

Pregledni prispevek/Review article

BOLEZEN CHARCOT-MARIE-TOOTH

CHARCOT-MARIE-TOOTH DISEASE

Lea Leonardis,¹ Janez Zidar,¹ Borut Peterlin²¹ KO Inštitut za klinično nevrofiziologijo, Klinični center, Zaloška 7, 1525 Ljubljana² Laboratorij za molekularno genetiko, Ginekološka klinika, Klinični center, Šlajmerjeva 3, 1525 Ljubljana

Prispelo 2003-03-03, sprejeto 2003-07-22; ZDRAV VESTN 2003; 72: 519–26

Ključne besede: dedne bolezni; molekularnogenetske preiskave; nevropatije; polinevropatije**Izvleček** – Izhodišča. Bolezen Charcot-Marie-Tooth (CMT) je pogosta dedna bolezen perifernega živčevja. Ima več oblik z značilno klinično sliko, elektrofiziološkimi značilnostmi in genetsko napako. V osnovi jih delimo na demielinizacijske (CMT1, CMT4) in aksonske (CMT2) ter na distalno motorično nevropatijo.

Zaključki. CMT se deduje avtosomsko dominantno, recesivno ali vezano na spolni kromosom X. Najpogostejše je posledica dominantno prenesene podvojitve kromosomskega odseka 17p11.2 in to obliko označujemo s CMT1A. V isto skupino sodijo še redkejša točkovna mutacije v genu za periferni mielin protein-22. CMT1B je povezana s točkastimi mutacijami v genu protein nič. CMT1C je vezana na kromosomski odsek 16p13.1–12.3. Točkaste mutacije v genu za faktor zgodnje rasti 2 (EGR2) uvrščamo v skupino CMT1D. Bolezen CMT je vezana tudi na kromosom X (CMTX), kjer se nahaja gen koneksin-32. Pri recesivno dednih demielinizacijskih oblikah (CMT4) je znana mutacija v genu za miotubularinu sorodni protein-2 (CMT4B), v genu N-myc navzdol urejani gen 1 (CMT4D), v genu EGR2 (CMT4E), in genu za periaksin (CMT4F). Pri aksonskih oblikah so pri CMT2A odkrili mutacije v genu KIF1beta, pri CMT2E so mutacije v genu za lahki neurofilament (NF-L), pri ostalih treh oblikah (CMT2B, CMT2D, CMT2F) so znane le mesta kromosomske okvare. V zaključku članka so kratke smernice za diagnostiko pri bolniku s CMT.

Uvod

Z eponimom Charcot-Marie-Tooth (CMT) označujemo skupino klinično podobnih dednih nevropatij, ki so patohistološko, predvsem pa genetsko raznovrstne. Sindrom so kot napredujočo podedovano atrofijo stopalnih in golenskih mišic prvi opisali Jean Martin Charcot, Pierre Marie in Howard Henry Tooth leta 1886 (1, 2). Patohistološko in elektrofiziološko so oblike bolezni CMT bodisi demielinizacijske bodisi aksonske polinevropatije, nekatere pa tudi nevropatije (med slednje sodijo distalne oblike spinalnih mišičnih atrofij). Molekularnogenetsko je bilo v zadnjih letih ugotovljeno, da različne mutacije v številnih genih povzročajo podoben klinični fenotip. Med dednimi nevropatijami je bolezen CMT najpogostejša. Njena prevalenca je približno 10 (4,7–41) na 100.000 prebivalcev (3–5).

Key words: hereditary diseases; molecular genetic tests; neuropathies; polyneuropathies**Abstract** – Background. Charcot-Marie-Tooth (CMT) disease is a common inherited disorder of the peripheral nervous system. In our paper, different types of CMT are described with their typical clinical pictures, electrophysiological signs and molecular genetic studies. CMT is classified as demyelinating and axonal type and distal motor neuropathy.

Conclusions. CMT can be of autosomal dominant, recessive and X-linked inheritance. The most frequent form of CMT is the result of the dominantly inherited duplication of chromosome 17p11.2 and is marked as CMT1A. The same group involves also rare patients with point mutation in the peripheral myelin protein-22 gene. CMT1B is associated with point mutations in protein zero gene. CMT1C is linked to chromosome 16p13.1–12.3. Patients with point mutations in early growth response 2 gene (EGR2) are included in group CMT1D. The disease can be also inherited X-linked (CMTX) with the mutations in connexin-32 gene. In autosomal recessive inherited demyelinating polyneuropathies (CMT4), mutations are found in the myotubularin-related protein-2 (CMT4B), N-myc downstream-regulated gene 1 (CMT4D), EGR2 (CMT4E), and in the periaksin (CMT4F) genes. In axonal inherited neuropathy, mutations are found in KIF1beta (CMT2A) and in light neurofilament (CMT2E) genes, other forms map to different chromosomal loci (CMT2B, CMT2D, CMT2F). Some suggestions for the diagnostic procedures of patients with CMT are given.

Razdelitev in fenotipske značilnosti CMT

Klinične značilnosti bolezni so predvsem počasi napredujoči atrofija in slabenje mišične moči in senzibilitete v distalnih delih udov (»motnje v obliki nogavic in rokavic«), oslabljeni ali neizvabljivi miotatični refleksi, visoko obokana stopala in klavasto oblikovani prsti na nogah.

Klinična prizadetost je dokaj različna. Pri bolnikih, ki so brez vsakih simptomov in kliničnih znakov, je mogoče bolezen ugotoviti le z molekularnogenetskimi preiskavami in z meritvami prevajanja po perifernem živčevju (če gre za demielinizacijsko obliko CMT). Pri drugih bolnikih pa so lahko klinični znaki zelo izraziti tako na distalnih kot na proksimalnih delih udov. Fenotipske razlike so ugotovili in opisali predvsem pri bolnikih iz različnih družin, klinična slika pa je lahko različna tudi pri bolnih sorodnikih in celo pri enojajčnih dvojčkih (6–

9). Tudi prevajanje po perifernih živcih je lahko različno opočasnjeno (10–12).

Bolezensko značilen fenotip je torej lahko posledica različnih polinevropatij in nevronopatij.

Če ima značilnosti demielinizacijske polinevropatije, gre za bolezen CMT tipa 1 (CMT1), ki je poznana tudi z imenoma dedna motorična in senzorična nevropatija tip I (DMSN I) in hipertrofična oblika CMT. Histopatološko so vidni znaki segmentne de- in remielinizacije ter čebulaste tvorbe na aksonih. Pri avtosomsko dominantni dedni obliki CMT1 so čebulaste tvorbe sestavljene iz koncentričnih plasti Schwannovih celic (13, 14), pri avtosomsko recesivno dednih oblikah pa večinoma iz zadebeljene bazalne lamine ali izvihane mielinske ovojnice (15, 16). Za aksonsko obliko CMT (CMT2) ali dedno motorično in senzorično nevropatijo tipa II (DMSN II) je značilna degeneracija aksonov brez segmentne demielinizacije. Elektrofiziološko je razlika po perifernih motoričnih in senzoričnih hitrosti prevajanja po perifernih živcih, saj demielinizacija prevajanje močno opočasni. Hardingova in sodelavci so ugotovili, da je prevajanje v medianem živcu pri bolezni CMT1 večinoma počasnejše od 38 m/s, pri bolezni CMT2 pa hitrejše. Pri tem so izvzete bolezni, vezane na kromosom X (14, 17).

Večja skupina oblik bolezni CMT je med nevronopatijami. Imenujejo se spinalna oblika CMT, distalna dedna motorična nevropatija (distalna DMN) ali distalna spinalna mišična atrofija (distalna SMA). Pri njih propadejo motorične celice v sprednjih hrbtenjačnih rogovih, senzibilnost pa ni prizadeta. Elektrofiziološko so zato vidni znaki denervacije v distalnih mišicah udov, prevajanje po perifernih motoričnih in senzoričnih živcih pa je normalno. Tudi histološka slika senzoričnih živcev je normalna (18).

Upoštevajoč klinično sliko, prevajanje po perifernem živčevju in histološke značilnosti, je bila do nedavno, do uveljavitve molekularnih genetskih preiskav, v veljavi tako imenovana Dyckova klasifikacija. Polinevropatije ali – kot jih je Dyck sam poimenoval – dedne motorične in senzorične nevropatije (DMSN) je razdelil v več skupin. Z DMSN tip 1 (DMSN1) je označil demielinizacijsko obliko bolezni ne glede na način dedovanja (avtosomsko dominantno ali recesivno oziroma vezano na kromosom X). Je najpogostejša, ima jo približno 70% bolnikov s CMT (17). Večinoma se pojavi v drugem ali tretjem desetletju starosti. Značilni sta počasi napredujoči atrofija in mišična oslabelelost distalnih delov sprva spodnjih in kasneje še zgornjih udov. Prve težave se kažejo pri hoji zaradi nestabilnih gležnjev in padajočih stopal. Senzibilitetne motnje so blage in brez pozitivnih senzoričnih fenomenov (npr. parestezij). Značilni so kladivasti prsti in obokana stopala, redka je skolioza. Pri 50% bolnikov so periferni živci na otip zadebeljeni. Pri bolnikih iz nekaterih družin je med znaki še esencialni tremor, in tako bolezensko entiteto so v preteklosti imenovali Roussy-Lévyjev sindrom. Motorične in senzorične prevodne hitrosti perifernih živcev so zelo majhne, večinoma med 10–20 m/s. Pogosto so nevrogrami zelo nizki, večinoma celo nezaznavni.

Aksonske oblike bolezni je Dyck imenoval DMSN tip 2 (DMSN2). Tudi v to skupino je bolnike uvrščal ne glede na način dedovanja bolezni. DMSN2 se pojavlja najpogosteje v drugem desetletju starosti. Po kliničnih znakih, simptomih, poteku in prognozi je podobna HMSN I, le da so zgornji udovi manj prizadeti, motnje senzibilitete in tremor so manj izraziti, miotatični refleksi so v poteku bolezni dlje izvajljivi, spremembe stopal so blažje in živci na otip niso zadebeljeni. Motorične in senzorične prevodne hitrosti so lahko normalne ali le zmerno zmanjšane.

Bolezen Déjèrine-Sottas (DSS), ki sta jo kot zelo hudo demielinizacijsko nevropatijo z avtosomsko recesivnim dedovanjem in začetkom kliničnih znakov že v zgodnjem otroštvu prva opisala Déjèrine in Sottas leta 1893 (19), je Dyck poimenoval DMSN tip 3 (DMSN3). Za bolezen je značilna huda mišična oslabelelost,

ki se najprej pokaže na spodnjih udih, kasneje na zgornjih, zjame pa tudi proksimalno mišičje. Praviloma jo spremlja arefleksija, lahko tudi psevdoatetoza in senzorična ataksija. Periferni živci so na otip zadebeljeni. Zaznavanje dotika, vibracije in položaja je hudo oslajeno, nekoliko manj zaznavanje bolečine. Funkcije avtonomnega živčevja so po navadi ohranjene. Pogosto je bolnik nizke postave, ima kifoskoliozo, deformacije rok in stopal. Kasneje so med diagnostična merila za DSS uvrstili še povišano koncentracijo beljakovin v cerebrospinalnem likvorju (20), hudo opočasneje prevajanje v perifernih živcih (hitrost pod 6–7 m/s) in značilen histološki izvid bioptičnega vzorca perifernega živca (živčna vlakna s čebulastimi tvorbami in z zelo malo mielina) (14, 21).

Refsumovo bolezen, pri kateri gre za motnjo v presnovi fitanske kisline, je Dyck poimenoval DMSN tip 4 (DMSN4).

V diagnostične kategorije DMSN tip 5, 6 in 7 so uvrščali bolnike, ki so poleg znakov, značilnih za motorično in senzorično polinevropatijo, imeli še znake prizadetosti drugih sistemov, npr. spastično ohromelost, atrofijo očesnega živca ali pigmentni retinitis (20, 22).

Genetsko razlikovanje CMT

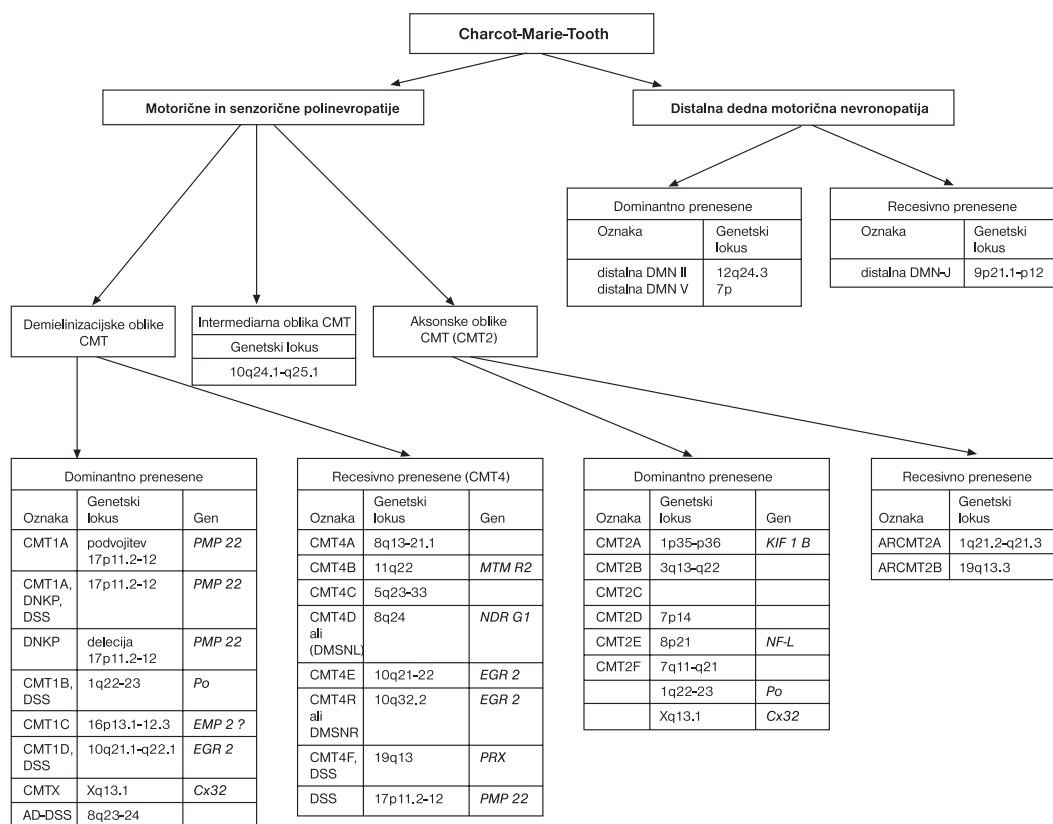
Izraza DMSN in CMT sta v uporabi za označevanje istih bolezni in sta zamenljiva. Kliniki pogosteje uporabljajo izraz DMSN, molekularni genetiki pa izraz CMT.

CMT se najpogosteje deduje avtosomsko dominantno, redkeje vezano na kromosom X, najredkeje pa avtosomsko recesivno. Dokler ni bilo molekularnogenetskih preiskav, se je zdelo, da je vsaka od omenjenih bolezenskih enot bolj ali manj homogena in zelo verjetno specifična vrsta bolezni. Šele v zadnjih letih se je pokazalo, da so fenotipsko sicer podobne bolezni lahko posledica različnih mutacij v istem genu in mutacij v razmeroma številnih različnih genih (sl. 1).

Demielinizacijske oblike CMT

Dominantno dedne demielinizacijske oblike CMT

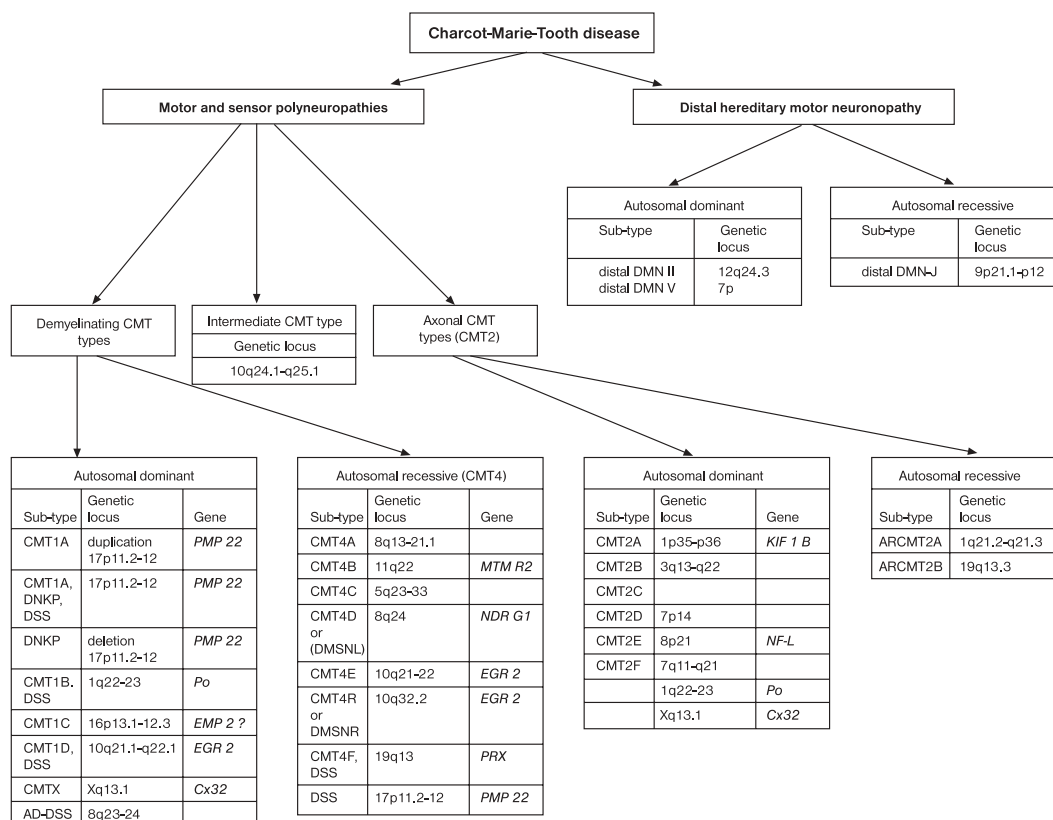
Najpogostejše, v povprečju pri približno 70% družin s člani, zbolelimi s CMT1, je genetska osnova bolezni podvojitve submikroskopskega, 1,5-megabaznega dela 17. kromosoma, ki nosi oznako 17p11.2 (23). Na tem odseku je poleg približno 30 drugih genov tudi gen za periferni mielinski protein 22 (*PMP22*). V tej bolezenski kategoriji, ki jo v imenu označuje črka A (**CMT1A**), so poleg bolnikov s podvojitvijo tudi bolniki z mutacijo gena *PMP22*. *PMP22* je transmembranski protein, ki se nahaja v zgoščenem delu mielina perifernih živcev. Sodeluje pri mielinizaciji in urejanju celične rasti in diferenciacije (24–34). Podvojeno območje 17p11.2 z obeh strani obdajata pomnožena elementa CMT1A (*repetitive CMT1A element*, *REP element CMT1A*), ki sta velika približno 30 kilobaz in sta glede zaporedja nukleotidov med seboj dokaj homologna. Nepravilna rekombinacija homologne DNK največkrat nastane med položajno neenakima REP-elementoma CMT1A (26, 29, 31, 35, 36) (sl. 2), kar povzroči podvojitve (in bolezen CMT1A) ali pa delečijo 17p11.2 (in dedno nagnjenost h kompresijskim parezom – DNKP). Mehanizem mutacije še ni povsem znan, zdi pa se, da je število kopij gena *PMP22* pomemben dejavnik v etiologiji bolezni. Gre za t. i. vpliv količine gena: trisomija poveča, hemizigotnost pa zmanjša njegovo ekspresijo. Nepravilna rekombinacija med neenakima REP-elementoma CMT1A nastane večinoma v predelu 557 baznih parov znotraj 1,7-kilobaznega ranljivega kraja *CMT1A* (1,7 kb *recombination hotspot CMT1A*) (37). Relativna verjetnost nastanka je 52–53 : 1 (38). Poleg sekvenčne identičnosti proksimalnega in distalnega ranljivega kraja homolognih DNK, ki je več kot 98-odstotna, povzroča nepravilno rekombinacijo



Sl. 1. Genetska heterogenost bolezni Charcot-Marie-Tooth. CMT – Charcot-Marie-Tooth, DNKP – dedna nagnjenost h kompresijskim parezom, DSS – sindrom Déjèrine-Sòttas, AD-DSS – autosomsko dominantni DSS, DMSNL – dedna motorična in senzorična nevropatija Lom, DMSNR – dedna motorična in senzorična nevropatija Russe, ARCMT – autosomsko recisivna CMT, distalna DMN – distalna dedna motorična neuronopatija, distalna DMN-J – distalna dedna motorična nevropatija Jerash, PMP22 – periferni mielinski protein, P₀ – protein nič, EMP2 – epitelijski membranski protein 2, EGR2 – faktor zgodnje rasti 2, Cx32 – koneksin 32, NF-L – lahki neurofilament, MTMR2 –

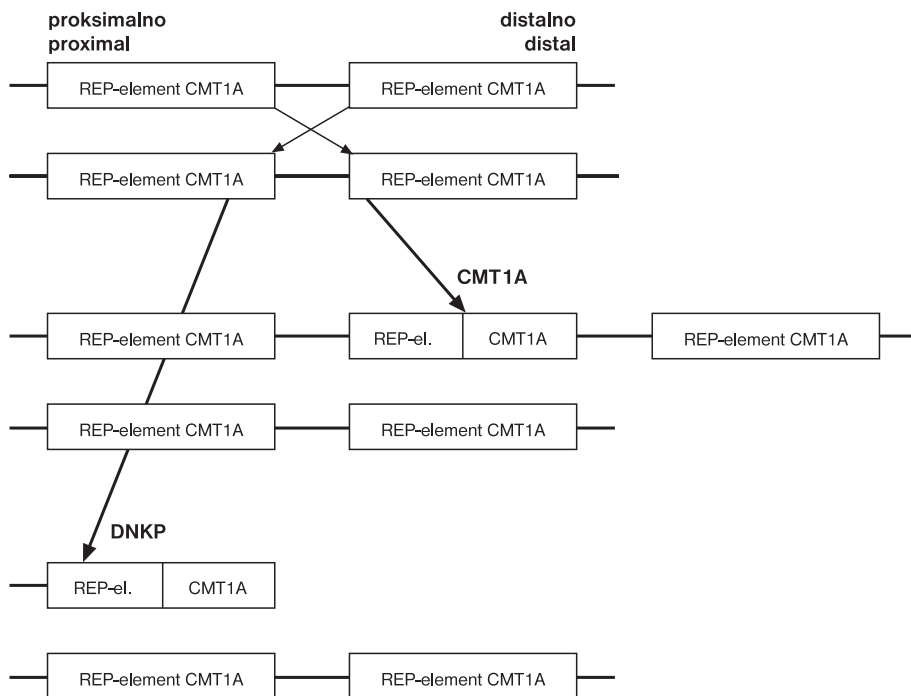
protein-2, vezan na miotubularin (myotubularin-related protein-2), NDRG1 – N-myc navzdol urejani gen 1 (N-myc downstream-regulated gene 1), PRX – periaksin, KIF1B – kinezin KIF1B.

Figure 1. Genetic heterogeneity of Charcot-Marie-Tooth disease. CMT – Charcot-Marie-Tooth, DNKP – hereditary neuropathy with liability to pressure palsies, DSS – Déjèrine-Sòttas syndrome, AD-DSS – autosomal dominant DSS, DMSNL – hereditary motor and sensory neuropathy Lom,



motor and sensory neuropathy Russe, ARCMT – autosomal recessive CMT, distalna DMN – distal hereditary motor neuropathy, distalna DMN-J – distal hereditary motor neuropathy Jerash, PMP22 – peripheral myelin protein, P₀ – protein zero, EMP2 – epithelial membrane protein 2, EGR2 – early growth response 2 gene, Cx32 – connexin 32, NF-L – light neurofilament, MTMR2 – myotubularin-related protein-2, NDRG1 – N-myc downstream-regulated gene 1, PRX – periaksin, KIF1B – kinesin F1B.

še dodaten kemični signal, najverjetneje element, podoben transpozonu *mariner* (MITE) (39). Prepis ribonukleinske kisline (RNK), ki sekvenčno ustreza MITE, so dokazali v tkivu mod, ne pa v tkivu jajčnikov. S pomočjo polimorfnih markerjev so pri večini novo zbolelih ugotovili, da je do nepravilne izmenjave homolognih verig DNK prišlo med drugo moško gametogenezo (39).



Sl. 2. Shematičen prikaz nepravilne rekombinacije homologne DNK med položajno neenakima pomnoženima elementoma CMT1A (repetitive CMT1A element, REP-element CMT1A) na kromosomskem odseku 17p11.2. Nastala podvojitev povzroči bolezen Charcot-Marie-Tooth tip 1A (CMT1A), delecija pa dedno nagnjenost h kompresijskim parezom (DNKP).

Figure 2. Schematic representation of unequal recombination of homologous DNA between unequal repetitive CMT1A elements on chromosome 17p11.2. Duplication or deletion causes Charcot-Marie-Tooth disease type 1A (CMT1A) or hereditary neuropathy with liability to pressure palsies (DNKP), respectively.

DNKP, ki je torej genetsko povezana s CMT1A, se najpogosteje deduje avtosomsko dominantno z delecijo odseka 17p11.2. Le pri nekaterih bolnikih je bil vzrok bolezni mutacija v *PMP22*, še redkeje pa bolezen ni bila vezana na 17. kromosom (36, 40–42).

V 10–21% je CMT1 posledica dominantno prenesenih točkastih mutacij v genu za koneksin 32 (*Cx32*) na odseku Xq13.1 (**CMTX**). Koneksin 32 je membranski protein na presledkovnem stiku. Paranodalno in na robu mielinskih zažemkov tvori kanalčke za hitri prenos ionov in majhnih molekul. Bolnice s CMTX so pogosto asimptomatske: klinični pregled pokaže blage znake polinevropatije, meritve hitrosti prevajanja po perifernem živčevju pa odkrijejo normalne ali mejne prevodne hitrosti ob nižjih akcijskih potencialih. Slika je podobna kot pri aksonski obliki CMT (43). Moški so klinično nekoliko bolj prizadeti, njihove prevodne hitrosti so manjše kot pri bolnicah, vendar v povprečju še vedno večje kot pri bolnikih s CMT1A.

Mutacije gena za protein nič (*P₀*) na kromosomskem odseku 1q22–23 (**CMT1B**) so doslej našli le pri 1% bolnikov s CMT1. Protein nič je adhezivni element med mielinskimi plastmi in zagotavlja zgoščenost mielinskih ovojev. Začetek in potek bolezni sta precej odvisna od vrste in mesta mutacije,

vendar so ti bolniki v povprečju huje prizadeti kot tisti s CMT1A; tudi prevajanje po perifernih živcih imajo huje opočasnjeno.

Točkaste mutacije v genu za faktor zgodnje rasti 2 na kromosomskem odseku 10q21.1–q22.1 (*early growth response 2 gene – EGR2*) (**CMT1D**) so dokazali pri manj kot 1% bolnikov s CMT1. Gen *EGR2* kodira beljakovino, ki sodi v skupino »cinkov prst«. V perifernem živčevju je ekspresija *EGR2* povezana z začetkom mielinizacije. Protein *EGR2*, ki se veže na DNK, deluje kot transkripcijski faktor. Točen mehanizem njegovega delovanja še ni poznan, najverjetneje pa sodeluje pri uravnavanju mielinizacije (diferenciacija Schwannovih celic iz promieliniziranega v mielinizirano stanje) in pri spodbujanju remielinizacije. Hipotetično sodeluje pri prepisu drugih mielinskih genov, povezanih z nadaljnjo mielinizacijo perifernega živčevja (43, 44).

Do nedavnega so zelo redke bolnike, pri katerih niso odkrili nobene od omenjenih mutacij ali vezanosti na kromosomske lokuse, uvrščali v skupino **CMT1C** (45). Pred kratkim so pri takih bolnikih iz dveh družin bolezensko dogajanje s kartiranjem (*mapping*) umeštili na kromosomski odsek 16p13.1–12.3. V tem predelu je gen za epitelijski membranski protein 2 (*EMP2*), ki bi morda lahko bil vpleten v nastanek bolezni (46).

Recesivno dedne demielinizacijske oblike CMT (CMT4)

Tudi recesivne oblike demielinizacijskih polinevropatij so raznovrstne. V nastanek bolezni je vpletenih najmanj osem genskih mest na različnih kromosomih. Redka bolezen, odkrita pri 4 tunizijskih družinah, ki se pokaže pred 2. letom starosti in za katero je značilno močno opočasnjeno prevajanje v perifernih živcih, histološko pa hipomielinizacija

ter čebulaste tvorbe, je vezana na odsek 8q13–21.1 (**CMT4A**) (47).

Pri članih nekaj italijanskih družin se je bolezen pojavila zgodaj v otroštvu: močno so jim oslabele mišice, tudi trebušna prepona, izgubili so senzibiliteto, mielinska ovojnica pa je bila obilno segmentno zavita okrog aksonov. Prizadet je bil kromosomski odsek 11q23 (**CMT4B**) (15), natančneje gen za *myotubularin* sorodni protein-2 (*myotubularin-related protein-2*). Ta beljakovina sodi v skupino dvojno specifičnih (*dual-specificity*) fosfataz. Če ga primanjkuje ali je neučinkovit, se fosforilira neznani substrat, kar povzroči proliferacijo Schwannovih celic in čezmerno odevanje perifernih živcev z mielinom (48, 49).

Obliko bolezni, za katero so značilne huda skolioza že v zgodnjem otroštvu, deformacije stopal, a le blago in počasno slabšanje gibalnih sposobnosti, so pri bolnikih dveh alžirskih, petih nizozemskih in eni turški družini povezali z odsekom 5q23–33; poimenovali so jo **CMT4C** (50, 51).

V nekaterih romskih družinah se CMT1 pojavlja hkrati s senzorinevralno naglušnostjo. Mutacijo so našli na odseku 8q24, kjer je t. i. *N-myc navzdol urejani gen 1* (*N-myc downstream-regulated gene 1 – NDRG1*). To obliko CMT1 so po družini iz bolgarskega mesta Lom, pri kateri so jo najprej odkrili, po-

imenovali DMSN Lom (**DMSNL**) ali **CMT4D**. Bolezen se pokaže že v zgodnjem otroštvu in do odraslosti povzroči hudo invalidnost. Naglušnost se pojavi v drugi ali tretji dekadi. Slušni evocirani potenciali možganskega debla so nenormalni, hitrost prevajanja po perifernih živcih pa majhna. Moteno delovanje Schwannovih celic povzroči hipomielinizacijo, demielinizacijo in remielinizacijo z maloštevilnimi čebulastimi tvorbami. Izguba aksonov je zelo zgodnja, izrazita in progresivna (52–54). NDRG1 so našli v velikih celicah, njegov pomen pa še ni popolnoma znan. Najverjetneje sodeluje pri diferenciaciji in zastoju rasti celic, morda kot signalni protein med citoplazmo in jedrom. Normalno ga je veliko tudi v Schwannovih celicah (podobno kot PMP22). Če ga primanjkuje, je najverjetneje motena aksonsko-glijalna interakcija, kar se pokaže z zgodnjo okvaro aksonov (55).

Mutacije gena *EGR2* na 10q21–22, ki so sicer pogostejše pri dominantnih oblikah (CMT3), so včasih vzrok tudi za recesivno obliko CMT1 (**CMT4E**), ki se kaže s klinično sliko kongenitalne hipomielinizacije (44).

Med Romi s CMT1 so odkrili še eno obliko avtosomsko recesivne nevropatije. Poimenovali so jo dedna motorična in senzorična nevropatija Russe (DMSNR ali **CMT4R-Russe**). Gre za klinično hudo obliko CMT: občutki zaznavanja so močno okrnjeni, prevajanje po motoričnih perifernih živcih je zmereno upočasnjeno, njihov prag električne vzdražnosti pa je visok. Z analizo vezave so ugotovili nov lokus na odseku 10q23.2, neodvisen od mesta *EGR2* (56).

Nedavno so pri članih neke libanonske družine odkrili, da je njihova bolezen CMT vezana na odsek 19q13. Poimenovali so jo **CMT4F**. Prizadeti gen sicer kodira periaksin (PRX), protein mielinizirane Schwannove celice, ki je nujen za njeno normalno delovanje. V bioptičnem vzorcu suralnega živca bolnika s CMT4F so našli demielinizacijo živčnih vlaken in ugotovili, da v mielinskih ovojnica ni periaksina (57, 58).

Sindrom Déjèrine-Sôttas

Pri večini bolnikov se sindrom Déjèrine-Sôttas (SDS) deduje avtosomsko dominantno. Najpogostejše je posledica na novo nastalih točkastih mutacij v genih *Po*, *PMP22* ali *EGR2* (59–61), nekaj primerov SDS pa so povezali s spremembami na povsem drugem kromosomskem mestu, in sicer 8q23–24 (AD-DSS); prizadeti gen zaenkrat še ni znan (62). SDS je sinonim za hudo obliko CMT1, ki se zgodaj začne. Pri redkih bolnikih se SDS deduje avtosomsko recesivno. Opisane so bile recesivne točkaste mutacije na *PMP22* (63, 64) in na *PRX* (65).

Aksonske oblike CMT (CMT2)

O aksonskih oblikah CMT (**CMT2**) je znanega manj kot o demielinizacijskih. Izkazalo se je, da so tudi te bolezni genetsko različne, različice pa so prav tako kot pri CMT1 označene s črkami (sl. 1). Doslej je znanih 6 avtosomsko dominantnih oblik in 2 recesivno dedni obliki.

Gen prve spoznane aksonske oblike CMT, **CMT2E**, so našli na kromosomskem lokusu 8p21 pri članih neke velike ruske družine. Bolezen smo našli tudi pri eni od slovenskih družin (66, 67). Okvarjeni gen kodira beljakovino lahki nevofilament (*NF-L*), ki je eden od treh glavnih citoskeletnih elementov v nevronih. Nevrofilamenti so pomembni za strukturo in delovanje aksonov (68).

Najnovejšje je odkritje beljakovine KIF1 beta, ki povzroča **CMT2A**. Bolezen je vezana na 1p35–p36, kjer je tudi gen za *KIF1B*. Beljakovina sodi v družino kinezinov, ki so v aksonih pomembni za transport molekul (69).

Za ostale tri dominantne oblike bolezni (**CMT2B**, **CMT2D** in **CMT2F**) so ugotovljena le mesta kromosomske okvare (3q13–q22, 7p14 oz. 7q11–q21) (70), na katera so oblike vezane, kateri geni so prizadeti, pa še ni znano.

Bolnike, ki genetsko ne sodijo v nobeno od doslej znanih oblik CMT2 in pri katerih kromosomski lokus še ni znan, uvrščajo v skupino **CMT2C**.

Pri nekaterih bolnikih s klinično in elektrofiziološko sliko aksonske polinevropatije so bile ugotovljene točkaste mutacije *Cx32* in *Po*, torej genov, ki so sicer vpleteni v nastanek demielinizacijskih polinevropatije (71, 72). Velja pa tudi nasprotno: mutacijo gena *NF-L*, ki sicer sodi med vzroke aksonske polinevropatije (CMT2E), so našli tudi pri družini s polinevropatijo demielinizacijskega tipa (73).

Recesivno dedno obliko CMT2 (**ARCMT2A**), ki so jo odkrili pri članih neke maroške družine, so vkartirali na odsek 1q21.2–q21.3. Člani te družine so zboleli v drugem desetletju starosti s hudo motorično in senzorično nevropatijo. Nekaterim je oslabele tudi proksimalno mišičje (74). Drugo recesivno obliko CMT2, **ARCMT2B**, so najprej odkrili pri nekaj družinah iz Kostarike. Povezali so jo z odsekom 19q13.3. Bolezen se je pokazala v povprečju pri starosti 30 let, in sicer s kliničnimi znaki, značilnimi za senzorično-motorično polinevropatijo, in z elektrofiziološkimi znaki, značilnimi za aksonsko degeneracijo (75).

Bolezenskih oblik CMT pa je še veliko več.

Intermediarna oblika CMT

Intermediarna oblika CMT je dedna motorična in senzorična nevropatija, pri kateri znaša hitrost prevajanja po motoričnih vlaknih medianega živca najpogostejše med 25 in 45 m/s, torej znotraj območij, ki sta značilni za CMT1 oz. CMT2. Pri neki italijanski družini je bila bolezen vezana na kromosomski odsek 10q24.1–q25.1 (76).

Distalna dedna motorična nevropatija

Tudi za distalno dedno motorično nevropatijo (DMN) velja velika genetska heterogenost (sl. 1). Po načinu dedovanja, času začetka bolezni in klinični sliki ima 7 oblik: oblike I, II, V in VII se dedujejo avtosomsko dominantno, oblike III, IV in VI pa avtosomsko recesivno (18, 77).

Dominantno dedne distalne DMN

Za **distalno DMN I** je značilno, da se začne med 2. in 20. letom (oblika mladostnikov), za **distalno DMN II** pa, da med 20. in 40. letom starosti (oblika odraslih). Pri številni belgijski družini so DMN II povezali z odsekom 12q24.3 (78–80), lokus za DMN I pa zaenkrat še ni znan. Za **distalno DMN V** je značilno, da mišične atrofije in oslabelelost zajamejo predvsem zgornje ude. Prvič so jo opisali pri neki bolgarski družini in je vezana na kromosom 7p (81). Vendar so tudi med bolniki z distalno DMN V našli genetsko heterogenost, saj bolezen ni bila vedno vezana na 7p (82). Za **distalno DMN VII**, ki se pojavi med 10. in 20. letom starosti, je poleg znakov nevropatije na udih značilna še paraliza glasilk. Njen genski lokus še ni znan.

Recesivno dedne distalne DMN

Bolezenski znaki **distalne DMN III** se pojavijo med 2. in 10. letom starosti. V nasprotju z **distalno DMN IV**, pri kateri je mišična oslabelelost huda (zato se imenuje *tudi huda juvenilna oblika*), je za DMN značilna blaga mišična oslabelelost (zato *blaga juvenilna oblika*). DMN IV se pojavi različno zgodaj, od 4. meseca do 20. leta starosti. Pri 30 letih večina bolnikov ne more več hoditi. Tudi bolniki s **tipom VI** so hudo prizadeti (huda infantilna oblika): večina dojenčkov nikoli ne shodi, pogosto umrejo pred prvim letom starosti. Za te bolezenske oblike genski lokusi niso znani.

Ugotovljena je bila še avtosomsko recesivna oblika distalne DMN, pri kateri se poleg znakov distalne mišične oslabelelosti v sklopu nevropatije že zgodaj v poteku bolezni pojavijo

še znaki okvare piramidne proge. Bolezen je vezana na 9p21.1-p12. Imenuje se distalna DMN-Jerash (**distalna DMN-J**) (83).

Vrste molekularnogenetskih preiskav

Z molekularnogenetskimi preiskavami je bilo pri vrsti dednih nevropatij doslej odkritih več kot 20 kromosomskih mest, vendar število gotovo še ni dokončno. Prav tako še niso prepoznani vsi geni, ki so v teh odsekih.

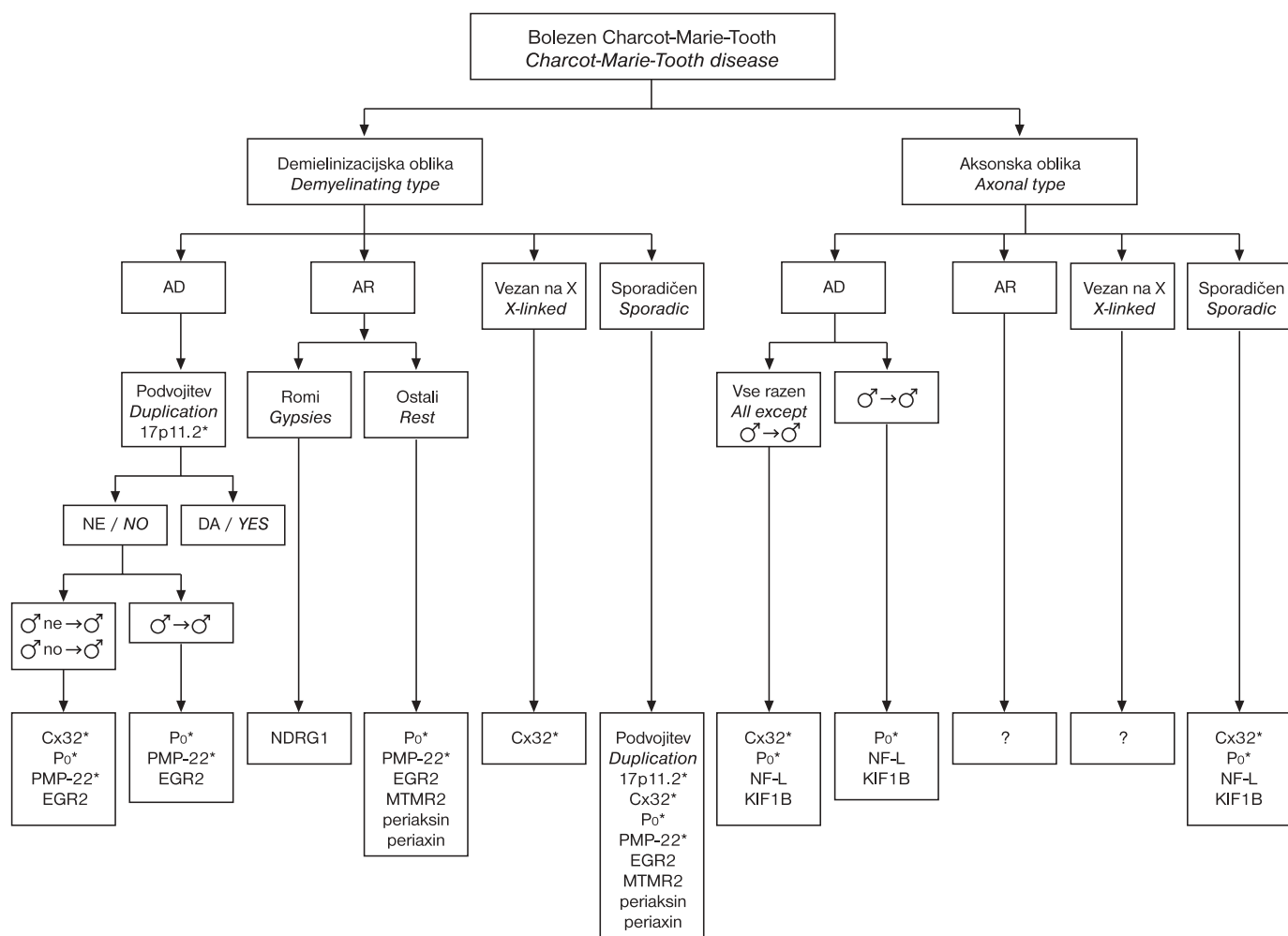
Genetska analiza mutacij je načeloma možna pri tistih oblikah CMT, pri katerih je znan gen, povezan z nastankom bolezni (CMT1, CMTX, CMT4B, CMT4D, CMT4E, CMT4F, CMT2A, CMT2E), in pri podvojitvi oziroma deleciji na 17p11.2. Nekatere analize se uporabljajo že rutinsko v pomoč kliničnemu delu, mnoge pa so – vsaj zdaj še – le raziskovalne.

Podvojitev in delecijo 17p11.2, ki sta najpogostejši mutaciji, je mogoče zaznati na več načinov: z denzitometrično razliko med posameznimi aleli (analiza polimorfizma dolžine restrikcijskih fragmentov, *restriction fragment length polymor-*

phisms – RFLP), z markerji, ki pokažejo tri alele (CMT1A) ali enega samega (DNKP), s fragmentom nepravilne rekombinacije (*junction fragments*) in s fluorescenčno hibridizacijo in situ (FISH) na interfaznem jedru. Za odkrivanje točkastih mutacij na genih uporabljajo razne genetske metode, npr. konformacijski polimorfizem enokrižne DNK (*single strand conformation polymorphism – SSCP*), heterodupleksno analizo, neposredno sekvenčno analizo DNK ipd. (84).

V Laboratoriju za molekularno genetiko Ginekološke klinike v Ljubljani rutinsko diagnosticiramo podvojitev in delecijo PMP22 z metodama FISH in PCR (polimorfni genski označevalci). Točkastih mutacij še ne dokazujemo.

Podvojitev in delecijo na 17p11.2 ter točkaste mutacije na znanih genih je torej mogoče ugotoviti pri bolniku samem in za diagnostiko ni treba preiskovati še drugih družinskih članov. Diagnostika je možna tudi pri sporadičnih bolnikih in pri bolnikih, pri katerih je mutacija nastala na novo. Možna je tudi prenatalna diagnostika. Algoritem genetskih preiskav je predstavljen na sliki 3 (85). Pri ostalih oblikah CMT, kjer okvarjeni



Sl. 3. Algoritem genetskih preiskav pri bolnikih z boleznijo Charcot-Marie-Tooth (83). AD – avtosomsko dominantno, AR – avtosomsko recesivno, Cx32 – koneksin 32, P₀ – protein nič, PMP22 – periferni mielinski protein-22, EGR2 – faktor zgodnje rasti 2, NDRG1 – N-myc navzdol urejani gen 1 (N-myc downstream-regulated gene 1), MTMR2 – protein-2, vezan na mio-tubularin (myotubularin-related protein-2), KIF1B – kinezin F1B, NF-L – lahki neurofilament, * – rutinska laboratorijska preiskava (v tujini), ♂ – moški.

Figure 3. Genetic investigation algorithm in Charcot-Marie-Tooth patients (83). AD – autosomal dominant, AR – autosomal recessive, Cx32 – connexin 32, P₀ – protein zero, PMP22 – peripheral myelin protein-22, EGR2 – early growth response 2, NDRG1 – N-myc downstream-regulated gene 1, MTMR2 – myotubularin-related protein-2, KIF1B – kinesin F1beta, NF-L – light neurofilament, * – routinely available (abroad), ♂ – male.

gen oziroma mehanizem mutacije nista znana, neposredna diagnostika ni možna. Morebitna genetska opredelitev je možna le posredno, pa še to le, če je bolezenski fenotip znan in ima bolnik veliko krvnih sorodnikov, ki jih je seveda treba genetsko preiskati z metodo vezave.

Zaključki

Molekularnogenetske preiskave so dokazale, da je klinični fenotip bolezni CMT genetsko zelo heterogen, torej da ga povzročajo okvare več različnih genov. Bolezenske kategorije, ki so v preteklosti temeljile na anatomsko-patološki razdelitvi, so na molekularnogenetski ravni postale bodisi sestavljene (npr. CMT1A, CMT1B, CMT1C, CMTX) ali pa je, nasprotno, postalo jasno, da imajo različne takšne kategorije isto genetsko osnovo (npr. CMT1 in DSS). Druga presenetljiva ugotovitev je, da ista genska okvara lahko povzroči demielinizacijsko ali aksonsko obliko CMT (npr. mutacije v *Pc*, *Cx32* in *NF-L*). Molekularna genetika zaenkrat torej še ni zagotovila ustrežnejše klasifikacije CMT niti ni v celoti pojasnila mehanizmov nastanka bolezni; to je mogoče pričakovati, ko bodo odkriti še novi geni in nove mutacije. Vendar zaenkrat velja, da genetske analize z vsakim odgovorom, ki ga dajo na staro vprašanje, hkrati zastavijo še več novih.

Literatura

- Charcot JM, Marie P. Sur une forme patriculière d'atrophie musculaire progressive souvent familial ebutant par les pieds et les jambes et atteignant plus tard les mains. *Rev Med* 1886; 6: 97-138.
- Tooth HH. The peroneal type of progressive muscular atrophy. HK London: Lewis and Co., 1886.
- Emery AEH. Population frequencies of inherited neuromuscular diseases - A world survey. *Neuromusc Disord* 1991; 1: 19-29.
- 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.
- Skre H. Genetic and clinical aspects of Charcot-Marie-Tooth disease. *Clin Genet* 1974; 6: 98-118.
- Suter U, Snipes GJ. Biology and genetics of hereditary motor and sensory neuropathies. *Ann Rev Neurosci* 1995; 18: 45-75.
- Lupski JR, Garcia CA, Parry GJ et al. Charcot-Marie-Tooth polyneuropathy syndrome: clinical, electrophysiological, and genetic aspects. In: Appel S ed. *Current neurology*. Chicago: Mosby-Yearbook, 1991: 1-25.
- Birouk N, Goudier M, Gugenheim E et al. Intrafamilial variations of motor nerve conduction in CMT1A patients. *Electroenceph Clin Neurophysiol* 1996; 99: 299-9.
- Garcia CA, Malamut RI, Parry GJ et al. Clinical heterogeneity of HMSN-I in 2 pairs of identical twins. *Neurology* 1990; 40: Suppl 1: 301-1.
- Harding AE, Thomas PK. The clinical features of hereditary motor and sensory neuropathy types I and II. *Brain* 1980; 103: 259-80.
- Myrianthopoulos NC, Lane MH, Silberbert DH et al. Nerve conduction and other studies in families with Charcot-Marie-Tooth disease. *Brain* 1964; 87: 589-608.
- Brust JCM, Lovelace RE, Devi S. Clinical and electrodiagnostic features of Charcot-Marie-Tooth syndrome. *A Neurol Scand* 1978; 58: Suppl 68: 4-142.
- Thomas PK, King RHM, Small JR, Robertson AM. The pathology of Charcot-Marie-Tooth disease and related disorders. *Neuropathol Appl Neurobiol* 1996; 22: 269-84.
- Dyck PJ, Chance P, Lebo R, Carney JA. Hereditary motor and sensory neuropathies. In: Dyck PJ, Thomas PK, Griffin JW eds. *Peripheral neuropathy*, 3rd ed. Philadelphia: W. B. Saunders, 1993: 1065-93.
- Bolino A, Brancolini V, Bono F et al. Localization of a gene responsible for autosomal recessive demyelinating neuropathy with focally folded myelin sheaths to chromosome 11q23 by homozygosity mapping and haplotype sharing. *Hum Mol Genet* 1996; 5: 1051-4.
- Quattrone A, Gambardella A, Bono F et al. Autosomal recessive hereditary motor and sensory neuropathy with focally folded myelin sheaths: clinical, electrophysiological, and genetic aspects of a large family. *Neurology* 1996; 46: 1318-24.
- Harding AE, Thomas PK. Genetic aspects of hereditary motor and sensory neuropathy (type I and II). *J Med Genet* 1980; 17: 329-36.
- Harding AE. Inherited neuronal atrophy and degeneration predominantly of lower motor neurons. In: Dyck PJ, Thomas PK, Griffin JW et al. eds. *Peripheral neuropathy*, 3rd ed. Philadelphia: W. B. Saunders, 1993: 1051-64.
- Dejerine J, Sottas J. Sur la névrite: interstitielle, hypertrophique et progressive de l'enfance. *CR Soc Biol (Paris)* 1893; 45: 63-96.
- Dyck PJ, Chance P, Lebo R, Carney JA. Hereditary motor and sensory neuropathies. In: Dyck PJ, Thomas PK, Griffin JW et al. eds. Philadelphia: W. B. Saunders Company, 1993: 1095-136.
- Gabreels-Festen AAWM, Gabreels FJM, Jennkens FGL, Janssen-van Kempen TW. The status of HMSN type III. *Neuromusc Disord* 1994; 4: 63-9.
- Schaumburg HH, Berger AR, Thomas PK. Hereditary neuropathies without an established metabolic basis. In: Schaumburg HH, Berger AR, Thomas PK eds. Philadelphia: F. A. Davis Company, 1992: 184-205.
- 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.
- <http://www.neuro.wustl.edu/neuromuscular/time/hmsn.html#IA>, 10. 6. 2003.
- Kamholz J, Menichella D, Jani A et al. Charcot-Marie-Tooth disease type 1: molecular pathogenesis to gene therapy. *Brain* 2000; 123: 222-33.
- 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.
- 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.
- Lupski JR, De Oca-Luna RM, Slangenhuys S et al. DNA duplication associated with Charcot-Marie-Tooth disease type 1A. *Cell* 1991; 66: 219-32.
- 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.
- Raeymaekers P, Timmerman V, Nelis E et al. Estimation of the size of the chromosome 17p11.2 duplication in Charcot-Marie-Tooth neuropathy type 1a (CMT1a). *J Med Genet* 1992; 29: 5-11.
- 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.
- 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.
- 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.
- 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.
- 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.
- 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.
- Reiter LT, Hastings PJ, Nelis E, De Jonghe P, Van Broeckhoven C, Lupski JR. Human meiotic recombination products revealed by sequencing a hotspot for homologous strand exchange in multiple HNPP deletion patients. *Am J Hum Genet* 1998; 62: 1023-33.
- Palau F, Loeftgren A, De Jonghe P et al. Origin of the de novo duplication in Charcot-Marie-Tooth disease type 1A: Unequal nonsister chromatid exchange during spermatogenesis. *Hum Mol Genet* 1993; 2: 2031-5.
- Chance P, Alderson MK, Leppig K et al. DNA deletion associated with hereditary neuropathy with liability to pressure palsies. *Cell* 1993; 72: 143-51.
- 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.
- Hahn AF. Hereditary motor and sensory neuropathy: HMSN type II (neurological type) and X-linked HMSN. *Brain Pathol* 1993; 43: 2558-64.
- Timmerman V, Rautenstrauss B, Reiter LT et al. Detection of the CMT1A/HNPP recombination hotspot in unrelated patients of European descent. *J Med Genet* 1997; 34: 43-9.
- 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.
- Topilko P, Schneider-Maunoury S, Levi G et al. Krox-20 controls myelination in the peripheral nervous system. *Nature* 1994; 371: 796-9.
- Chance PF, Matsunami N, Lensch W, Smith B, Bird TD. Analysis of the DNA duplication 17p11.2 in Charcot-Marie-Tooth neuropathy type 1 pedigrees: additional evidence for a third autosomal CMT1 locus. *Neurology* 1992; 42: 2037-41.
- Street VA, Goldy JD, Golden AS, Tempel BL, Bird TD, Chance PF. Mapping of Charcot-Marie-Tooth disease type 1C to chromosome 16p identifies a novel locus for demyelinating neuropathies. *Am J Hum Genet* 2002; 70: 244-50.
- Ben Othmane KB, Hentati F, Lennon F et al. Linkage of a locus (CMT4A) for autosomal recessive Charcot-Marie-Tooth disease to chromosome 8q. *Hum Mol Genet* 1993; 2: 1625-8.

48. Bolino A, Muglia M, Conforti EL et al. Charcot-Marie-Tooth type 4B is caused by mutations in the gene encoding myotubularin-related protein-2. *Nature Genet* 2000; 25: 17-9.
49. Cui X, De Vivo I, Slany R, Miyamoto A, Firestein R, Cleary ML. Association of SET domain and myotubularin-related proteins modulates growth control. *Nat Genet* 1998; 18: 331-7.
50. LeGuern E, Guilbot A, Kessali M et al. Homozygosity mapping of an autosomal recessive form of demyelinating Charcot-Marie-Tooth disease to chromosome 5q23-q33. *Hum Mol Genet* 1996; 5: 1685-8.
51. Gabreëls-Festen A, Van Beersum S, Eshuis L et al. Study on the gene and phenotypic characterisation of autosomal recessive demyelinating motor and sensory neuropathy (Charcot-Marie-Tooth disease) with a gene locus on chromosome 5q23-q33. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 1999; 66: 569-74.
52. 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.
53. Kalaydjieva L, Nikolova A, Turney 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.
54. 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.
55. 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.
56. Rogers T, Chandler D, Angelicheva D et al. A novel locus for autosomal recessive peripheral neuropathy in the EGR2 region on 10q23. *Am J Hum Genet* 2000; 67: 664-71.
57. Delague V, Bareil C, Tuffery S et al. Mapping of a new locus for autosomal recessive demyelinating Charcot-Marie-Tooth disease to 19q13.1-13.3 in a large consanguineous Lebanese family: exclusion of MAG as a candidate gene. *Am J Hum Genet* 2000; 67: 236-43.
58. Guilbot A, Williams A, Ravise N et al. A mutation in periaxin is responsible for CMT4F, an autosomal recessive form of Charcot-Marie-Tooth disease. *Hum Mol Genet* 2001; 10: 415-21.
59. Roa BB, Dyck PJ, Marks HG, Chance PF, Lupski JR. Dejerine-Sottas syndrome associated with point mutation in the peripheral myelin protein 22 (PMP22) gene. *Nat Genet* 1993; 5: 269-73.
60. Hayasaka K, Himoro M, Sawaishi Y et al. De novo mutation of the myelin P0 gene in Dejerine-Sottas disease (hereditary motor and sensory neuropathy type III). *Nat Genet* 1993; 5: 266-8.
61. Timmerman V, De Jonghe P, Ceuterick C et al. Novel missense mutation in the early growth response 2 gene associated with Dejerine-Sottas syndrome phenotype. *Neurology* 1999; 52: 1827-32.
62. Reilly MM. Classification of the hereditary motor and sensory neuropathies. *Curr Opin Neurol* 2000; 13: 561-4.
63. Parman Y, Plante-Bordeneuve V, Guiochon-Mantel A, Eraksoy M, Said G. Recessive inheritance of a new point mutation of the PMP22 gene in Dejerine-Sottas disease. *Ann Neurol* 1999; 45: 518-22.
64. Lupski JR. Recessive Charcot-Marie-Tooth disease. *Ann Neurol* 2000; 47: 6-8.
65. Boerkoel CF, Takashima H, Stankiewicz P et al. Periaxin mutations cause recessive Dejerine-Sottas neuropathy. *Am J Hum Genet* 2001; 68: 325-33.
66. Mersyanova IV, Perepelov AV, Polyakov AV et al. A new variant of Charcot-Marie-Tooth disease type 2 is probably the result of a mutation in the neurofilament-light gene. *Am J Hum Genet* 2000; 67: 37-46.
67. Georgiou DM, Zidar J, Korošec M, Middleton LT, Kyriakides T, Christodoulou K. A novel NFL mutation Pro22Ser is associated with CMT2 in a large Slovenian family. *Neurogenetics* 2002; 4: 93-6.
68. Julien JP. Neurofilament functions in health and disease. *Curr Opin Neurobiol* 1999; 9: 554-60.
69. Zhao C, Takita J, Tanaka Y et al. Charcot-Marie-Tooth disease type 2A caused by mutation in a microtubule motor KIF1Bbeta. *Cell* 2001; 105: 587-97.
70. Ismailov SM, Fedotov VP, Dadali EL et al. A new locus for autosomal dominant Charcot-Marie-Tooth disease type 2 (CMT2F) maps to chromosome 7q11-q21. *Eur J Hum Genet* 2001; 9: 646-50.
71. Marrosu MG, Vaccargiu S, Marrosu G, Vannelli A, Cianchetti C, Muntoni F. Charcot-Marie-Tooth disease type 2 associated with mutation of the myelin protein zero gene. *Neurology* 1998; 50: 1397-401.
72. Timmerman V, De Jonghe P, Spoelders P et al. Linkage and mutation analysis of Charcot-Marie-Tooth neuropathy type 2 families with chromosomes 1p35-p36 and Xq13. *Neurology* 1996; 46: 1311-8.
73. De Jonghe P, Mersyanova IV, Nelis E et al. Further evidence that neurofilament light chain gene mutations can cause Charcot-Marie-Tooth disease type 2E. *Ann Neurol* 2001; 49: 245-9.
74. Bouhouche A, Benomar A, Birouk N et al. A locus for an axonal form of autosomal recessive Charcot-Marie-Tooth disease maps to chromosome 1q21.2-q21.3. *Am J Hum Genet* 1999; 65: 722-7.
75. Leal A, Morera B, Del Valle G et al. A second locus for an axonal form of autosomal recessive Charcot-Marie-Tooth disease maps to chromosome 19q13.3. *Am J Hum Genet* 2001; 68: 269-74.
76. Verhoeven K, Villanova M, Rossi A, Malandrini A, De Jonghe P, Timmerman V. Localization of the gene for the intermediate form of Charcot-Marie-Tooth to chromosome 10q24.1-q25.1. *Am J Hum Genet* 2001; 69: 889-94.
77. Emery AEH. The nosology of the spinal muscular atrophies. *J Med Genet* 1971; 8: 481-95.
78. Timmerman V, De Jonghe P, Simokovic S et al. Distal hereditary motor neuropathy type II (distal HMN II): Mapping of a locus to chromosome 12q24. *Hum Mol Genet* 1996; 5: 1065-9.
79. Timmerman V, Beuten J, Irobi J, De Jonghe P, Martin JJ, Van Broeckhoven C. Distal hereditary motor neuropathy type II (distal HMN type II): phenotype and molecular genetics. *Ann NY Acad Sci* 1999; 883: 60-4.
80. Irobi J, Tissir F, De Jonghe P et al. A clone contig of 12q24.3 encompassing the distal hereditary motor neuropathy type II gene. *Genomics* 2000; 65: 34-43.
81. Christodoulou K, Kyriakides T, Hristova AH et al. Mapping of a distal form of spinal muscular atrophy with upper limb predominance to chromosome 7p. *Hum Mol Genet* 1995; 4: 1629-32.
82. Auer-Grumbach M, Loscher WN, Wagner K et al. Phenotypic and genotypic heterogeneity in hereditary motor neuronopathy type V: A clinical, electrophysiological and genetic study. *Brain* 2000; 123: 1612-23.
83. Middleton LT, Christodoulou K, Mubaidin A et al. Distal hereditary motor neuronopathy of the Jerash type. *Ann NY Acad Sci* 1999; 883: 65-8.
84. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/htbin-post/Omim/dispim?118220#DIAGNOSIS>, 10. 6. 2003.
85. Reilly MM, Hanna MG. Genetic neuromuscular disease. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2002; 73: Suppl II: 12-21.