

Un vistazo a la enfermedad de Charcot-Marie-Tooth

Hernán Cortés Callejas,* Jonathan Javier Magaña Aguirre,* Óscar Hernández Hernández,* José Arturo Ávalos Fuentes,** Sergio Recillas Morales,** Norberto Leyva García*

* Laboratorio de Medicina Genómica, Centro Nacional de Investigación y Atención a Quemados, Instituto Nacional de Rehabilitación.

** Departamento de Farmacología, Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del IPN.

Dirección para correspondencia:
Dr. Norberto Leyva García
Departamento de Genética, Instituto Nacional de Rehabilitación. Avenida México-Xochimilco 289, Colonia Arenal de Guadalupe, Delegación Tlalpan, 14389, México, D.F.
Tel. +52 (55) 5999-1000, extensión 14703
E-mail: nleyva@inr.gob.mx

Este artículo puede ser consultado en versión completa en:
<http://www.medigraphic.com/rid>

Palabras clave: Enfermedad de Charcot-Marie-Tooth, neuropatías periféricas, diagnóstico molecular, asesoramiento genético.

Key words: Charcot-Marie-Tooth disease, peripheral neuropathies, molecular diagnostic, genetic counseling.

Resumen

La enfermedad de Charcot-Marie-Tooth (CMT) es el nombre común para un grupo de neuropatías periféricas hereditarias, que comparten como rasgo distintivo la afectación del sistema nervioso periférico. La CMT ocupa un lugar preponderante dentro de las neuropatías periféricas, siendo la más frecuente a nivel mundial con una prevalencia estimada de una por cada 2,500 personas. El modo de transmisión de la CMT puede ser por herencia autosómica dominante, autosómica recesiva o ligada al cromosoma X, dependiendo del subtipo. La clasificación de los diferentes tipos de CMT se realiza con base en criterios clínicos, electrofisiológicos, anatomopatológicos y genéticos. Todos estos tipos exhiben una gran variabilidad clínica y heterogeneidad genética. Gracias al avance de las técnicas de biología molecular se ha incrementado el conocimiento de la patogénesis de esta enfermedad y hasta el momento se han descrito más de 30 genes y *loci* génicos asociados a los distintos subtipos de CMT. Debido al carácter hereditario de esta enfermedad, el diagnóstico correcto es de una importancia central para que los pacientes reciban un asesoramiento genético adecuado. De igual manera, se espera que la generación de modelos animales que reproduzcan las características clínicas y genéticas de la CMT, contribuyan en un futuro cercano al desarrollo de nuevas terapias para el tratamiento de esta enfermedad, la cual actualmente no tiene cura. El objetivo de esta revisión fue describir de manera general el panorama actual de la CMT, sus características clínicas y moleculares, prevalencia, clasificación, métodos de diagnóstico y recientes avances en la investigación de esta enfermedad.

Abstract

Charcot-Marie-Tooth disease (CMT) is a group of common inherited neuropathies that affects the peripheral nervous system. The CMT has an important place among peripheral neuropathies, it is the most frequent in the world and its prevalence has been estimated in 1-2,500 people. The transmission of this neuropathy can be autosomal dominant, autosomal recessive or chromosome X-linked types. The CMT classification is performed on the basis of clinical criteria, electrophysiological, anatomopathological and genetic characteristics. A clinical variability and genetic heterogeneity is shown by the distinct CMT subtypes. The knowledge about the CMT pathogenesis has increased in the last years and, with the improvement in techniques of molecular biology, the discovery of more than 30 genes and loci associated to CMT has been possible. Given the hereditary nature of this neuropathy, correct diagnosis is of pivotal importance in order to give patients a suitable genetic counseling. Remarkably, novel animal models recently developed, reproducing clinical and genetic features of CMT, can be useful to create new therapies for the treatment of this disease, which unfortunately has no cure.

Introducción

Las neuropatías periféricas hereditarias son un grupo de enfermedades clínicas y genéticamente heterogéneas, las cuales, a pesar de que comparten como característica común que afectan al sistema nervioso periférico, tienen una gran variedad de etiologías y manifestaciones clínicas.¹ Las neuropatías periféricas se clasifican en neuropatías sensitivo-motoras hereditarias (NSMH), neuropatías motoras hereditarias (NMH), neuropatías sensitivas hereditarias (NSH) y neuropatías sensitivas y autonómicas hereditarias (NSAH).² La forma de estas patologías que se presenta con mayor frecuencia, y en la que nos enfocaremos en la presente revisión, es la enfermedad de Charcot-Marie-Tooth (CMT), la cual pertenece a la categoría de NSMH.

Han transcurrido más de 120 años desde que se realizó la primera descripción formal de esta neuropatía, la cual fue llamada inicialmente «atrofia muscular peroneal». Dicha descripción fue hecha en 1886 por los tres científicos a quienes debe su nombre: Jean Martin Charcot y Pierre Marie (en París, Francia) y Howard Henry Tooth (en Cambridge, Inglaterra). Estos investigadores describieron de manera detallada las manifestaciones clínicas cardinales de la enfermedad: debilidad y fatiga en extremidades distales, debilidad y atrofia muscular progresiva y deformidad de los pies (pie cavo o dedos en forma de garra).³ El objetivo de esta revisión es describir de manera general el panorama actual de la CMT, sus características clínicas y moleculares, prevalencia, clasificación, métodos de diagnóstico y recientes avances en la investigación de esta enfermedad.

Prevalencia

La prevalencia de la CMT ha sido difícil de estimar por diversos factores como son: la heterogeneidad de los fenotipos clínicos, la inexistencia de un criterio de diagnóstico molecular universal, además de la sensibilidad del método de diagnóstico empleado. Esto ocasiona que la prevalencia varíe considerablemente de acuerdo con el país o región analizada. A pesar de esta variabilidad entre regiones, se ha llegado a un consenso para estimar la prevalencia en 1 en 2,500, es decir, 40 de cada 100,000 personas a nivel mundial.^{4,5}

En nuestro país no hay muchos estudios disponibles respecto a la prevalencia, y los que se han llevado a cabo en la población mexicana no han arrojado suficientes datos como para estimar si ésta difiere con lo reportado en la literatura en otras poblaciones.

Manifestaciones clínicas

Las características clínicas de la enfermedad son una combinación de déficit motores asociados a motoneuronas con signos y síntomas sensoriales, lo cual refleja claramente la naturaleza sensitivo-motora de la neuropatía. De manera general, los fenotipos clínicos son similares a la forma desmielinizante y axonal.⁴

El inicio de los síntomas ocurre de manera más frecuente en la adolescencia o al comienzo de la edad adulta; no obstante, su aparición se puede dar en cualquier momento, desde la infancia hasta la edad adulta avanzada. Los primeros síntomas suelen ser, entre otros, debilidad muscular en los pies, que puede provocar anomalías como el pie cavo, en el que el pie presenta un arco más pronunciado de lo normal, o dedos en forma de martillo, el cual se refiere a un encorvamiento anormal de los dedos de los pies. A medida que avanza la enfermedad, los músculos en la parte baja de las piernas y los tobillos se debilitan, posteriormente pueden ocurrir debilidades y atrofas musculares en las manos, dando como resultado dificultades en las capacidades motoras.⁶ Los pacientes con este trastorno también pueden sufrir dolor o ardor en los pies y la parte baja de las piernas o incluso disminución de la sensibilidad al tacto, calor y frío. En casos raros también se produce la pérdida de visión o audición.

La gravedad de los síntomas es bastante variable en los pacientes, incluso en individuos de una misma familia. De igual manera, la progresión también puede variar; en la mayoría de los casos, los pacientes sufren un deterioro lento en sus capacidades; en otros casos, permanecen clínicamente estables por relativamente largos periodos de tiempo, incluso décadas. Si bien esta enfermedad puede ser muy discapacitante, la CMT no es letal y los pacientes que padecen de los subtipos más comunes poseen una esperanza de vida normal.¹

Clasificación

Los primeros intentos de clasificar la CMT y las neuropatías periféricas relacionadas fueron desarrollados con base en los fenotipos clínicos, los criterios electrofisiológicos y el patrón de herencia. Estas clasificaciones fueron derivadas de una gran cantidad de datos clínicos y árboles genealógicos, sirviendo así como una invaluable herramienta para identificar los genes responsables de los diferentes subtipos de esta patología. Sin embargo, la identificación de nuevos genes asociados a la CMT introdujo algunas ambigüedades que hicieron su clasificación mucho más complicada.⁷

En ese sentido, es importante mencionar que debido a la dificultad para realizar en todos los pacientes estudios integrales que incluyan el diagnóstico clínico, molecular y anatomopatológico, actualmente no existe un criterio universalmente aceptado para clasificar los diferentes tipos y subtipos de CMT, por lo cual la clasificación puede llegar a variar dependiendo de la disciplina de estudio o del autor en particular.⁷ La mayoría de las clasificaciones empleadas hoy en día utilizan distintas combinaciones de criterios como son: fenotipos clínicos, patrones de herencia (autosómico dominante, autosómico recesivo y ligado al cromosoma X), hallazgos electrofisiológicos (alteraciones en las velocidades de conducción nerviosa) y anatomopatológicos (degeneración axonal o desmielinizante), así como genes asociados.^{1,3,7,8}

Para este trabajo se empleará una clasificación que incluye los subtipos clásicos y algunos otros subtipos descritos recientemente, la cual es la siguiente: a) CMT1, caracterizada por disminución en la velocidad de conducción nerviosa y desmielinización, con herencia autosómica dominante; b) CMT2, de tipo axonal, con poca o nula alteración de la velocidad de conducción nerviosa, con herencia autosómica dominante o autosómica recesiva; c) CMT4, predominantemente con herencia autosómica recesiva; los pacientes pueden presentar o no alteraciones en la velocidad de conducción nerviosa; d) CMTX, estas formas de CMT se caracterizan por estar ligadas al cromosoma X; e) DI-CMT, se trata de formas con velocidad de conducción intermedia y transmisión autosómica dominante.

CMT1. La CMT1 se caracteriza por la aparición de los síntomas usualmente en las primeras dos décadas de vida, un patrón de transmisión autosómico dominante y una velocidad de conducción nerviosa disminuida (< 38 m/s),⁹ aunque el grado de reducción en la conducción nerviosa no se correlaciona con la severidad clínica de la enfermedad.¹⁰ Los exámenes anatomopatológicos de biopsias nerviosas de los afectados revelan una pérdida de fibras mielinizadas y remielinización segmentaria; así como un agrandamiento de los nervios periféricos, los cuales presentan una apariencia característica de «bulbos de cebolla».¹¹ La CMT1 se divide en los subtipos: CMT1A, B, C, D, E o F, dependiendo del defecto molecular causante de la patología. Entre éstos, la CMT1A es la forma que se presenta con mayor frecuencia, se produce en la mayoría de los casos por la duplicación de un fragmento de 1.5 Mb en el cromosoma 17p11.2-p12. En esa región del cromosoma se encuentra el gen que codifica para la proteína PMP22, el cual es un componente de las vainas de mielina de las células de

Schwann. Se ha propuesto que el aumento en la dosis génica de esta proteína podría producir alteraciones en el desarrollo y mantenimiento de la mielina llevando a su degeneración, lo que a la postre daría origen a los signos y síntomas de la enfermedad.¹²

CMT2. La mayoría de los casos de CMT2 tienen un patrón de herencia autosómico dominante; sin embargo, algunos de los genes responsables de CMT2 muestran herencia autosómica recesiva.¹³ El fenotipo clínico de la neuropatía CMT2 es muy similar al de la CMT1, aunque la edad de inicio es más variable y en muchas ocasiones más tardía.⁶ Los estudios electrofisiológicos han mostrado que en la mayoría de los pacientes con CMT2, las velocidades de conducción nerviosa son normales, pero las amplitudes de los potenciales motor y sensorial se encuentran reducidas severamente.⁵ Por lo que respecta a los exámenes patológicos, en biopsias de pacientes se ha observado una degeneración axonal con relativa preservación de las vainas de mielina. El subtipo más frecuente de CMT2 es la CMT2A, la cual es causada por mutaciones en el gen MFN2, el cual codifica para la proteína mitofusina 2. La mitofusina 2 es una GTPasa que está involucrada en la fusión de la mitocondria, contribuyendo a su morfología.

CMT4. La CMT4 es una neuropatía con inicio temprano, generalmente desmielinizante y los casos son más severos que los de CMT con fenotipo clásico⁴. La CMT4A inicia habitualmente en la infancia, se caracteriza por una debilidad distal de rápida progresión y una atrofia de las extremidades que conduce a una incapacidad para caminar en la infancia o en la adolescencia temprana, de manera general, los pacientes presentan velocidades de conducción nerviosa disminuidas e hipomielinización.⁸ Prácticamente todos los subtipos pertenecientes a esta categoría presentan una herencia autosómica recesiva. El subtipo que se presenta con mayor frecuencia es el denominado CMT4A, el cual es causado por mutaciones en el gen GDAP1, el producto de este gen es una proteína integral de membrana localizada en la membrana mitocondrial exterior de neuronas y células de Schwann. Los otros subtipos que se encuentran en esta categoría son: CMTB1, 4B1, 4B2, 4C, 4D, 4E, 4F, 4G (HSMN-Russe) y 4H; todas estas formas de la enfermedad tienen diferentes manifestaciones clínicas y sólo comparten como rasgo común el inicio de los signos y síntomas durante la infancia.

CMTX. La CMTX es uno de los tipos más frecuentes de CMT, el subtipo más común se produce por mutaciones en el gen GJB1, el cual codifica para la proteína conexina 32 y se encuentra dentro del cromosoma Xq13.¹⁴ Las conexinas son proteínas de membrana que

facilitan la transferencia de iones y moléculas pequeñas entre células, cuya expresión ha sido demostrada en las células de Schwann. Dado que el gen afectado por la mutación se encuentra localizado en el cromosoma X, esta enfermedad no puede ser heredada de hombre a hombre. Una de sus características clínicas es que los varones experimentan los síntomas en la primera década de vida y son afectados severamente, probablemente por un mecanismo de haploinsuficiencia. Además a menudo la velocidad de conducción nerviosa se encuentra disminuida; mientras que en las mujeres la enfermedad se manifiesta entre los 20-30 años de edad, sigue un curso temporal menos severo y con manifestaciones clínicas moderadas, además de que la neuroconducción se encuentra en valores normales o cercanos a éstos.³ En los pacientes con CMTX se aprecia una correlación entre la velocidad de conducción nerviosa y la severidad de los síntomas, ya que los pacientes más afectados muestran disminución, mientras que los menos afectados la tienen normal o cercana a valores normales. A diferencia de la CMT1, el examen patológico muestra que hay una mayor cantidad de fibras mielinizadas y más fibras en regeneración.

DI-CMT. Los subtipos pertenecientes a esta categoría se caracterizan por presentar un patrón de herencia autosómico dominante, así como velocidades de conducción nerviosa intermedia que oscilan entre 24-54 m/s. De manera general, el inicio clínico de la enfermedad se produce durante la primera o segunda década de la vida; los signos característicos de los pacientes incluyen debilidad distal, moderada pérdida sensorial y ausencia de reflejos en los tendones.⁷ Un rasgo distintivo de los subtipos DI-CMT es que la progresión de las manifestaciones clínicas es lenta y la enfermedad es menos discapacitante que la mayoría de los otros tipos de CMT; por lo tanto, muchos de los pacientes jamás se ven en la necesidad de utilizar sillas de ruedas.⁴ Los subtipos descritos a la fecha son: DI-CMTA, el gen que produce la enfermedad se desconoce a la fecha, pero se sabe que el *locus* se encuentra en el cromosoma 10q24.1–q25.1; el DI-CMTB está relacionado a mutaciones con el gen DNM2 localizado en el cromosoma 19p12–p13.2; DI-CMTC está asociado con mutaciones en el gen YARS, en el cromosoma 1p34–p35 y DI-CMTD, que es provocada por un defecto genético producido en MPZ, en el cromosoma 1q22.⁸

Diagnóstico

Las pruebas de diagnóstico estándar tradicionalmente empleadas incluyen estudios electrofisiológicos (elec-

tromiografía y estudios de velocidad de conducción nerviosa), biopsias de nervio, y más recientemente, técnicas de imagenología de resonancia magnética.¹⁵ Sin embargo, dada la complejidad genética de la CMT, no basta solamente con realizar este tipo de estudios para el diagnóstico, sino que son necesarias pruebas moleculares para poder realizar la correcta identificación del subtipo involucrado.⁴

Antes de realizar cualquier prueba de diagnóstico molecular, es necesario llevar a cabo una valoración clínica exhaustiva, estudios electrofisiológicos y análisis del árbol genealógico para dirigir a los pacientes a la prueba más adecuada.⁷ En ese sentido, para identificar las alteraciones genéticas características de cada subtipo de CMT se encuentran disponibles técnicas de biología molecular como el estudio de fragmentos de restricción de longitud polimórfica (RFLPs), electroforesis en gel de campos pulsados (PFGE), PCR acoplada a electroforesis capilar y análisis de microsatélites, polimorfismos de un solo nucleótido (SNPs), hibridización *in situ* fluorescente (FISH), PCR cuantitativa en tiempo real, amplificación múltiple dependiente de ligación (MLPA), entre otras.¹⁶⁻²¹ Estas herramientas moleculares permiten discriminar entre los distintos tipos de CMT, lo cual es imprescindible para proporcionar un tratamiento adecuado y asesoramiento genético oportuno a los pacientes.⁷

Manejo de la enfermedad

Desafortunadamente, al día de hoy no se conoce una cura definitiva para la CMT y tampoco hay un tratamiento farmacológico estándar disponible. Por lo tanto, el diseño de terapias se realiza de manera individual, basándose en las necesidades de cada paciente. La fisioterapia y la terapia ocupacional ayudan en el mantenimiento de la capacidad de movimiento, mejorando además las funciones y la calidad de vida del paciente. Asimismo, algunos pacientes pueden utilizar dispositivos ortopédicos para mejorar su seguridad y funcionalidad. En algunos casos se pueden realizar cirugías de pies y/o manos. Además de las terapias y los aparatos ortopédicos, el tratamiento sintomático puede tener un impacto sustancial en la calidad de vida de los pacientes.¹ Por ejemplo, los antiinflamatorios no esteroides pueden ayudar a aliviar el dolor en las piernas y la espalda, mientras que los fármacos antiepilépticos son eficaces en el tratamiento del dolor neuropático.

Por otra parte, se están llevando a cabo estudios dirigidos a normalizar los síntomas de la enfermedad por medio de moléculas pequeñas como vitamina C y

onapristona. Si bien estas investigaciones son prometedoras, hasta ahora no hay resultados concluyentes acerca de la probable utilidad terapéutica de estas sustancias para el tratamiento de la CMT.^{22,23}

Asesoramiento genético

El asesoramiento genético que se puede ofrecer a los enfermos de CMT y a sus familiares reviste una importancia central, debido a que, como se mencionó anteriormente, no se conoce cura para esta enfermedad.

En ese sentido, la posibilidad de detectar las mutaciones subyacentes a la enfermedad puede ayudar a determinar los riesgos intrafamiliares de padecerla. Dado que la CMT se rige por los principios de herencia mendeliana, el asesoramiento genético para evitar la recurrencia de CMT en la descendencia puede no ser tan complicado, siempre y cuando la historia familiar del individuo afectado esté bien definida.¹ Por ejemplo, si alguno de los padres está afectado con una forma de CMT autosómica dominante, tiene el 50% de riesgo de tener un hijo con la misma mutación. Para el caso de un padre con una forma de CMT ligada al cromosoma-X, el riesgo de tener un hijo varón afectado es prácticamente nulo, pero el riesgo de tener una hija afectada es del 100%. Mientras que para el caso de una madre con la misma CMT ligada al cromosoma-X, el riesgo de tener un hijo o hija afectado es del 50%.¹

El asesoramiento genético tiene que darse de forma oportuna, aprovechando toda la información disponible (tipo de herencia, genes implicados, parientes afectados, etcétera), para aplicarla en el contexto en el que el asesoramiento sea solicitado.⁸ Asimismo, es necesario ofrecerle al paciente todas las opciones disponibles como son: diagnóstico prenatal, donación de esperma, adopción, etcétera, todo esto en función de sus valores, creencias, cultura y estilo de vida. Todo esto basado en los principios de autonomía y partiendo de la idea de que cada individuo sabe cuáles son las mejores decisiones para su propia vida.

Modelos experimentales

Los modelos experimentales en animales han sido históricamente útiles para el estudio de los procesos fisiopatológicos subyacentes de diversas enfermedades. En el caso de las neuropatías periféricas, estos modelos pueden ser de gran utilidad para la evaluación de nuevos fármacos y terapias para el tratamiento de dichas enfermedades.² Recientemente se han generado modelos transgénicos en ratas y

ratones, empleando varios de los genes involucrados en la patogénesis de las neuropatías. Por ejemplo, los ratones deficitarios de PMP22 constituyen un modelo excelente para la neuropatía hereditaria con propensión a parálisis por presión (NHPP). Como se ha demostrado, en los ratones *knock-out* homocigotos se observa un retraso en el desarrollo de la mielinización y desarrollan estructuras hipomielinizantes. Mientras que los ratones heterocigotos muestran un fenotipo menos agresivo, resultado que apoya la teoría de que la dosis génica es la responsable de los síntomas de la enfermedad.²⁴ Por otra parte, en relación con la duplicación del gen PMP22 responsable de la CMT1A, se han desarrollado modelos de rata y ratón en el que la sobreexpresión del gen PMP22 produce un fenotipo que reproduce algunas de las manifestaciones clínicas, así como anomalías en la velocidad de conducción nerviosa y defectos en la mielinización, las cuales son características de la enfermedad.²⁵⁻²⁷

Conclusiones

La CMT es la neuropatía hereditaria más frecuente a nivel mundial. Existe una gran variedad de subtipos, los cuales muestran diferentes fenotipos clínicos, patrones de herencia y defectos moleculares. Hoy en día se ha avanzado en el conocimiento de los genes y las vías involucradas en la disfunción nerviosa, aunque aún queda mucho por descubrir.

Es crucial conocer el subtipo de CMT que presenta cada individuo para proporcionarle un buen tratamiento clínico, diagnóstico efectivo de los miembros de su familia, un pronóstico válido y asesoramiento genético adecuado. Para ello, los datos clínicos y electrofisiológicos son indispensables para dirigir a los pacientes hacia pruebas diagnósticas moleculares eficientes que permitan identificar el tipo de CMT que afecta a cada uno de ellos.

Finalmente, los modelos animales son una herramienta extremadamente útil para probar nuevos compuestos en pruebas preclínicas, lo que en un futuro cercano permitiría el desarrollo de estrategias farmacológicas para aliviar los síntomas de la enfermedad. Asimismo, tales modelos podrían ser utilizados para evaluar la utilidad de la terapia génica, así como para definir los factores de riesgo ambientales que pudieran agravar la enfermedad.

Bibliografía

1. Zsigeti K and Lupsky JR. Charcot-Marie-Tooth disease. *Eur J Hum Genet* 2009; 17: 703-710.

2. Palau F, Cuesta A, Pedrola L. Avances en la genética molecular de las neuropatías hereditarias. *Rev Neurol* 2002; 35 (3): 246-253.
3. Banchs I, Casasnovas C, Alberti A, De Jorge L, Povedano M, Montero J et al. Diagnosis of Charcot-Marie-Tooth disease. *J Biomed Biotechnol* 2009; 2009: 985415. Epub 2009 Oct 8.
4. Burgunder JM, Schöls L, Baets J, Andersen P, Gasser T, Szolnoki Z et al. EFNS guidelines for the molecular diagnosis of neurogenetic disorders: motoneuron, peripheral nerve and muscle disorders. *Eur J Neurol* 2011; 18 (2): 207-217.
5. Saporta AS, Sottile SL, Miller LJ, Feely SM, Siskind CE, Shy ME. Charcot-Marie-Tooth disease subtypes and genetic testing strategies. *Ann Neurol* 2011; 69 (1): 22-33.
6. Newman CJ, Walsh M, O'Sullivan R, Jenkinson A, Bennet D, Lynch B et al. The characteristics of gait in Charcot-Marie-Tooth disease types I and II. *Gait Posture* 2007; 26 (1): 120-127.
7. Berciano J, Sevilla T, Casasnovas C, Sivera R, Vilchez JJ, Infante J et al. Guía Diagnóstica en el paciente con enfermedad de Charcot-Marie-Tooth. *Neurología* 2011; doi:10.1016/j.nrl.2011.04.015.
8. Patzco A, Shy ME. Update on Charcot-Marie-Tooth disease. *Curr Neurol Neurosci Rep* 2011; 11 (1): 78-88.
9. Birouk N, Gouider R, Le Guern E, Gugenheim M, Tardieu S, Maisonnobe T et al. Charcot-Marie-Tooth disease type 1A with 17p11.2 duplication. Clinical and electrophysiological phenotype study and factors influencing disease severity in 119 cases. *Brain* 1997; 120 (5): 813-823.
10. Nodera H, Bostock H, Kuwabara S, Sakamoto T, Asanuma K, Jia-Ying S et al. Nerve excitability properties in Charcot-Marie-Tooth disease type 1A. *Brain* 2004; 127 (Pt 1): 203-211.
11. Hanemann CO, D'Urso D, Gabreëls-Festen AA, Müller HW. Mutation-dependent alteration in cellular distribution of peripheral myelin protein 22 in nerve biopsies from Charcot-Marie-Tooth type 1A. *Brain* 2000; 123 (Pt 5): 1001-1006.
12. D'Urso D, Prior R, Greiner-Petter R, Gabreëls-Festen AA, Müller HW. Overloaded endoplasmic reticulum-Golgi compartments, a possible pathomechanism of peripheral neuropathies caused by mutations of the peripheral myelin protein PMP22. *J Neurosci* 1998; 18 (2): 731-740.
13. Kochanski A. How to assess the pathogenicity of mutations in Charcot-Marie-Tooth disease and other diseases? *J Appl Genet* 2006; 47 (3): 255-260.
14. Dubourg O, Tardieu S, Birouk N, Gouider R, Léger JM, Maisonnobe T et al. Clinical, electrophysiological and molecular genetic characteristics of 93 patients with X-linked Charcot-Marie-Tooth disease. *Brain* 2001; 124 (Pt 10): 1958-1967.
15. Gallardo E, García A, Combarros O, Berciano J. Charcot-Marie-Tooth disease type 1A duplication: spectrum of clinical and magnetic resonance imaging features in leg and foot muscles. *Brain* 2006; 129 (Pt 2): 426-437.
16. Chen SR, Lin KP, Kuo HC, Chen CM, Hsieh ST, Lee MJ et al. Comparison of two PCR-based molecular methods in the diagnosis of CMT 1A and HNPP diseases in Chinese. *Clin Neurol Neurosur* 2008; 110 (5): 466-471.
17. Choi JR, Lee WH, Sunwoo IN, Lee EK, Lee CH, Lim JB. Effectiveness of real-time quantitative PCR compare to repeat PCR for the diagnosis of Charcot-Marie-Tooth Type 1A and hereditary neuropathy with liability to pressure palsies. *Yonsei Med J* 2005; 46 (3): 347-352.
18. Fischer C, Trajanoski S, Papić L, Windpassinger C, Bernert G, Freilinger M et al. SNP array-based whole genome homozygosity mapping as the first step to a molecular diagnosis in patients with Charcot-Marie-Tooth disease. *J Neurol* 2011; doi:10.1007/s00415-011-6213-8.
19. Lorentzos P, Kaiser T, Kennerson ML, Nicholson GA. A rapid and definitive test for Charcot-Marie-Tooth 1A and hereditary neuropathy with liability to pressure palsies using multiplexed real-time PCR. *Genet Test* 2003; 7 (2): 135-138.
20. Ruiz-Ponte C, Carracedo A, Barros F. Duplication and deletion analysis by fluorescent real-time PCR-based genotyping. *Clin Chim Acta* 2006; 363 (1-2): 138-146.
21. Stangler-Herodez S, Zagradisnik B, Erjavec SA, Zagorac A, Kokalj VN. Molecular diagnosis of PMP22 gene duplications and deletions: comparison of different methods. *J Int Med Res* 2009; 37 (5): 1626-1631.
22. Burns J, Ramchandren S, Ryan MM, Shy M, Ouvrier RA. Determinants of reduced health-related quality of life in pediatric inherited neuropathies. *Neurology* 2010; 75 (8): 726-731.
23. Pareyson D, Reilly MM, Schenone A, Fabrizi GM, Cavallaro T, Santoro L et al. Ascorbic acid in Charcot-Marie-Tooth disease type 1A (CMT-TRIAAL and CMT-TRAUK): a double-blind randomized trial. *Lancet Neurol* 2011; 10 (4): 320-328.
24. Myers JK, Mobley CK, Sanders CR. The peripheral neuropathy-linked Trembler and Trembler-J mutant forms of peripheral myelin protein 22 are folding-destabilized. *Biochemistry* 2008; 47 (40): 10620-10629.
25. Huxley C, Passage E, Robertson AM, Youl B, Huston S, Manson A et al. Correlation between varying levels of PMP22 expression and the degree of dysmyelination and reduction in nerve conduction velocity in transgenic mice. *Hum Mol Genet* 1998; 7 (3): 449-458.
26. Niemann S, Sereda MW, Rossner M, Stewart H, Suter U, Minck HM et al. The "CMT rat": peripheral neuropathy and dysmyelination caused by transgenic overexpression of PMP22. *Ann N Y Acad Sci* 1999; 883: 254-261.
27. Niemann S, Sereda MW, Suter U, Griffiths IR, Nave KA. Uncoupling of myelin assembly and Schwann cell differentiation by transgenic overexpression of peripheral myelin protein 22. *J Neurosci* 2000; 20 (11): 4120-4128.