

## Charcot-Marie-Tooth – gonosomálně dominantní typ (CMTX1) – první nálezy mutací v genu pro connexin 32 v České republice

Seeman P.<sup>1,2</sup>, Mazanec R.<sup>3</sup>, Hrušáková Š.<sup>1</sup>, Čtvrtečková M.<sup>1</sup>, Rašková D.<sup>2</sup>, Paděrová K.<sup>1</sup>, Perníková I.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Klinika dětské neurologie, Praha

<sup>2</sup> Ústav biologie a lékařské genetiky, Praha

<sup>3</sup> Neurologická klinika 2. LF UK a FN Motol, Praha

### Souhrn

Choroba Charcot-Marie-Tooth (CMT) se může dědit buď autosomálně dominantně či recesivně, nebo vázaně na X-chromozom. X-chromozomálně dominantní choroba Charcot-Marie-Tooth (CMTX) je motoricko-senzorická neuropatie, při které jsou muži postiženi více a dříve než ženy a mají obvykle i nižší rychlostí vedení periferním nervem a v rodokmenu nikdy nedochází k přenosu afekce z otce na syna. U velké části rodin s CMTX jsou nacházeny mutace v genu pro gap junction protein connexin 32 (Cx32). Vybrali jsme 6 rodin s výskytem demyelinizačního typu choroby CMT, kde nebyla prokázána ani duplikace v chromozomální oblasti 17p11.2-12, ani přenos z muže na muže v rodině. Pomocí přímého sekvenování jsme vyšetřili celou kódující oblast Cx32 genu u celkem 29 osob. V 5 rodinách u celkem 19 osob jsme prokázali mutace typu missense, které segregovaly s postižením v rodině. Všechny tři nalezené mutace byly již v minulosti popsány u pacientů s CMTX. Tyto výsledky potvrzují vysokou frekvenci výskytu mutací v Cx32 genu mezi CMT 1 pacienty se středně sníženou rychlostí vedení periferním nervem, u kterých nebyla nalezena duplikace v oblasti 17p11.2-12. Poukazujeme na význam a častý výskyt X-vázaně dominantní dědičnosti u CMT. Jde o první sdělení o prokázaných CMTX rodinách v České republice.

**Klíčová slova:** choroba Charcot-Marie-Tooth, neuropatie

### Summary

Seeman P., Mazanec R., Hrušáková Š., Čtvrtečková M., Rašková D., Paděrová K., Perníková I.: Charcot-Marie-Tooth Gonosomal Dominant Type (CMTX1) – First Findings of Mutations in the Gene for Connexin 32 in the Czech Republic

Charcot-Marie-Tooth disease (CMT) can be inherited either in an autosomal dominant way or recessively linked to the X chromosome. X chromosome dominant Charcot-Marie-Tooth (CMTX) is a motor sensory neuropathy which affects men more and earlier than women and men have as a rule a lower rate of conduction in the peripheral nerve, and in the pedigree the affection is never transmitted from father to son. In a great majority of families with CMTX there are mutations in the gene for the gap junction protein connexin 32 (Cx32). The authors selected six families with demyelination type of CMT disease where neither duplication in the chromosomal area 17p11.2-12 nor transfer from male to male in the family was proved. By direct examination the authors investigated the whole coding area of the Cx gene in a total of 29 subjects. In five families, in a total of 19 subjects, mutations of the missense type were detected, which segregate with the affection in the family. All three detected mutations were described already in the past in patients with CMTX. These results confirm the high frequency of mutations in the Cx32 gene among CMT 1 patients with a reduced rate of conduction in the peripheral nerve, where duplication in the area 17p11.2-12 was found. The authors draw attention to the importance and frequent incidence of X-linked dominant heredity in CMT. This is the first communication on confirmed CMTX families in the Czech Republic.

**Key words:** Charcot-Marie-Tooth disease, neuropathy

O.

Práce byla prezentována v předběžné podobě ve formě posteru na 32. Sjezdu společnosti lékařské genetiky 15.–17. 9. 1999 v Olomouci a ve formě přednášky na 3. celostátní konferenci DNA diagnostiky s mezinárodní účastí 3.–4. 12. 1999 v Praze.

## Úvod

Charcot-Marie-Tooth (CMT) neuropatie jsou heterogenní skupinou častých dědičných onemocnění periferních nervů (1).

Jednotná klasifikace dědičných polyneuropatií v současné době neexistuje. Pomocí EMG vyšetření však lze celkem spolehlivě odlišit častější typ I – demyelinizační, tedy s nízkou rychlostí vedení periferním nervem od vzácnějšího typu II – axonálního s normální nebo jen lehce sníženou rychlostí vedení. U typu I jsou t. č. známy 4 zodpovědné geny: gen pro periferní myelin protein 22 (PMP22), gen pro connexin 32 (Cx32), gen pro myelin protein 0 (MPZ) a early growth factor 2 (EGR2). Pro typ II dosud žádný zodpovědný gen objeven nebyl (2).

Nejčastějším způsobem dědičnosti u CMT je autosomálně dominantní přenos (AD) u typu IA na podkladě duplikace oblasti 17p11.2-12 včetně genu PMP22 (3).

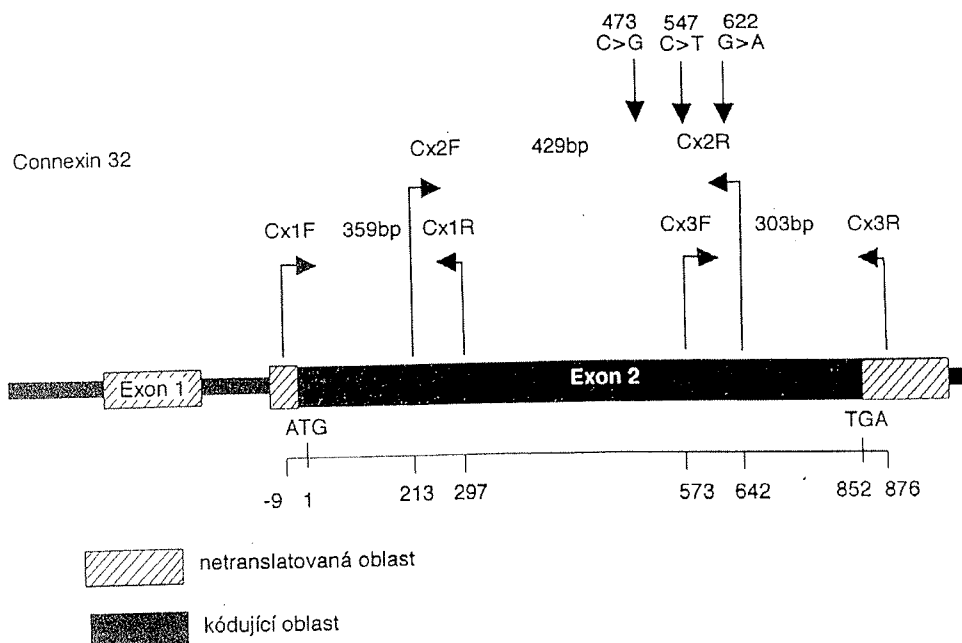
Gonosomálně dominantní typ dědičnosti u CMTX1 následkem mutací v genu pro connexin 32 (Cx32) je druhým nejčastějším způsobem přenosu u dědičných periferních neuropatií (HMSN) (4). Mezi dědičnými periferními neuropatiemi jsou popisovány i autosomálně recesivní formy s obvykle těžším fenotypem, kde též dosud není znám žádný zodpovědný gen (5, 6).

CMTX1 tvoří kolem 10 % z případů s demyelinizačním, tedy I. typem CMT (7, 8). Muži bývají obvykle výrazněji a dříve postiženi než ženy a mívají nižší rychlosti vedení periferním nervem (9–11). Některé ženy jsou zcela bez subjektivních i klinických obtíží a jejich hodnoty rychlosti vedení při EMG mohou odpovídat spíše II. typu CMT. V průměru jsou u mužů i žen s CMTX rychlosti vedení vyšší (30–40 m/s) než

u nejčastější formy CMT, tedy CMT1A s duplikací na chromozomu 17p (20–30 m/s) (9, 12).

Genealogie v rodinách s CMTX1 budí na první pohled díky vertikálnímu přenosu afekce a postižení obou pohlaví většinou dojem autosomálně dominantního způsobu dědičnosti. Pokud však v rodokmenu neexistuje přenos afekce z muže na muže, je vždy nutno uvažovat i o možnosti gonosomálně dominantního typu dědičnosti (13)! Mezi rodinami zařazenými mezi typ II CMT se proto mohou skrývat ve skutečnosti pacienti s mutacemi v Cx32 genu (9, 21). Po vyloučení CMT1A duplikace v rodině, kde neexistuje přenos afekce z muže na muže by se mělo pátrat po mutacích v genu Cx32 (21).

Gen pro protein connexin 32 je dosud jediným známým X vázaným genem u CMT. Connexin 32 je gap junction protein s funkcí kanálu pro rychlý radiální transport iontů a malých molekul mezi perinukleárním a periaxonálním kompartmentem Schwannových buněk, tedy napříč jednotlivými záhyby myelinových pochev periferního nervu. Tento protein má intracelulárně uložené C- a N-terminální domény, dále 4 transmembránové a 2 extracelulární domény a jednu další intracelulární doménu. Změna funkce kanálu následkem mutací v Cx32 genu vede v konečném důsledku k poškození myelinové pochvy axonu a sekundárně i k axonopatii (14). Experimentálně však bylo prokázáno, že tento radiální transport malých molekul musí být zajišťován i jinými podobnými kanály (15). Jsou však i práce, udávající primární axonopatii, následkem mutací v Cx32 u CMTX1 (9). Tyto závěry jedné práce, opírající se o nálezy snížené amplitudy složeného svalového akčního potenciálu (CMAP) a popsané axonální neuropatii v biopsii nervus suralis jednak vycházejí z malého počtu vyšetře-



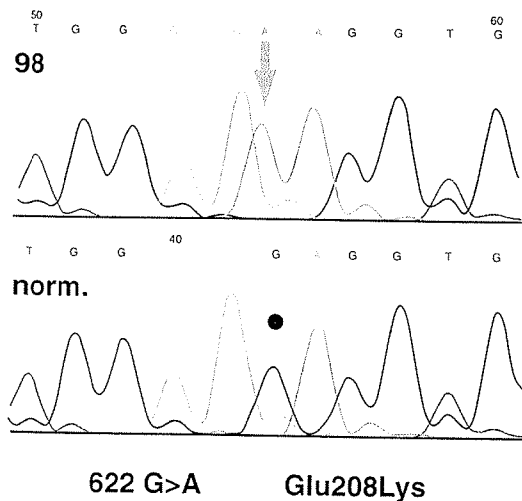
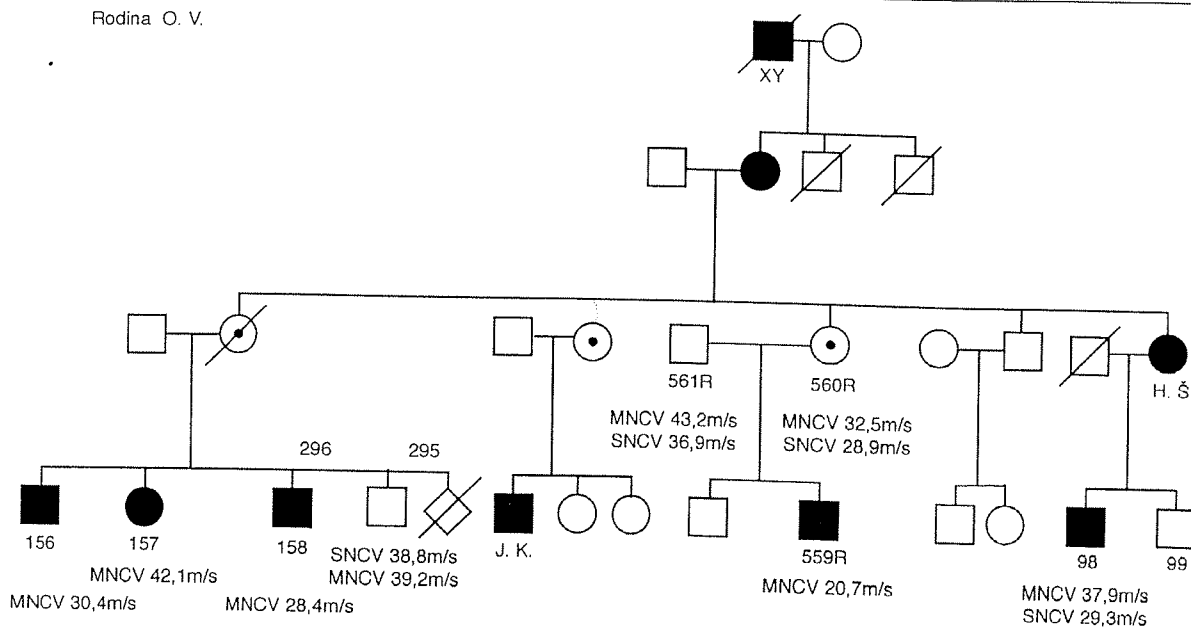
Obr. 1. Schematické zobrazení genu Cx32, pozice použitých tří sad primerů a pozice zjištěných mutací. Číslo pod schématem koresponduje s pozicemi nukleotidů, kde č. 1 je prvním nukleotidem v kódující oblasti.

**Tab. 1.** Hlavní diagnostická kritéria pro CMTX1.

1. deformity nohou – pes cavus
2. distální svalové atrofie – více a dříve na DK
3. poruchy chůze a distální svalová slabost
4. poruchy čítí, parestézie hlavně na DK
5. snížené či vymizelé šlachosvalové reflexy
6. obvykle výraznější a dřívější postižení mužů než žen
7. zhoršení obtíží a snížení rychlosti vedení na EMG u žen v dospělosti a vyšším věku a obvykle poměrně stabilní průběh u mužů
8. na EMG středně snížená motorická i sensorická rychlost vedení periferním nervem (obv. 30 – 40 m/s)
9. vertikální způsob přenosu v rodině bez přenosu z muže na muže
10. vyloučení CMT1A duplikace na chromozomu 17p
11. vyloučení zevní příčiny obtíží

ných pacientů a byly dalšími autory výrazně zpochybněny (16).

Cx32 gen je malý, se dvěma exony, kde pouze 849 bází v exonu 2 kóduje 283 aminokyselin (17) (obr. 1). V tomto genu bylo popsáno již přes 220 různých mutací – většinou typu missense, ale často i další typy, většinou bodových mutací, které jsou rovnoměrně rozptýleny po celé kódující oblasti a promotoru, bez známek nakupení v některém místě (18, 19). Tato situace tudíž vyžaduje kompletní sekvenování celé kodogenní oblasti genu ve vybraných rodinách. Téměř všechny mutace jsou zděděné a vznik de novo je velmi vzácný (20). Proto je nutné pacienta s CMT vždy vidět v kontextu celé rodiny a dovyšetřit klinicky i elektrofyziologicky jeho příbuzné v riziku. V tomto sdělení uka-



Výsledky sekvenční analýzy Cx32 genu v rodině O. V. Místo mutace je označeno šipkami. Proband 98 má v pozici 547 pouze homozygotní mutovaný signál A (zelený), na spodní řádce je pro srovnání stejné místo u zdravé osoby – normální signál G (černý).

**Obr. 2.** Rodina O. V.

98 – 24 let, v 9 letech zakopávání, v 16 letech problémy s jemnou motorikou, atrofie interoseálních svalů rukou a svalů thenaru, ↓ citlivost pro bolest na teplo na HK, rr. L2-S2 nevybavné, ↓ MNCV, ↓ SNCV, homozygot pro 622 G → A

99 – 26 let, bez subjektivních obtíží, EMG dosud nevyšetřeno, homozygot pro 622 G → A

156 – 21 let, pes cavus bilat., areflexie + taktilní hypestézie akrálně na HK i DK, atrofie svalů předloktí a bérce, pallestesie na DK, peroneální chůze, kontraktury Achill. šlach, ↓ MNCV, homozygot pro 622 G → A

157 – 19 let, sledována od r. 1993, rr. C5-8 jen ve stopě, rr. L2-S2 nevybavné, lehká atrofie svalstva bérce, kontraktury Achill. šlach, chůze po patách nelze, ↓ MNCV, heterozygot G/A v pozici 622

158 – 18 let, pes cavus bilat., kontraktury Achill. šlach, lehká atrofie svalstva bérce + akrálně na HK, rr. C5-8 výrazně snížené, pallestesie na DK, chůze po patách nelze, ↓ ↓ MNCV, homozygot pro 622 G → A

559R – 19 let, v r. 1994 třes rukou, 1995 myalgie, pedes plani, naznačeny kladivkovité prsty, chůze ataktická, ↓ ↓ MNCV homozygot pro 622 G → A

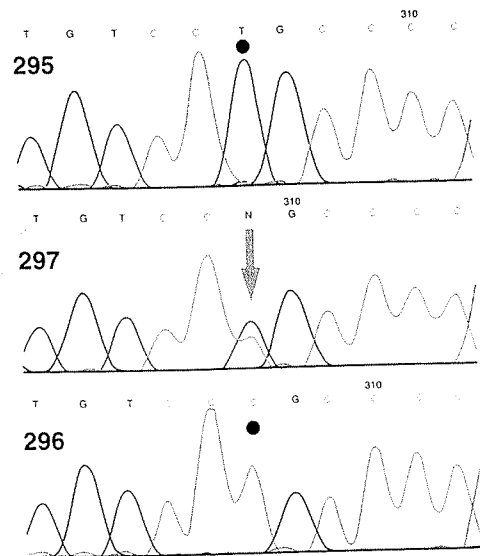
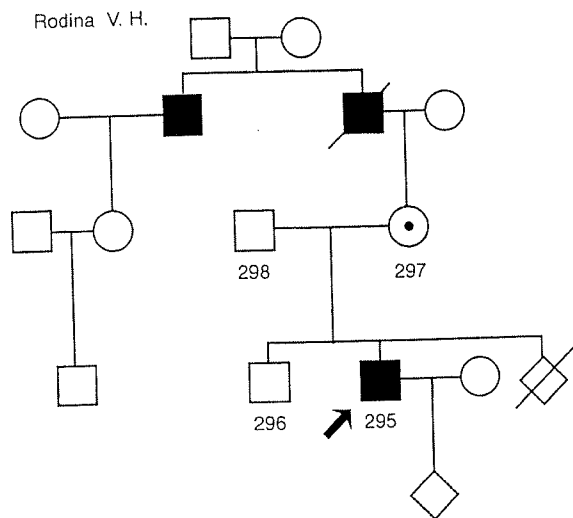
560R – 46 let, bez subjektivních obtíží, ↓ MNCV, ↓ SNCV, heterozygot G/A v pozici 622

561R – 50 let, zdravý, nemá mutaci v Cx32 genu

J. K. – 19 let, sledován pro HMSN, EMG + DNA vyšetření neprovedeno

H. Š. – 48 let, vedena pod diagnózou degenerativní onemocnění spinocerebelárního charakteru

X. Y. – zemřel v 63 letech, výrazné svalové atrofie

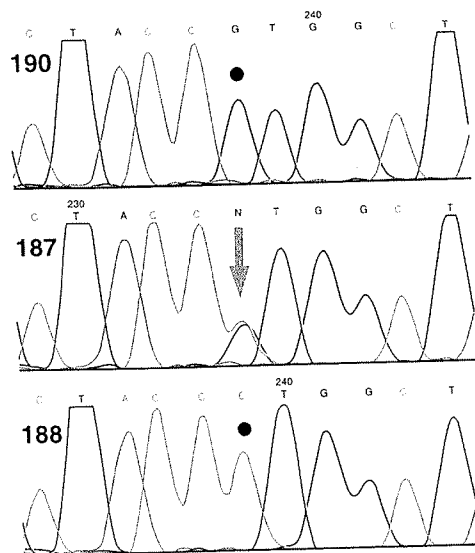
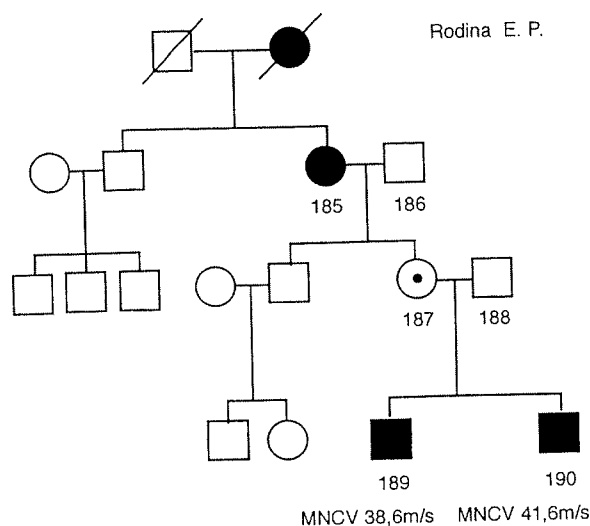


547 C>T Arg183Cys

Obr. 3. Rodina V. H.

295 – 23 let, hypotonie a hypotrofie thenaru a interoseálních svalů, na DK rr. L2/4 nízké, L5-S2 nevybavné, v distální třetině bérce hypotrofie svalů a hypestézie, akrálně snížené vnímání ladičky, našlapuje na zevní hranu chodidla, chůze po patách nelze, naznačena stepáž, EMG nevyšetřeno, homozygot pro 547 C → T  
 296 – 25 let, zdrav, nemá mutaci v Cx32 genu  
 297 – 47 let, bez obtíží, bližší údaje chybí, EMG nevyšetřeno, heterozygot C/T v pozici 547  
 298 – 48 let, zdrav, nemá mutaci v Cx32 genu

Výsledky sekvenační analýzy Cx32 genu v rodině V. H. Místo mutace je označeno šipkami. Proband 295 má pouze homozygotní mutovaný signál T (červený), jeho matka – č. 297 má v pozici 547 signály dva T i C (modrý i červený) a je tedy heterozygot pro mutaci, č. 296 – zdravý bratr probanda má ve stejné pozici pouze normální signál C (modrý).

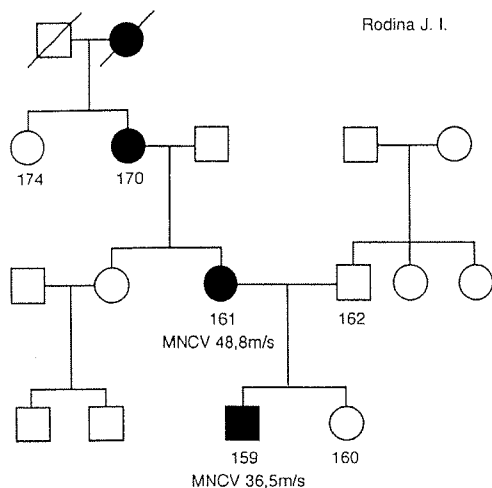


473 C>G Pro158 Arg

Obr. 4. Rodina E. P.

185 – 58 let, slabost DK od středního věku, chůze s obtížemi, potíže menšího rozsahu než u dcery, EMG nevyšetřeno, heterozygot C/G v pozici 473  
 186 – 64 let, neurologicky zdrav, nemá mutaci v Cx32 genu  
 187 – 35 let, slabost DK od školního věku, svalové atrofie na DK, peroneální chůze, po 2. porodu výrazné zhoršení, heterozygot C/G v pozici 473  
 188 – 36 let, neurologicky zdrav, nemá mutaci v Cx32 genu  
 189 – 14 let, na HK hypo- až areflexie bilat., hypotrofie thenaru, neobratnost drobných svalů ruky, taktilní hypestézie akrálně, na DK hyporeflexie L2-S2 bilat., lehké atrofie bilat., zejm. akrálně, menší výkonnost, myalgie, ↓ MNCV, ↓ SNCV, homozygot pro 473 C → G  
 190 – 7 let, bez výrazných subjektivních obtíží, na HK výrazná hyporeflexie, taktilní hypestézie akrálně, na DK lehká hyporeflexie, ↓ MNCV, ↓ SNCV, homozygot pro 473 C → G

Výsledky sekvenační analýzy Cx32 genu v rodině E. P. Místo mutace je označeno šipkami. Proband 190 má pouze homozygotní mutovaný signál G (černý), jeho matka č. 187 má v pozici 473 signály dva G i C (modrý i černý) a je tedy heterozygot pro mutaci, č. 188 – zdravý otec probanda má ve stejné pozici pouze normální signál C (modrý).



**Obr. 5.** Rodina J. I.

159 – 13 let, obtíže od batolecího věku, pedes excavati, areflexie L5-S2, chůze nejistá, na paty se nepostaví, ↓ MNCV homozygot pro 547 C → T

160 – 18 let, bez obtíží, neurologicky norm., nemá mutaci v Cx32 genu

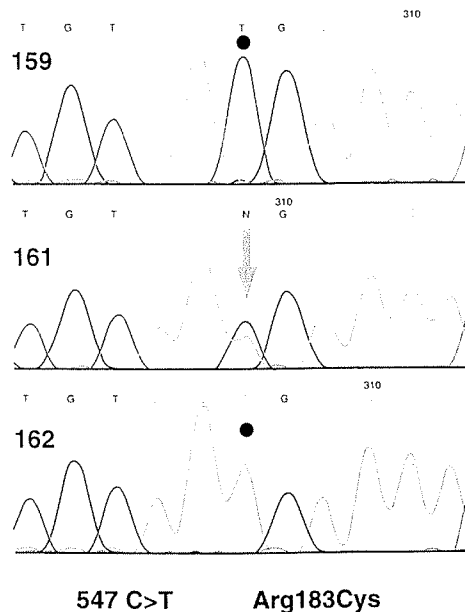
161 – 38 let, pedes excavati od batolecího věku, hraniční MNCV, heterozygot C/T v pozici 547

162 – 40 let, bez obtíží, neurologicky norm., nemá mutaci v Cx32 genu

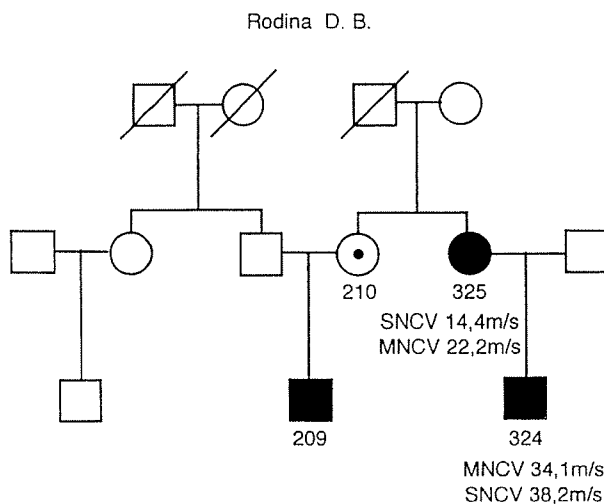
170 – 60 let, pedes excavati, chůze nejistá, EMG dosud nevyšetřeno, heterozygot C/T v pozici 547

171 – 65 let, bez obtíží, EMG nevyšetřeno, nemá mutaci v Cx32 genu

174 – 64 let, zdravá, nemá mutaci v Cx32 genu



Výsledky sekvenační analýzy Cx32 genu v rodině J. I. Místo mutace je označeno šipkami. Proband 159 má pouze homozygotní mutovaný signál T (červený), jeho matka č. 161 má v pozici 547 signály dva T i C (modrý i červený) a je tedy heterozygot pro mutaci, č. 162 – zdravý otec probanda má ve stejné pozici pouze normální signál C (modrý).



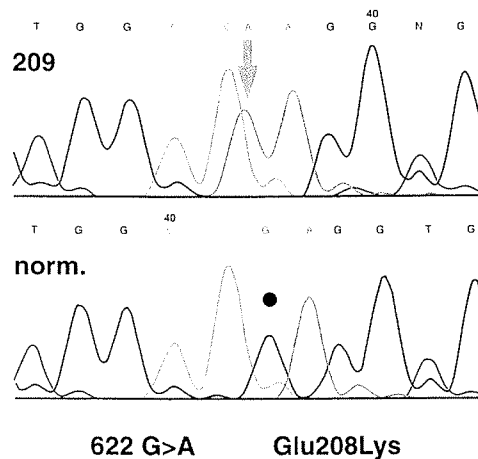
**Obr. 6.** Rodina D. B.

209 – 21 l., hyporeflexie na HK, areflexie na DK, chůze peroneální, stáčí nohy dovnitř, zkrácení Achill. šlach, EMG nevyšetřeno, homozygot pro 622 G → A

210 – 42 l., klinicky bez obtíží, EMG nevyšetřeno, heterozygot G/A v pozici 622

324 – 10 l., pes cavus, lehké zkrácení Achill. šlach, chůze nekonstantně po špičkách, naznač. kolébavá, na delší vzdálenost nelze, lehce ↓ MNCV, SNCV, homozygot pro 622 G → A

325 – 37 l., obtíže od 18 let, pozvolná progresse, zhoršení po porodu (1989), výrazné atrofie drobných svalů nohy a bérce, pes cavus, zkrácení Achill. šlach, peroneální chůze, hypersenzitivita kůže akrálních částí, výrazně snížena MNCV a SNCV, heterozygot G/A v pozici 622



Výsledky sekvenační analýzy Cx32 genu v rodině D. B. Místo mutace je označeno šipkami. Proband 209 má v pozici 547 pouze homozygotní mutovaný signál A (zelený), na spodní řádce je pro srovnání stejné místo u zdravé osoby – normální signál G (černý).

zujeme soubor prvních pěti prokázaných českých rodin s CMTX, kde jsme našli jako příčinu afekce mutace v genu Cx32.

## Metodika

Ze souboru pacientů a rodin s dědičnými neuropatiemi byly vybrány rodiny s demyelinizačním nebo intermediárním typem CMT, kde nedochází k přenosu z muže na muže, a kde jsme v minulosti neprokázali nejčastější CMT mutaci, tedy CMT1A duplikaci na 17p (2). DNA byla izolována z periferních lymfocytů. Kódující oblast genu Cx32 byla amplifikována ve třech navzájem se překrývajících PCR fragmentech pomocí 3 párů primerů (Cx1F, Cx1R, Cx2F, Cx2R, Cx3F, Cx3R – <http://mol-gen-www.uia.ac.be/cmt/DefaultProtocols.htm>) (obr. 1). PCR produkty byly po purifikaci pomocí kolonek QIAquick (Qiagen – Německo) přímo neradioaktivně sekvenovány pomocí kitu BigDye Terminator (Perkin-Elmer – USA) a analyzovány na kapilárním sekvenátoru ABI 310 (Perkin-Elmer – USA). Získané sekvence byly porovnány s publikovanou sekvencí Cx32 genu (17).

## Výsledky

Celkem 6 rodin, které splňovaly naše diagnostická kritéria pro CMTX1 (tab. 1) bylo vyšetřeno na genové úrovni. Zodpovědná kodogenní mutace v genu Cx32 byla nalezena v 5 rodinách (83 %) u celkem 19 jedinců. Celkem byly v nepříbuzných 5 rodinách nalezeny 3 různé mutace, již známé a v minulosti popsané (19). Šlo ve všech případech o missense mutace, tedy výměny DNA bází, rezultující ve výměnu aminokyseliny, konkrétně: C → G v pozici 473 (prolin za arginin v pozici 158), C → T v pozici 547 (arginin za cystein v pozici 183) a G → A v pozici 622 (glutamin za lyzin v pozici 208) (obr. 1). Tyto mutace jsme našli pouze u klinicky postižených členů rodin a nebyly nalezeny u žádné jiné vyšetřované osoby. Nález mutace G → A v pozici 622 byl potvrzen i štěpením restriktivním enzymem Sty I. Nalezené mutace vždy segregovaly s postižením v rodině.

Klinické a elektrofyziologické údaje o členech rodiny a výsledky sekvenační analýzy u vybraných členů rodiny jsou na obrázcích 2–6. Osoby označené číslem byly vyšetřeny na DNA úrovni. O osobách označených písmeny, resp. iniciálami jsme měli pouze klinické a anamnestické údaje. Plné černé symboly označují klinicky postižené jedince, symboly s tečkou označují ženy přenašečky bez klinických či subjektivních obtíží. MNCV znamená motorickou rychlost vedení periferním nervem, SNCV znamená senzoričnou rychlost vedení periferním nervem.

## Závěry a diskuse

CMTX1 je druhým nejčastějším geneticky definovaným typem dědičných periferních neuropatií. Gonoso-

málně dominantní (GD) způsob přenosu je sice obecně velmi vzácný, ale ve skupině dědičných periferních neuropatií je po AD dědičnosti druhým nejčastějším (3). Podle literatury lze po vyloučení CMT1A duplikace na chromozomu 17p nalézt mutace v Cx32 genu při cíleném vyšetření až ve 40–91 % případů (8, 21). V diferenciatní diagnóze a při genetickém poradenství v rodinách s dědičnými neuropatiemi je nezbytné možný GD způsob přenosu cíleně sledovat, zvažovat a diskutovat. Ze šesti vybraných vyšetřovaných rodin s intermediárním fenotypem a bez přenosu z otce na syna jsme v pěti rodinách našli zodpovědnou mutaci v genu Cx32. V těchto pěti pozitivních rodinách jsme našli tři různé mutace. Dvě z nich (Pro158Arg a Arg183Cys) jsou lokalizovány ve druhé extracelulární doméně proteinu Cx32 a jedna (Glu208Lys) ve třetí intracelulární doméně connexinu 32.

Ve dvou rodinách byla nalezena dvakrát stejná mutace (rodina D. B. a O. V.; J. I. a V. H.). Tyto rodiny se stejnými mutacemi však pocházejí ze zcela odlišných a vzdálených oblastí naší republiky, takže jejich příbuzenský vztah je dosti nepravděpodobný.

Fenotypy u postižených členů rodin byly spíše lehčí až přechodné, bez těžkého postižení, ale s relativně časným začátkem u chlapců. Mírnější postižení odpovídá dosud publikovaným klinickým nálezům o missense mutacích v Cx32 genu. Těžší postižení rezultuje obvykle až z mutací, které posunují čtecí rámec a výrazněji ovlivňují syntézu proteinu (9).

Elektrofyziologické nálezy v rodinách CMTX1 jsou většinou odlišné od nálezů v rodinách s CMT1A, nicméně existuje významná překrývající se část jak s typem I, tak s typem II. Podle našich vědomostí jde o první sdělení o nálezů mutací v Cx32 genu v České republice. Toto sdělení opět zdůrazňuje nezbytnou komplexnost v přístupu k neurogenetickým onemocněním a nepostradatelnost co nejúplnějších genealogických, klinických a laboratorních údajů o pacientovi a jeho rodině. DNA diagnostika je metodou volby jen pro přesnou nozologickou klasifikaci a opěrným bodem pro veškeré další genetické úvahy. Hledání bodových mutací v Cx32 je poměrně nákladné a vyžaduje proto zcela exaktní předchozí klinickou diagnózu a indikaci.

Přímé sekvenování bez předchozích screeningových metod jako SSCP jsme zvolili vzhledem k malé velikosti kódující oblasti genu Cx32 a pro očekávanou velkou pravděpodobnost záchytu zodpovědných mutací v dobře vybraném souboru CMT rodin.

Průkaz gonosomálně dominantní formy CMT má zásadní význam pro určení rizika pro potomky, kdy postižený muž bude mít všechny syny zdravé a všechny dcery budou nosičky mutace a budou postiženy, i když spíše jen lehce. Naopak postižená žena či žena přenašečka má 50% riziko postižení pro všechny potomky bez rozdílu pohlaví, přičemž synové bývají obecně výrazněji postiženi než dcery.

## Poděkování

Děkujeme doc. MUDr. A. Šantavé, CSc. (rodina E. P.), MUDr. I. Šubrtovi (rodina V. H.) a prof. MUDr. J. Hyánkovi, DrSc. a MUDr. T. Maříkové, CSc. (rodina D. B.) za poskytnutí rodin k molekulárně genetickému vyšetření a za zprostředkování klinických a genealogických údajů o rodinách. Tyto výsledky by nebyly možné bez úzké spolupráce všech zúčastněných stran – rodina, klinický neurolog, elektrofyziolog, klinický genetik, molekulární genetik.

## Literatura

1. Rautenstrauss B, Liehr T, Fuchs C, et al. Molekulargenetische Diagnostik der Charcot-Marie-Tooth'schen Erkrankung. *Med Genetik* 1997; 9: 501–504.
2. Seeman P, Mazanec R, Bojar M, et al. Charcot-Marie-Tooth 1 (CMT1) a tomakulózní neuropatie (HNPP) – průkaz specifických DNA duplikací a delecí v oblasti 17p11.2-12 pomocí sady dinukleotidových markerů. *Čes a slov Neurol Neurochir* 1999; 62/95 (4): 212–218.
3. Nelis E, Van Broeckhoven C, coauthors. Estimation of the mutation frequencies in Charcot-Marie-Tooth disease type 1 and hereditary neuropathy with liability to pressure palsies: an European collaborative study. *Eur J Hum Genet* 1996; 4: 25–33.
4. Lupski JR. DNA diagnostics for Charcot-Marie-Tooth disease and related inherited neuropathies. *Clin Chem* 1996; 42 (7): 995–998.
5. Kesali M, Zemmouri R, Guilbot A, et al. A clinical, electrophysiologic, neuropathologic and genetic study of two large Algerian families with an autosomal recessive demyelinating form of Charcot-Marie-Tooth disease. *Neurology* 1997; 48: 867–873.
6. Ben Othmane K, Loeb D, Hayworth-Hodgte R, et al. Physical and genetic mapping of the CMT4A locus and exclusion of PMP2 as a defect in CMT4A. *Genomics* 1995; 28: 286–290.
7. Ionasescu V, Trofatter J, Haines LJ, et al. Mapping of the gene for X-linked dominant Charcot-Marie-Tooth neuropathy. *Neurology* 1992; 42: 903–908.
8. Nicholson GA, Yeung L, Corbett A, et al. Efficient neurophysiologic selection of X-linked Charcot-Marie-Tooth families: ten novel mutations. *Neurology* 1998; 51 (5): 1412–1416.
9. Birouk N, LeGuern E, Maissonobe T, et al. X-linked Charcot-Marie-Tooth disease with connexin 32 mutations: clinical and electrophysiological study. *Neurology* 1998; 50 (4): 1074–1082.
10. Ionasescu V, Ionasescu R, Searby C. Correlation between Connexin 32 gene mutations and clinical phenotype in X-linked dominant Charcot-Marie-Tooth neuropathy. *Am J Med Genet* 1996; 63: 486–491.
11. Bone LJ, Dahl N, Lensch MW. New connexin 32 mutations associated with X-linked Charcot-Marie-Tooth disease. *Neurology* 1995; 45: 1863–1866.
12. Fischbeck KH, Ritter A, Shi Y, et al. Charcot-Marie-Tooth disorders: pathophysiology, molecular genetics and therapy. New York: Wiley-Liss, 1990.
13. Harding AE. From syndrome of Charcot, Marie and Tooth to disorders of peripheral myelin proteins. *Brain* 1995; 118: 809–818.
14. Ressot C, Gomes D, Dautigny A, et al. Connexin 32 mutations associated with X-linked Charcot-Marie-Tooth disease show two distinct behaviors: loss of function and altered gating properties. *J Neurosci* 1998; 18 (11): 4063–4075.
15. Balice-Gordon RJ, Bone LJ, Scherer SS. Functional gap junctions in Schwann cell myelinated sheath. *J Cell Biol* 1998; 142 (4): 1095–1104.
16. Scherer SS, Fischbeck KH. Is CMTX an axonopathy? *Neurology* 1999; 52 (2): 432–433.
17. Kumar NM, Gilula NB. Cloning and characterization of human and rat liver cDNAs coding for a gap junction protein. *J Cell Biol* 1986; 103: 767–776.
18. Nelis E, Haites N, Van Broeckhoven C. Mutations in the peripheral myelinated genes and associated genes in inherited peripheral neuropathies. *Hum Mutat* 1999; 13: 11–28.
19. <http://holgen-www-uia.ac.be/CMTMutations/Default.htm>
20. Meggouh F, Benomar A, Rouger H, et al. The first de novo mutation of connexin 32 gene associated with X-linked Charcot-Marie-Tooth. *J Med Genet* 1998; 35: 251–252.
21. Rouger H, Le Guern E, Birouk N, et al. Charcot-Marie-Tooth disease with intermediate motor nerve conduction velocities: characterisation of 14 Cx32 mutations in 35 families. *Hum Mutat* 1997; 10: 443–452.

*Práce byla podpořena z grantu IGA MZ ČR č. M/3-3 a byla součástí výzkumného záměru 2. LF UK č. 111300003.*

*Nabídnuo 18. 10. 1999*

*Přijato v definitivní verzi 10. 12. 1999*

*MUDr. P. Seeman  
Klinika dětské neurologie 2. LF UK a FNM  
V úvalu 84  
150 06 Praha 5 – Motol*