>0</sub>*) na 1q22–23 (CMT1B), za koneksin 32 (*Cx32*) na Xq13.1 (CMTX) (9–13) in za faktor zgodnje rasti 2 na 10q21.1–q22.1 (early growth response 2 gene, *EGR2*) (CMT1D) (14). Znanе so tudi avtosomsko recesivne oblike te bolezni (CMT4A, CMT4B, CMT4C, CMT4Lom, CMT4R-Russe, CMT4E, CMT4F), ki pa so sorazmerno redke. Oblika CMT-Lom je bila ugotovljena le pri Romih. Mutacija je na *N-myc navzdol urejanem genu 1* (*NDRG1*) na 8. kromosomu.

Dedna nagnjenost h kompresijskim parezam (DNKP), za katero je značilna večja občutljivost perifernih živcev na mehanski pritisk, je posledica delecije istega dela kromosoma, ki je pri CMT1A podvojen (15). Tudi DNKP je genetsko heterogena bolezen, saj pri nekaterih družinah nastane zaradi točkastih mutacij na genu *PMP22*, pri drugih pa mutacija sploh ni veza na 17. kromosom (16).

Več naštetih vzrokov CMT1 je zelo redkih, saj gre za mutacije, ki so značilne le za posamezne družine. Pri večini bolnikov pa je vzrok bolezni le nekaj najpogostejših mutacij.

Prevalenca vseh bolnikov s CMT ne glede na patomorfološki tip je okrog 15 na 100.000 prebivalcev (17), navedbe pa segajo od 4,7 do 41 na 100.000 prebivalcev (18–20). Delež CMT1 je približno 70% vseh CMT (21). Ker je CMT1 v približno 70% posledica podvojitve 17p11.2 (3), je prevalenca CMT1A približno 10 (2–20) na 100.000 prebivalcev (17).

Namen našega dela je bil oceniti, kako razširjene so CMT1A, DNKP in nekatere druge pogostejše oblike CMT1 v Sloveniji, ter ugotoviti njihove vzroke, t.j. pogostost podvojitve in delecije 17p11.2 ter točkastih mutacij v genih *Cx32*, *P<sub>0</sub>*, *PMP22* in *NDRG1*.

## Bolniki in metode

### Izbira bolnikov

Na pregled smo povabili vse bolnike, ki so bili z diagnozo CMT1 ali DNKP do 1. 1. 1996 vpisani v Register živčnomišičnih bolnikov pri Inštitutu za klinično nevrofiziologijo v Ljubljani. Klinični pregled in elektrofiziološke meritve smo opravili v sklopu rutinskih kontrolnih pregledov v času od 1. 1. do 1. 11. 1996. Pridružili smo še tiste bolnike s CMT1 ali DNKP, ki so bili do 1. 3. 1998 v naši nevrološki ambulantni pregledani prvič. Da bi zajeli tudi asimptomatske bolnike, smo na pregled vedno povabili tudi vse člane družin, iz katerih so bili bolniki. Preiskovance smo podrobno seznanili s potekom in pomenom raziskave. Svoje soglasje za sodelovanje, posebej še za odvzem krvi za molekularnogenetske preiskave, so nato dali tudi pisno. Študijo je odobrila Komisija za medicinsko etiko dne 21. 12. 1995.

Vsi bolniki s CMT1, vključeni v študijo, so izpolnjevali elektrofiziološka merila za demielinizacijsko polinevropatijo (22). Ta merila so bila primarni vključitveni pogoj, ker omogočajo relativno zanesljivo razlikovanje demielinizacijskih polinevropatij od aksonskih, elektrofiziološki pregled pa lahko zanesljivo odkrije tudi asimptomatske bolnike. Poleg teh meril je bil vključitveni pogoj še značilna klinična slika pri vsaj enem članu družine. V študijo smo vključili tudi sporadične primere, če je le bil pri bolniku viden značilni fenotip.

Vključitvena merila za DNKP so bila vsaj en značilen akutni zagon bolezni s sliko neboleče kompresijske mononevropatije, elektrofiziološki dokaz bloka v prevajanju v tej fazi bolezni in elektrofiziološki znaki generalizirane demielinizacijske polinevropatije (23). Pri sporadičnih primerih so morala biti izpolnjena vsa merila, pri asimptomatskih sorodnikih teh bol-

nikov pa je za vključitev zadoščala že zadovoljitev zadnjega pogoja.

### Metode

#### Podvojitev in delecija 17p11.2

*Analiza s sondama pNEA102 in pLR7.8.* Genomsko DNK smo po cepitvi z encimom *EcoRI* (GIBCO) hibridizirali s sondo pNEA102 (7). Hibridizacija s sondo pLR7.8 je potekala po cepitvi genomske DNK z encimoma *EcoRI* in *SacI* (Boehringer) (24). Fragmente DNK smo v obeh primerih ločili z elektroforezo na 0,8-odstotnem agaroznem gelu ter jih prenesli na pozitivno naelektreno najlonsko membrano (Amersham Hybond N+) z metodo po Southernu. Hibridizirali smo jih z radioaktivno (<sup>32</sup>P) označeno sondo (25).

*Analiza s sondo pVAW409R3a.* DNK smo razcepili z restriktivnim encimom *MspI* (GIBCO). Fragmente smo ločili z elektroforezo na enodstotnem agaroznem gelu in jih po načelu kapilarnega vleka prenesli na pozitivno naelektreno najlonsko membrano (Boehringer, Mannheim). Membrano smo hibridizirali z denaturirano in z biotinom (BIOPRIME DNA labelling sistem, GIBCO) označeno sondo pVAW409R3a (26). Za detekcijo smo uporabili PhotoGene Nucleic Acid Detection System (GIBCO), ki vsebuje streptavidin alkalnofosfatazni konjugat. Membrano smo inkubirali 3–5 ur na sobni temperaturi in ji nato za 30–120 min. izpostavili film Fuji Medical X-Ray RX (PhotoGene Nucleic Acid Detection System. Instruction Manual, Cat. No. 8192SA, Life Technologies, BRL) (25).

*Analiza z metodo PCR.* Reakcijska raztopina za PCR je vsebovala 6 ng/μl genomske DNK, 0,2 μM začetnikov (za biosintezo začetnih oligonukleotidov, angl. primers) RM-11 ali Mfd-41, 200 μM dNTP, 4 mM MgCl<sub>2</sub>, 50 mM KCl, 10 mM Tris-HCl in 2 E/100 μl Taq DNK polimeraze (Pharmacia) (26, 27). Po začetni 6-minutni denaturaciji pri 94 °C je reakcija z začetnimi oligonukleotidi RM-11 vsebovala 19 ciklov 1-minutne denaturacije pri 94 °C, 45-sekundnega pripenjanja začetnih oligonukleotidov pri 55 °C in 1-minutne sinteze DNK pri 72 °C. Zadnja pomnožitev je trajala 10 minut pri 72 °C. Vsak od 19 ciklov reakcije z začetnimi oligonukleotidi Mfd-41 je po začetni 6-minutni denaturaciji pri 94 °C vseboval 1-minutno denaturacijo DNK pri 94 °C, 2-minutno pripenjanje začetnih oligonukleotidov pri 55 °C in 2-minutno sintezo DNK pri 72 °C. Zaključna sinteza DNK je potekala 10 minut pri 72 °C. Reakcijske produkte smo ločili na 14-odstotnem poliakrilamidnem gelu. Fragmente na gelu smo barvali s srebrom (25).

Intenziteto specifično označenih fragmentov po Southernu in metodi PCR smo merili denzitometrično s sistemom WIN-CAM Image Analysis (CYBERTECH). Denzitometrični razmerji fragmentov 3 : 2 oziroma 2 : 1 sta značilni za podvojitev oziroma delecijo 17p11.2.

*Analiza točkastih mutacij v genih P<sub>0</sub>, Cx32, PMP22 in NDRG1.* Pri bolnikih s CMT1, pri katerih podvojitve nismo ugotovili, smo analize nadaljevali z iskanjem mutacij v genih P<sub>0</sub>, Cx32 in PMP22. Pri bolnikih s senzorenevravno naglušnostjo, ki so bili člani družine romske skupnosti, smo analizirali tudi *NDRG1* na 8q24. Z metodo, ki temelji na konformacijskem polimorfizmu enoveržne DNK (Single Strand Conformation Polymorphism, SSCP), smo v standardnih okoliščinah analizirali gene P<sub>0</sub>, Cx32 in PMP22. Uporabljeni so bili znani začetni oligonukleotidi (10, 28, 29).

Vzorci PCR so bili naneseni na gel 1xMDE (FMC BioProducts, Rockland, ME). Elektroforeza je potekala pri sobni temperaturi, srebrenje pa v standardnih pogojih (29). Če je bila hitrost potovanja vzorca PCR spremenjena, je sledilo avtomatsko sekvencioniranje.

Področje 8q24 je bilo pregledano z 8 mikrosatelitskimi markerji (D8S558, D8S378, D8S529, 326CA2, 189CA17, 474CA1,

D8S256, D8S1462) (29). Mutacija R148X v *NDRG1* je bila določena z metodo PCR (31, 33).

## Rezultati

### Bolniki

K sodelovanju smo povabili 102 bolnika iz 52 družin s CMT1 ter 44 bolnikov iz 24 družin z DNKP. Mnogi od njih niso želeli sodelovati, tako da smo pregledali 74 bolnikov s CMT1 iz 38 družin in 22 bolnikov z DNKP iz 11 družin. Devet bolnikov iz sicer znanih družin s CMT1 ni prišlo na odvzem krvi za molekularnogenetske preglede.

### Molekularnogenetske analize

**Podvojitve in delecija 17p11.2.** Podvojitve in delecije odseka 17p11.2 smo analizirali s sondami VAW409R3a, pNEA102 in pLR7.8 ter z začetnimi oligonukleotidi RM-11 in Mfd-41. Vsak od preiskovancev je bil pregledan z vsaj dvema različnima metodama. Bolniki iste družine se glede na podvojitve ali delecije 17p11.2 med seboj niso razlikovali.

Podvojitve 17p11.2 smo dokazali pri 58 bolnikih s CMT1 iz 29 različnih družin (sl. 1), nismo pa je ugotovili pri 13 bolnikih iz sedmih družin. Pri treh bolnikih iz dveh različnih družin so se rezultati tudi po večkratnem ponavljanju analiz z isto sondo razlikovali: enkrat so kazali podvojitve, drugič pa ne. Delecije 17p11.2 smo dokazali pri vseh 22 bolnikih z DNKP iz 11 družin (sl. 1).

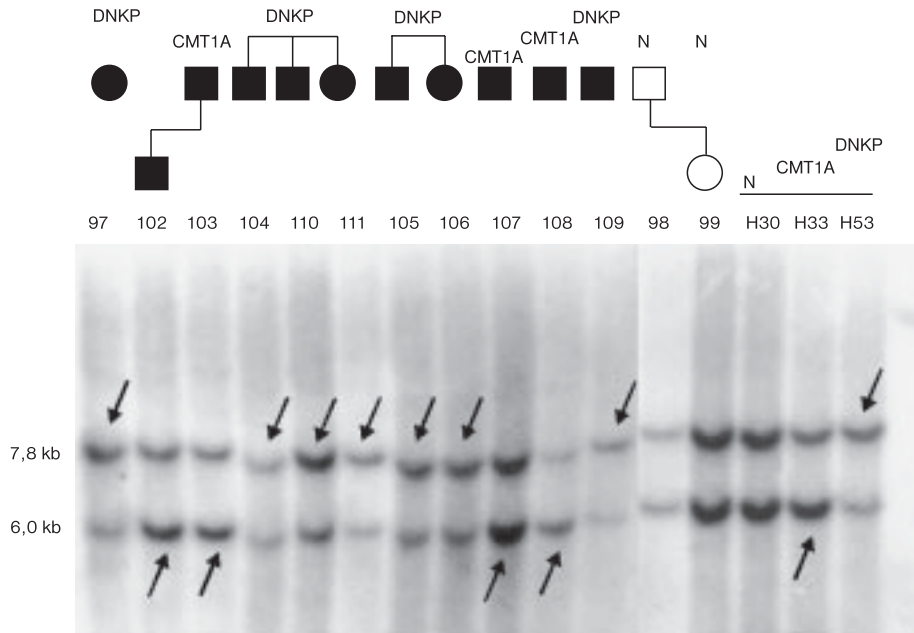
V štirih družinah je podvojitve nastala pri bolnikih na novo, starši je niso imeli (starševstva pa z genetskimi analizami nismo potrjevali). V drugih štirih družinah je bila mutacija sporadična. Ker so starši v teh primerih bodisi že umrli ali pa niso želeli sodelovati, nismo mogli sklepati, ali gre za novo nastale mutacije. Po anamnestičnih podatkih so bili sorodniki teh štirih bolnikov zdravi.

**Točkaste mutacije v genih *P<sub>0</sub>*, *Cx32*, *PMP22* in *NDRG1*.** Pri bolnikih, pri katerih podvojitve nismo potrdili, smo genetsko pregledali še gene *P<sub>0</sub>*, *Cx32*, *PMP22* in *NDRG1*. Pri sedmih bolnikih iz treh družin smo odkrili točkasto mutacijo v *P<sub>0</sub>*. Pri 2 od njih (D20, D47) je bila ugotovljena mutacija Arg98His (CGC→CAC), pri eni družini (D12) pa Ser78Leu (TCG→TTG). Mutacije v *Cx32* in *PMP22* smo z veliko verjetnostjo izključili. Pri romski družini (D25) s tremi bolniki smo ugotovili mutacijo v *NDRG1* (29, 31). Pri petih družinah (6 bolnikov) mutacije nismo našli.

### Razširjenost CMT1 in DNKP v Sloveniji

V Register živčnomišičnih boleznih Slovenije sta bila ob zaključku študije vključena 102 bolnika s CMT1, po podatkih Zavoda RS za statistiko pa je imela Slovenija na dan 1. 3. 1998 1.983.351 prebivalcev; izračun torej pokaže prevalenco CMT1 5,1 na 100.000 prebivalcev.

Molekularnogenetsko smo podvojitve 17p11.2 dokazali pri 58 bolnikih. Če tem prištejemo še 9 bolnikov iz istih družin, ki



Sl. 1. Hibridizacija s sondo pNEA102 z metodo po Southernu. Pri bolnikih z dedno motorično in senzorično neuropatijo, pri katerih je podvojitve kromosomskega odseka 17p11.2-12 (*CMT1A*) posledica nepravilne rekombinacije DNK na ranljivem kraju ali distalno od njega, je denzitometrično razmerje med 7,8- in 6,0-kilobaznima fragmentoma 2 : 3, pri bolnikih z dedno nagnjenostjo h kompresijskim parezom (*DNKP*) pa 2 : 1. Puščice označujejo kolone, v katerih smo denzitometrično potrdili omenjeni kvantitativni razmerji fragmentov. Nad elektroforeznimi kolonami so številčne oznake preiskovancev. Pri bolnikih, označenih s številkami 97, 104, 110, 111, 105, 106 in 109, smo našli klinično sliko DNKP, medtem ko so imeli bolniki, označeni s 102, 103, 107 in 108, sliko CMT1. Številki 98 in 99 označujeta zdrava sorodnika (N), oznake H30, H33 in H53 pa primerjalne (kontrolne) vzorce: H30 zdrav preiskovanec, H33 bolnik s CMT1A in H53 bolnik z DNKP. kb – kilobaza.

Figure 1. Hybridisation with pNEA102 probe by Southern blot. In hereditary motor and sensory neuropathy patients with 17p11.2 duplication (*CMT1A*) following unequal DNA recombination at or distal to »CMT1A hot spot«, densitometric ratio between 7.8 and 6.0 kilobases is 2 : 3, while in patients with hereditary liability to pressure palsies (*DNKP*) it is 2 : 1. Arrows indicate the columns in which quantitative densitometric differences were established. Numbers at the top of columns correspond to patients, healthy relatives or controls: 97, 104, 110, 111, 105, 106, and 109 – *DNKP* patients; 102, 103, 107, and 108 – Charcot-Marie-Tooth type 1 (*CMT1*) patients; 98 and 99 – healthy relatives (N); H30, H33, and H53 – healthy control, control patient with *CMT1A*, and control patient with *DNKP*, respectively. kb – kilobase.

molekularnogenetsko niso bili pregledani, to pomeni, da je imelo kar 81% od vseh pregledanih bolnikov s CMT1 podvojitve 17p11.2. Z ekstrapolacijo na celotno število registriranih bolnikov ugotovimo, da je prevalenca boleznih CMT1A v Sloveniji približno 4,1 na 100.000 prebivalcev.

V Sloveniji je bilo na dan 1. 3. 1998 registriranih 44 bolnikov z DNKP, kar da prevalenco 2,2 na 100.000 prebivalcev. Pri vseh 22 pregledanih bolnikih smo genetsko potrdili delecijo 17p11.2.

### Razpravljanje

Prevalenca bolnikov s CMT1A v Sloveniji – 4,1 na 100.000 prebivalcev – je nekoliko manjša od povprečne prevalenca v svetu (10 na 100.000 prebivalcev) (17). Zavedamo se, da je to število le približna ocena dejanskega stanja in da utegne biti prevalenca v resnici večja. Na pregled smo namreč povabili le bolnike, ki so vključeni v Register živčnomišičnih boleznih, in tiste, ki so v času študije prišli na prvi nevrološki ali elektrofiziološki

pregled v našo ambulanto. Prijavljanje v Register je neobvezno, zato vse družine s to boleznijo vanj gotovo niso vpisane. Poleg tega se vsi sorodniki že odkritih bolnikov vabilu na pregled niso odzvali niti v okviru te študije niti prej. Ugotovljeno je tudi, da je približno 20% bolnikov s CMT1A asimptomatskih (34). V naši študiji je bilo kar 8 (14%) takih bolnikov.

Ugotovljena prevalenca bolnikov z DNKP z delecijo 17p11.2 je 2,2 na 100.000 prebivalcev. Tuje populacijske študije te bolezni navajajo prevalenco med 2 in 16 na 100.000 prebivalcev (35, 36).

Glede na to, da je omenjena mutacija pri DNKP posledica recipročne nepravilne rekombinacije med homologno DNK na istem odseku kromosoma kot pri CMT1A in glede na to, da točkaste mutacije v genu *PMP22* obsegajo le majhen delež CMT1A, je mogoče pričakovati, da je število bolnikov s tema dvema boleznima približno enako. Vzrokov, da je DNKP pri nas manj, je lahko več, dejansko število pa je najverjetneje večje od ugotovljenega. Značilen nenaden začetek bolezni v obliki neboleče mononevropatije se pojavi le pri 64–78% bolnikov (34, 38). Kar pri tretjini bolnikov lahko bolezen daje sliko bodisi brahialne plexopatije ali pa kronične polinevropatije (37–39). Ne nazadnje je bilo tudi ugotovljeno, da je do 25% bolnikov z DNKP, ki je posledica delecije 17p11.2, asimptomatskih in brez kliničnih znakov bolezni, 40% bolnikov pa bolezenskih znakov nima za tako resne, da bi šli k zdravniku (38). Mnogi do diagnoze najbrž ne pridejo tudi zaradi tega, ker se mišična šibkost popravi že v nekaj urah do nekaj mesecev (40). Poleg tega je bolnikov z DNKP lahko manj kot s CMT1A tudi zato, ker so gamete z delecijo 17p11.2 morda manj vitalne (38).

Podvojitve in delecija 17p11.2 sta najpogostejši mutaciji pri bolnikih s CMT1 oziroma DNKP. V študiji, ki je vključevala več evropskih centrov, so podvojitve dokazali pri 71% od 819 sorodstveno nepovezanih bolnikov s CMT1 (4). V sodelujočih centrih se je delež podvojitve razlikoval, in sicer od 34–100%. Delecija je bila v tej študiji dokazana pri 84% (50–100%) od 156 pregledanih sorodstveno nepovezanih bolnikov z DNKP. Med slovenskimi nesorodnimi bolniki s CMT1 smo podvojitve dokazali v 76%, pri bolnikih z DNKP pa delecijo v 100%. V primerjavi s skupno oceno evropske študije so vrednosti v slovenski populaciji nekoliko višje, kar bi morda lahko razložili s strožjimi kliničnimi in elektrofiziološkimi vključitvenimi merili. Razlike v vključitvenih merilih so morda lahko tudi razloga za precej različne rezultate evropskih raziskovalnih centrov.

Klinična slika CMT1 je v 10–21% primerov posledica točkastih mutacij v genu *Cx32* na kromosomu X, v 1% točkastih mutacij v genu *P<sub>0</sub>* na kromosomu 1, še redkeje pa točkastih mutacij v genu *PMP22* na kromosomu 17 (20, 41). V naši študiji smo mutacijo na *P<sub>0</sub>* odkrili kar v 8%, medtem ko smo sicer pogostejše mutacije na *Cx32* z veliko verjetnostjo izključili. Med našimi bolniki mutacij na *Cx32* morda nismo ugotovili zato, ker imajo bolniki, predvsem pa bolnice s to obliko bolezni prevajanje v perifernem živčevju razmeroma malo upočasnjeno in zato taki preiskovanci naših vključitvenih pogojev sploh niso izpolnili. Mutacije na *PMP22* pa so zelo redke, zato jih pri tako majhnem številu bolnikov, kot je bilo naše, skoraj nismo mogli pričakovati. Mutacija na *NDRG1* je značilna za romsko populacijo bolnikov z CMT1 in senzorično naglušnostjo. Doslej je bila ugotovljena pri bolgarski, romunski, madžarski, nemški, francoski, italijanski in španski romski populaciji bolnikov (33). Odkritje enake mutacije pri slovenskih Romih nakazuje, da je mutacija stabilna in da je nastala že pred razselitvijo Romov (33, 42–44).

## Literatura

1. Dyck PJ, Thomas PK. Peripheral neuropathy. Philadelphia: W. B. Saunders Company, 1993: 1094–114.
2. Hoogendijk JE, Hensels GW, Gabreels-Festen AAWM et al. De-novo mutation in hereditary motor and sensory neuropathy type 1. *Lancet* 1992; 339: 1081–2.
3. Wise CA, Garcia C, Davis SN et al. Molecular analyses of unrelated Charcot-Marie-Tooth (CMT) disease patients suggest a high frequency of the CMT1A duplication. *Am J Hum Genet* 1993; 53: 853–63.
4. Nelis E, Broeckhoven C, De Jonghe P et al. Estimation of the mutation frequencies in Charcot-Marie-Tooth disease type 1 (CMT1) and hereditary neuropathy with liability to pressure palsies (HNPP): a European collaborative study. *Eur J Hum Genet* 1996; 4: 25–33.
5. Vance JM, Barker D, Yamaoka LH et al. Localization of Charcot-Marie-Tooth disease type 1a (CMT1A) to chromosome 17p11.2. *Genomics* 1991; 9: 623–8.
6. Raeymaekers P, Timmerman V, Nelis E et al. Duplication in chromosome 17p11.2 in Charcot-Marie-Tooth neuropathy type 1a (CMT1a). *Neuromusc Disord* 1991; 1: 93–7.
7. Pentao L, Wise CA, Chinault AC, Patel PI, Lupski JR. Charcot-Marie-Tooth type 1A duplication appears to arise from recombination at repeat sequences flanking the 1.5 Mb monomer unit. *Nat Genet* 1992; 2: 292–300.
8. Chance PF, Abbas N, Lensch MW et al. Two autosomal dominant neuropathies result from reciprocal DNA duplication/deletion of a region on chromosome 17. *Hum Molec Genet* 1994; 2: 223–8.
9. Valentijn LJ, Baas F, Wolterman RA et al. Identical point mutations of *PMP-22* in Trembler-J mouse and Charcot-Marie-Tooth disease type 1A. *Nature Genet* 1992; 2: 288–91.
10. Roa BB, Garcia CA, Suter U et al. Charcot-Marie-Tooth disease type 1A. Association with a spontaneous point mutation in the *PMP22* gene. *N Engl J Med* 1993; 329: 96–101.
11. Bird TD, Ott J, Giblett ER. Evidence for linkage of Charcot-Marie-Tooth disease to the Duffy locus on chromosome 1. *Am J Hum Genet* 1982; 34: 388–94.
12. Hayasaka K, Himoro M, Wang Y et al. Structure and chromosomal localisation of the gene encoding the human myelin protein zero (MPT). *Genomics* 1993; 17: 755–8.
13. Bergoffen J, Trofatter J, Pericak-Vance MA, Haines JL, Chance PF, Fischbeck KH. Linkage localization of X-linked Charcot-Marie-Tooth disease. *Am J Hum Genet* 1993; 52: 312–8.
14. Warner LE, Mancias P, Butler IJ et al. Mutations in the early growth response 2 (*EGR2*) gene are associated with hereditary myelinopathies. *Nature Genet* 1998; 18: 382–4.
15. Chance P, Alderson MK, Leppig K et al. DNA deletion associated with hereditary neuropathy with liability to pressure palsies. *Cell* 1993; 72: 143–51.
16. Mariman ECM, Gabreels-Festen AAWM, von Beersum SEC et al. Evidence for genetic heterogeneity underlying hereditary neuropathy with liability to pressure palsies. *Hum Genet* 1994; 93: 151–6.
17. Bird TD. Charcot-Marie-Tooth Neuropathy Type 1. *Gen Rev* (<http://www.geneclinics.org/servlet/access?id=888890&key=qUwdb4CPJCSQ&gry=INSERTGRY&fcm=y&fw=ytRB&filename=/profiles/cmt1/index.html>), 10. 6. 2003.
18. Emery AEH. Population frequencies of inherited neuromuscular diseases – A world survey. *Neuromusc Disord* 1991; 1: 19–29.
19. Hoogendijk JE, de Visser M. Hereditary motor and sensory neuropathy types I and II (Charcot-Marie-Tooth disease). In: Vinken PJ, Bruyn GW, Klawans HL eds. *Handbook of clinical neurology. Hereditary neuropathies and spinocerebellar atrophies*. Amsterdam: Elsevier Science Publishers BV, 1991: 186–7.
20. Skre H. Genetic and clinical aspects of Charcot-Marie-Tooth disease. *Clin Genet* 1974; 6: 98–118.
21. Harding AE, Thomas PK. Genetic aspects of hereditary motor and sensory neuropathy (types I and II). *J Med Genet* 1980; 17 (3): 29–36.
22. Research criteria for diagnosis of chronic inflammatory demyelinating polyneuropathy (CIDP). *Neurology* 1991; 41: 617–8.
23. Dumitru D. *Electrodiagnostic medicine*. Philadelphia: Hanley & Belfus, 1995: 768–9.
24. Reiter LT, Murakami T, Koeuth T et al. A recombination “hot spot” responsible for two inherited peripheral neuropathies is located near a mariner transposon-like element. *Nature Genet* 1996; 12: 288–97.
25. Leonardis L. Molekularna genetika demielinizirane dedne motorične in senzorične nevropatije. Magistrsko delo. Ljubljana: Medicinska fakulteta, 1997.
26. Lupski JR, de Oca-Luna RM, Slaugenhaupt S et al. DNA duplication associated with Charcot-Marie-Tooth disease type 1A. *Cell* 1991; 66: 219–32.
27. Weber J, Kwitek AE, May PE, Wallace MR, Collins FS, Ledbetter DH. Dinucleotide repeat polymorphisms at the D17S250 and D17S261 loci. *Nucl Acids Res* 1990; 18: 4640.
28. Nelis E, Timmerman V, De Jonghe P et al. Rapid screening of myelin genes in CMT1 patients by SSCP analysis: identification of new mutations and polymorphisms in the *P0* gene. *Hum Genet* 1994; 94: 653–7.
29. Bergoffen J, Scherer SS, Wang S et al. Connexin mutations in X-linked Charcot-Marie-Tooth disease. *Science* 1993; 262: 2039–42.
30. Nelis E, Warner LE, De Vriendt E, Chance PF, Lupski JR, Van Broeckhoven C. Comparison of single-strand conformation polymorphism and heteroduplex analysis for detection of mutations in Charcot-Marie-Tooth type 1

- disease and related peripheral neuropathies. *Eur J Hum Genet* 1996; 4: 329-33.
31. Butinar D, Zidar J, Leonardis L et al. Hereditary auditory, vestibular, motor and sensory neuropathy in a Slovenian Roma (Gypsy) kindred. *Ann Neurol* 1999; 46: 36-44.
  32. Kalaydjieva L, Gresham D, Gooding R et al. N-myc downstream-regulated gene 1 is mutated in hereditary motor and sensory neuropathy-Lom. *Am J Hum Genet* 2000; 67: 47-58.
  33. Kalaydjieva L, King R, Gresham D et al. Hereditary motor and sensory neuropathy Lom. *Acta Myol* 2001; 20: 192-201.
  34. Harding AE. From the syndrome of Charcot, Marie and Tooth to disorders of peripheral myelin proteins. *Brain* 1995; 118: 809-18.
  35. Nelis E, Van Broeckhoven C, De Jonghe P et al. Estimation of the mutation frequencies in Charcot-Marie-Tooth disease type 1 and hereditary neuropathy with liability to pressure palsies: a European collaborative study. *Eur J Hum Genet* 1996; 4 (1): 25-33.
  36. Meretoja P, Silander K, Kalimo H, Aula P, Meretoja A, Savontaus ML. Epidemiology of hereditary neuropathy with liability to pressure palsies (HNPP) in south western Finland. *Neuromusc Disord* 1997; 7 (8): 529-32.
  37. Gouider R, Le Guern E, Gugenheim M et al. Clinical, electrophysiologic, and molecular correlations in 13 families with hereditary neuropathy with liability to pressure palsies and a chromosome 17p11.2 deletion. *Neurology* 1995; 45: 2018-23.
  38. Pareyson D, Scaiola V, Taroni F et al. Phenotypic heterogeneity in hereditary neuropathy with liability to pressure palsies associated with chromosome 17p11.2-12 deletion. *Neurology* 1996; 46: 1133-7.
  39. Tyson J, Malcolm S, Thomas PK, Harding AE. Deletions of chromosome 17p11.2 in multifocal neuropathies. *Ann Neurol* 1996; 39: 180-6.
  40. Le Guern E, Sturz F, Gugenheim M et al. Detection of deletion within 17p11.2 in 7 French families with hereditary neuropathy with liability to pressure palsies (HNPP). *Cytogenet Cell Genet* 1994; 65: 261-4.
  41. Ionasescu VV. Charcot-Marie-Tooth neuropathies: from clinical description to molecular genetics. *MuscleNerve* 1995; 18: 267-75.
  42. Kalaydjieva L, Hallmayer J, Chandler D et al. Gene mapping in Gypsies identifies a novel demyelinating neuropathy on chromosome 8q24. *Nat Genet* 1996; 14: 214-7.
  43. Kalaydjieva L, Nikolova A, Turnev I et al. Hereditary motor and sensory neuropathy-Lom, a novel demyelinating neuropathy associated with deafness in Gypsies. Clinical, electrophysiological and nerve biopsy findings. *Brain* 1998; 121: 399-408.
  44. Merlini L, Villanova M, Sabatelli P et al. Hereditary motor and sensory neuropathy Lom type in an Italian Gypsy family. *Neuromusc Disord* 1998; 8: 182-5.
-