

# Malattia di Charcot-Marie-Tooth

## La malattia di Charcot-Marie-Tooth (CMT)

La malattia di Charcot-Marie-Tooth conosciuta con l'acronimo CMT è una neuropatia ereditaria che colpisce gli assoni motori e sensitivi del sistema nervoso periferico. E' denominata anche Neuropatia Ereditaria Motoria e Sensitiva (HMSN), e nella letteratura più vecchia, Atrofia Muscolare Peroneale. La CMT è una malattia comune, con una prevalenza stimata in 1/2500. A seconda del tipo di assoni interessati (che differiscono nelle varie forme di CMT), viene progressivamente compromessa la funzione motoria, sensitiva e/o autonoma. Tale compromissione inizia tipicamente negli assoni più lunghi e progredisce nel corso del tempo, per cui i pazienti affetti sviluppano debolezza, perdita di sensibilità, e/o disfunzione autonoma inizialmente ai piedi e alla parte distale degli arti inferiori e quindi, alle mani. L'esordio clinico può verificarsi precocemente, nell'infanzia o nella fanciullezza, o più tardivamente, nella mezza età.

La genetica della CMT è molto complessa. Mutazioni in circa 50 geni causano le diverse forme di CMT e le condizioni strettamente correlate di Neuropatia Ereditaria Motoria (HMN) e Neuropatia Ereditaria Sensitiva e Autonoma (HSAN). Due ulteriori complicazioni sono costituite dal fatto che mutazioni differenti dello stesso gene possono causare fenotipi diversi, e che lo stesso fenotipo può essere causato da mutazioni in differenti geni. Un principio unificante è che entrambe le forme demielinizzanti dominanti (CMT1) e recessive (CMT4) di CMT sono causate da mutazioni in geni espressi dalle cellule di Schwann mielinizzanti. Quindi, la demielinizzazione è causata da un effetto cell autonomous del gene mutante nelle cellule di Schwann mielinizzanti. Allo stesso modo, con poche possibili eccezioni, le forme a trasmissione dominante (CMT2) e recessive di CMT assonali, così come le relative condizioni di HMN e HSAN, sono causate da mutazioni in geni espressi nei neuroni; il gene mutante ha effetto cell autonomous nei neuroni.

## LA CLASSIFICAZIONE DELLE CMT

### Classificazione delle Neuropatie Ereditarie

Cominciando con il lavoro pionieristico di Dyck e colleghi, la CMT è stata suddivisa in tipo 1 e tipo 2 (Shy et al., 2005). CMT1 è caratterizzata da rallentata velocità di conduzione nei nervi motori (tipicamente 10-40 m/s negli arti superiori) ed evidenza istologica di demielinizzazione e rimielinizzazione segmentaria, oltre a perdita assonale. Questi reperti sono stati confermati e approfonditi da diversi gruppi, tra cui quello di Harding e Thomas (Harding e Thomas, 1980), che hanno proposto il valore di velocità di conduzione motoria di 38 m/s agli arti superiori per separare la

CMT1/HMSN da CMT2/HMSN II. Sulla base delle loro analisi di pazienti con genotipi noti, Kennerson et al. (Kennerson et al., 2001) ha suggerito l'aumento della soglia a 45 m/s, ed ha proposto di usare il termine, CMT Dominante-Intermedia (DI-CMT), per famiglie caratterizzate da velocità di conduzione che si sovrappongono tra CMT1 e CMT2.

La CMT1 è più comune della CMT2, e la mutazione responsabile può essere trovata in una percentuale molto più alta di pazienti (> 95% per CMT1 vs ~ 25% per CMT2). Tra le 968 probandi CMT1 riportati da Latour et al. (Latour et al, 2006), la CMT1A, risultante dalla duplicazione di PMP22, è di gran lunga la più comune (76%), seguita dalla CMT1X (11%) e dalla CMT1B (6%); CMT1C (<1%), CMT1D (<1%), e CMT1A derivanti da mutazioni missenso (definiti anche CMT1E; <1%) sono relativamente rare. La CMT1 con tremore associato è denominata sindrome di Roussy-Lévy; la famiglia descritta in origine ha la CMT1B, ma è più comunemente associata con la CMT1A (Thomas et al, 1997).

### CMT3, Neuropatia di Dejerine-Sottas, e Neuropatia Ipomielinizzante Congenita

sono termini utilizzati per descrivere le persone con neuropatia grave, con un esordio clinico evidente nella prima infanzia (Neuropatia Ipomielinizzante Congenita; OMIM 605253) o prima dei tre anni di età (Neuropatia di Déjèrine-Sottas, conosciuta anche come CMT3/HMSN III; OMIM 145900). Molti pazienti necessitano alla fine di sedia a rotelle, ma alcuni stanno sorprendentemente bene (Gabreels-Festen, 2002). Scoliosi e perdita di udito sono componenti frequenti del quadro clinico. Le velocità di conduzione nervosa motoria sono tipicamente molto lente (<10 m/s), con marcata dispersione temporale ma senza blocchi di conduzione. I nervi sono frequentemente di dimensioni aumentate, e le biopsie spesso rivelano importanti figure a "bulbo di cipolla" (cellule di Schwann soprannumerarie che circondano gli assoni) e una completa assenza di fibre contenenti guaine mieliniche normali/ispessite; nella maggior parte dei casi, gli assoni hanno guaine mieliniche insolitamente sottili per il calibro assonale e/o dimostrano demielinizzazione segmentaria. Storicamente, la Neuropatia di Dejerine-Sottas era considerata una forma a trasmissione recessiva, ma nuove mutazioni dominanti in MPZ e PMP22 ne sono la causa più comune (Tyson et al, 1997;. Gabreels-Festen, 2002); cause più rare includono mutazioni dominanti di EGR2 come pure mutazioni recessive di MPZ, PMP22, PRX, EGR2 e FIG4. Dal momento che in alcuni casi nessuna mutazione è stata identificata, altre cause genetiche sono ancora da scoprire.

L'HSAN include malattie che colpiscono prevalentemente i neuroni sensitivi e autonomici e/o i loro assoni. L'HMN comprende varie malattie che colpiscono gli assoni motori in maniera lunghezza-dipendente. Il termine "neuropatia assonale grave ad esordio precoce", è stato proposto per le forme di CMT che si adattano proprio a questa descrizione (Nicholson et al, 2008), e includono molti casi associati a mutazioni dominanti di MFN2 così come diverse forme autosomiche recessive di CMT2.

Gabreëls-Festen A (2002) Dejerine-Sottas syndrome grown to maturity: overview of genetic and morphological heterogeneity and follow-up of 25 patients. *J Anat* 200:341-356

Harding AE, Thomas PK (1980) The clinical features of hereditary motor and sensory neuropathy types I and II. *Brain* 103:259-280.

Kennerson ML, Zhu D, Gardner RJM, Storey E, Merory J, Robertson SP, Nicholson GA (2001) Dominant intermediate

Charcot-Marie-Tooth neuropathy maps to chromosome 19p12-p13.2. *Amer J Hum Genet* 69:883-888.

Latour P, Gonnaud PM, Ollagnon E, Chan V, Perelman S, Stojkovic T, Stoll C, Vial C, Ziegler F, Vandenberghe A, Maire I (2006) SIMPLE mutation analysis in dominant demyelinating Charcot-Marie-Tooth disease: three novel mutations. *J Peripher Nerv Syst* 11:148-155.

Nicholson GA, Magdelaine C, Zhu D, Grew S, Ryan MM, Sturtz F, Vallat JM, Ouvrier RA (2008) Severe early-onset axonal neuropathy with homozygous and compound heterozygous MFN2 mutations. *Neurology* 70:1678-1681.

Shy ME, Lupski JR, Chance PF, Klein CJ, Dyck PJ (2005) Hereditary motor and sensory neuropathies: an overview of clinical, genetic, electrophysiologic, and pathologic features. In: *Peripheral Neuropathy*, 4th Edition (Dyck PJ, Thomas PK, eds), pp 1623-1658. Philadelphia: Saunders.

Thomas PK, Marques W, Davis MB, Sweeney MG, King RHM, Bradley JL, Muddle JR, Tyson J, Malcolm S, Harding AE (1997) The phenotypic manifestations of chromosome 17p11.2 duplication. *Brain* 120:465-478.

Tyson J, Ellis D, Fairbrother U, King RHM, Muntoni F, Jacobs J, Malcolm S, Harding AE, Thomas PK (1997) Hereditary demyelinating neuropathy of infancy - A genetically complex syndrome. *Brain* 120:47-63.

## LE CMT DI TIPO 1

### HNPP e CMT1

Prima della scoperta della loro origine genetica comune, non si sospettava una relazione tra la Neuropatia Ereditaria con Predisposizione alle Paralisi da Compressione (Hereditary Neuropathy with Liability to Pressure Palsies, HNPP) e la CMT1A, perché sono clinicamente molto diverse. La delezione e la duplicazione di PMP22 causano rispettivamente l'HNPP e la CMT1A (Shy et al. 2005). Due sequenze omologhe di DNA fiancheggianti il gene PMP22 costituiscono la base molecolare per la sua delezione/duplicazione: il loro alto grado di omologia promuove un crossing-over diseguale durante la meiosi, che genera contemporaneamente sia un allele con delezione PMP22 che un allele con duplicazione PMP22. Anche se si verificano mutazioni de novo, la maggior parte dei pazienti eredita la delezione o duplicazione. Il gene PMP22 codifica per la proteina mielinica periferica 22 kDa (PMP22), una proteina intrinseca di membrana con funzione sconosciuta, e componente della mielina compatta. Si ritiene che la diminuzione e l'incremento dei livelli di PMP22 causino demielinizzazione nell'HNPP e nella CMT1A, rispettivamente.

### HNPP (OMIM 162500)

L'HNPP è una malattia ereditaria dominante, probabilmente comune almeno quanto la CMT1A, ma molti pazienti non sono consapevoli di avere una neuropatia a meno che non sviluppino un mononeuropatia episodica, di solito ad uno dei siti tipici di compressione dei nervi (Pareyson et al. 1996). In ordine di frequenza, questi sono il nervo peroneo alla testa peronale, il nervo ulnare a livello del gomito, il plesso brachiale, il nervo radiale in corrispondenza della doccia omerale, e il nervo mediano al polso (Li et al. 2002). Possono essere colpiti anche altri nervi, e sono state descritte presentazioni atipiche. Oltre la metà dei pazienti recupera completamente, di solito entro alcuni giorni o mesi, ma possono persistere deficit. Durante gli episodi acuti di paralisi da compressione, gli studi elettrofisiologici possono dimostrare un blocco di conduzione.

In aggiunta alle alterazioni focali ai comuni siti di compressione del nervo (entrapment), i soggetti geneticamente affetti sviluppano una lieve polineuropatia cronica sensitiva e motoria. Le velocità di conduzione sensitiva sono diffusamente rallentate, particolarmente agli arti superiori. Le velocità di conduzione dei nervi motori sono minimamente rallentate, ma le latenze distali motorie sono prolungate in misura consistente, specialmente ai siti di entrapment. Le biopsie di nervi clinicamente risparmiati mostrano comunque ispessimenti focali (tomacula) causati dal ripiegamento della guaina mielinica, così come demielinizzazione e rimielinizzazione segmentale.

Nonostante la delezione di PMP22 sia di gran lunga la causa più comune di HNPP, altre mutazioni di PMP22 che pure provocano perdita di funzione completa ("loss of function"), producono lo stesso quadro clinico.

### CMT1A (OMIM 118220)

CMT1A è una malattia ereditaria dominante. Tipicamente l'esordio clinico si verifica nella prima o seconda decade (Birouk et al. 1997; Thomas et al. 1997), ma la neuropatia può essere rilevata clinicamente sin dall'età di 5 anni, e le velocità di conduzione nervose sono abnormemente rallentate anche prima. I pazienti affetti presentano debolezza e atrofia muscolare, e perdita di sensibilità in sede distale agli arti inferiori e in seguito in sede distale degli arti superiori; deformazioni del piede e areflessia sono variabilmente presenti. Vi è una considerevole variabilità nel grado di deficit neurologico all'interno delle famiglie, e persino tra gemelli identici, indicando che altri fattori modulano la gravità della malattia. Valutazioni seriate della funzione sensitiva e motoria dimostrano un peggioramento graduale (Shy et al. 2008). Sono segnalate presentazioni atipiche, tra cui il coinvolgimento dei nervi cranici, debolezza prossimale, debolezza del diaframma, ipertrofia dei polpacci, e crampi.

Le risposte sensitive sono tipicamente assenti. Le velocità di conduzione motorie dell'avambraccio sono anormalmente rallentate, comprese nel range di 5-35 m/s; la maggioranza si colloca intorno ai 20 m/s. L'assenza di blocchi di conduzione e di dispersione temporale, e l'elevata concordanza tra le velocità di conduzione nei vari nervi motori, sono tratti distintivi. Le velocità sono lente nei bambini già prima della manifestazione clinica della malattia. Nei singoli pazienti, le velocità di conduzione dei nervi motori rimangono costanti nel corso degli anni, mentre diminuisce, seppur lentamente, l'ampiezza del potenziale di sommazione motorio. Le biopsie dei nervi si modificano nel corso della malattia: la demielinizzazione è più importante nei bambini, mentre gli assoni "ipomielinizzati" (assoni rimielinizzati con guaine mieliniche eccessivamente sottili rispetto al calibro assonale) diventano relativamente più numerosi con l'età (Gabreels-Festen et al., 1992). Le biopsie dimostrano anche una perdita di assoni mielinizzati correlata all'età; la disabilità correla con la perdita assonale (Krajewski et al. 2000).

Sebbene la duplicazione PMP22 sia di gran lunga la causa più comune di CMT1A, alcune mutazioni di PMP22 producono un quadro clinico simile (che è stato denominato CMT1E). La maggior parte delle mutazioni missenso di PMP22 tuttavia produce una neuropatia più grave della CMT1A - la CMT3 o neuropatia di Déjérine-

Sottas (vedi sotto).

### CMT1B (OMIM 118200)

Mutazioni dominanti nel gene MPZ causano la CMT1B (Shy et al. 2004). Il gene MPZ codifica per la P0, la principale proteina della mielina del nervo periferico. P0 è una molecola di adesione a struttura IgG-simile con un singolo ponte disolfuro intramolecolare. P0 forma dei tetrameri, che interagiscono a formare la colla molecolare della mielina compatta (Arroyo e Scherer, 2000).

Sono state identificate oltre 100 differenti mutazioni di MPZ (Shy et al. 2004). Alcune mutazioni probabilmente causano "haplotype insufficiency" come conseguenza di un meccanismo di "loss of function"; queste sono associate ad un fenotipo eccezionalmente lieve. Per la maggior parte delle mutazioni, il fenotipo clinico può essere correlato al grado di dis/demielinizzazione, come evidenziato dal rallentamento della conduzione e dalla biopsia di nervo -- che vanno dalla Neuropatia Ipomielinizzante Congenita, ad una CMT1 tipica, fino ai fenotipi eccezionalmente miti citati sopra. Oltre a causare una perdita di funzione (loss of function), queste mutazioni possono causare anche un anomalo guadagno di funzione (gain of function); le possibilità includono un effetto dominante negativo sulla proteina normale e una unfolded protein response (Pennuto et al. 2008.). Le mutazioni che si traducono in cisteine spaiate spesso causano un fenotipo grave. Ci sono circa 25 mutazioni, comunque, con un quadro clinico peculiare - a volte chiamato CMT2I, CMT2J o CMT2-P0 (vedi sotto); la base cellulare di questo fenotipo non è determinata. La maggior parte delle mutazioni di MPZ determina un esordio precoce di una neuropatia demielinizzante (che potrebbe spesso essere classificata come CMT3/Déjérine-Sottas, anche se alcuni pazienti hanno un decorso clinico favorevole) o un fenotipo ad esordio tardivo (descritto sotto); pochi pazienti hanno una fenotipo CMT1-simile.

### CMT1C (OMIM 601098)

Mutazioni dominanti in LITAF causano la CMT1C (Street et al. 2003). E' stato dimostrato che LITAF ha diversi ruoli funzionali; il meccanismo attraverso il qual le mutazioni dominanti in LITAF causano demielinizzazione è ancora sconosciuto. L'esordio clinico varia dai 6 ai 30 anni. I pazienti affetti presentano debolezza e perdita di sensibilità a distribuzione distale. Le conduzioni nervose motorie sono rallentate (16-33 m/s) e le biopsie nervose dimostrano assoni rimielinizzati.

### CMT1D (OMIM 607687)

Mutazioni dominanti in EGR2 causano la CMT1D. EGR2 codifica per un fattore di trascrizione, EGR2/Krox20, che, insieme a Sox10, aumenta l'espressione di molti geni mielina-correlati (Svaren e Meijer, 2008). Mutazioni dominanti di Krox20 probabilmente causano neuropatia demielinizzante perché riducono l'attività regolatoria del Krox20 normale sull'espressione dei geni della mielina.

Le mutazioni di EGR2 sono rare, e la maggior parte causa una grave neuropatia

demielinizzante - neuropatia di Dejerine-Sottas o Neuropatia Ipomielinizzante Congenita. Alcune mutazioni, tuttavia, sono associate con un fenotipo lieve/CMT1. Gli individui affetti presentano debolezza e perdita di sensibilità in sede distale; questi reperti peggiorano con l'età.

#### CMT1E (OMIM 118300)

OMIM considera la CMT1E un'entità distinta, come una CMT1 con sordità, causata da un sottoinsieme di mutazioni dominanti di PMP22. Il Dr. Thomas Bird (vedi il sito web GeneTests), ha offerto una definizione più ragionevole - e cioè che la CMT1E è causata da un sottoinsieme di mutazioni di PMP22 (oltre alla più comune duplicazione di PMP22), che si traducono in un quadro clinico simile alla CMT1A.

#### CMT1F (OMIM 607734)

OMIM considera la CMT1F una forma di CMT1 causata da mutazioni autosomiche dominanti di NEFL. Come discusso in seguito (vedi CMT2E), questo sottogruppo di mutazioni di NEFL causa una grave neuropatia ad esordio precoce con caratteristiche demielinizzanti che sono probabilmente il risultato di una grave patologia assonale.

#### CMT1X (OMIM 302800)

La CMT1X è così chiamata in quanto è legata al cromosoma X. Poiché le femmine portatrici sono spesso colpite, è considerata una forma a trasmissione X-linked dominante (Kleopa e Scherer, 2006). La CMT1X è causata da mutazioni in GJB1, il gene che codifica per connessina 32 (Cx32); sono state identificate centinaia di mutazioni diverse. La Cx32 forma gap junctions, giunzioni comunicanti, canali, a livello di membrane cellulari giustapposte che permettono la diffusione di ioni e piccole molecole. La Cx32 è localizzata nelle incisure e nelle regioni paranodali delle cellule di Schwann mielinizzanti, e probabilmente forma gap junctions fra strati adiacenti della guaina mielinica. Si pensa che la perdita di queste giunzioni porti a demielinizzazione e perdita assonale, le principali manifestazioni patologiche negli esseri umani e nei topi con mutazioni in GJB1/Gjb1.

Per i maschi affetti, l'esordio clinico si verifica tra i 5 e i 20 anni di età. I primi sintomi comprendono difficoltà a correre e frequenti distorsioni della caviglia, successivamente vengono coinvolti i muscoli gastrocnemio e soleo, fino al punto in cui sono richiesti dispositivi per l'assistenza alla deambulazione. Si sviluppano anche debolezza, atrofia, e perdita di sensibilità nelle mani, in particolare nei muscoli dell'eminanza tenar. Queste manifestazioni cliniche sono il risultato di una perdita assonale cronica, lunghezza-dipendente, e sono quasi indistinguibili da quelle osservate nei pazienti con CMT1A o CMT1B. Tuttavia, l'atrofia muscolare, soprattutto dei muscoli intrinseci della mano, i fenomeni sensitivi positivi e la perdita di sensibilità possono essere manifestazioni più evidenti nei pazienti con CMT1X. La velocità di conduzione del nervo mediano o ulnare motorio sono tipicamente nel range di 30-40 m/s ("intermedio"); le risposte sensitive sono in genere assenti, tranne che nel bambino.

Le donne affette di solito hanno un'insorgenza più tardiva rispetto agli uomini, dopo la fine della seconda decade, ed una versione più lieve dello stesso fenotipo ad ogni età, perché solo una frazione delle loro cellule di Schwann esprime l'allele mutato di GJB1 legato alla inattivazione casuale del cromosoma X. Le donne possono anche essere asintomatiche e alcune famiglie sono state descritte come affette da CMT1X "recessiva". Tuttavia anche in queste famiglie almeno alcune delle portatrici obbligate dimostrano evidenza elettrofisiologica di neuropatia periferica.

Molte mutazioni GJB1 sembrano essere associate ad alterazioni elettrofisiologiche, cliniche e/o di RM da coinvolgimento del sistema nervoso centrale (SNC). Il coinvolgimento subclinico è comune: molti pazienti hanno delle risposte ritardate allo studio dei potenziali evocati acustici del tronco (BAER) e anche le vie visive e motorie centrali possono dimostrare alterazioni. Questi reperti elettrofisiologici potrebbero derivare da un meccanismo di gain of function, dato che non sono stati ritrovati in pazienti con la delezione del gene GJB1. Manifestazioni cliniche di coinvolgimento del SNC (spasticità, segno di Babinski, e riflessi ipervivaci) sono state riportate in pazienti con alcune mutazioni; l'entità di tali alterazioni può essere mascherato dalla neuropatia periferica. Un coinvolgimento più sorprendente a carico del SNC è stato riportato in singoli pazienti con duplicazione degli aminoacidi 55-61 (atassia cerebellare e disartria) o con la mutazione Val63Ile (ritardo mentale), ma la relazione tra queste anomalie e le mutazioni GJB1 non è provata. E' stata descritta un'encefalopatia acuta transitoria, associata ad alterazioni nella RM, suggestiva di disfunzione della mielina del SNC; i deficit acuti sembrano essere innescati da viaggi ad alta quota, febbre, o attività fisica accanita (Taylor et al, 2003).

- Arroyo EJ, Scherer SS (2000) On the molecular architecture of myelinated fibers. *Histochem Cell Biol* 113:1-18.
- Birouk N, Gouider R, Le Guern E, Gugenheim M, Tardieu S, Maisonobe T, Le Forestier N, Agid Y, Brice A, Bouche P (1997) Charcot-Marie-Tooth disease type 1A with 17p11.2 duplication - Clinical and electrophysiological phenotype study and factors influencing disease severity in 119 cases. *Brain* 120:813-823.
- Gabreëls-Festen AAWM, Joosten EMG, Gabreëls FJM, Jennekens FGI, Kempen TWJ (1992) Early morphological features in dominantly inherited demyelinating motor and sensory neuropathy (HMSN Type-I). *J Neurol Sci* 107:145-154.
- Kleopa KA, Scherer SS (2006) Molecular Genetics of X-linked Charcot-Marie-Tooth Disease. *NeuroMolec Med* 8:107-122.
- Krajewski KM, Lewis RA, Fuerst DR, Turansky C, Hinderer SR, Garbern J, Kamholz J, Shy ME (2000) Neurological dysfunction and axonal degeneration in Charcot-Marie-Tooth disease. *Brain* 123:1516-1527.
- Li J, Krajewski K, Shy ME, Lewis RA (2002) Hereditary neuropathy with liability to pressure palsy - The electrophysiology fits the name. *Neurology* 58:1769-1773.
- Pareyson D, Scaioli V, Taroni F, Botti S, Lorenzetti D, Solari A, Ciano C, Sghirlanzoni A (1996) Phenotypic heterogeneity in hereditary neuropathy with liability to pressure palsies associated with chromosome 17p11.2-12 deletion. *Neurology* 46:1133-1137.
- Pennuto M, Tinelli E, Malaguti MC, Del carro U, D'Antonio M, Ron D, Quattrini A, Feltri M-L, Wrabetz L (2008) Ablation of the UPR-mediator CHOP restores motor function and reduces demyelination in Charcot-Marie-Tooth 1B mice. *Neuron* 57:393-405.
- Shy ME, Lupski JR, Chance PF, Klein CJ, Dyck PJ (2005) Hereditary motor and sensory neuropathies: an overview of clinical, genetic, electrophysiologic, and pathologic features. In: *Peripheral Neuropathy*, 4th Edition (Dyck PJ, Thomas PK, eds), pp 1623-1658. Philadelphia: Saunders.
- Shy ME, Chen L, Swan ER, Taube R, Krajewski KM, Herrmann D, Lewis RA, McDermott MP (2008) Neuropathy progression in Charcot-Marie-Tooth disease type 1A. *Neurology* 70:378-383.
- Shy ME, Jani A, Krajewski K, Grandis M, Lewis RA, Li J, Shy RR, Balsamo J, Lilien J, Garbern JY, Kamholz J (2004) Phenotypic clustering in MPZ mutations. *Brain* 127:371-384.
- Street VA, Bennett CL, Goldy JD, Shirk AJ, Kleopa KA, Tempel BL, Lipe HP, Scherer SS, Bird TD, Chance PF (2003) Mutations of a putative protein degradation gene LITAF/SIMPLE in Charcot-Marie-Tooth disease 1C. *Neurology* 60:22-26.

Svaren J, Meijer D (2008) The molecular machinery of myelin gene transcription in Schwann cells. *Glia* 56:1541-1551.

Taylor RA, Simon EM, Marks HG, Scherer SS (2003) The CNS phenotype of X-linked Charcot-Marie-Tooth disease - More than a peripheral problem. *Neurology* 61:1475-1478.

Thomas PK, Marques W, Davis MB, Sweeney MG, King RHM, Bradley JL, Muddle JR, Tyson J, Malcolm S, Harding AE (1997) The phenotypic manifestations of chromosome 17p11.2 duplication. *Brain* 120:465-478.

## LE CMT DI TIPO 2

### CMT2

I pazienti con CMT2 dimostrano scarso o nullo rallentamento della conduzione nervosa, e le biopsie dimostrano la perdita di fibre mieliniche ma scarsa demielinizzazione/rimielinizzazione segmentaria. Mentre le prime descrizioni di CMT2 identificavano pazienti colpiti ad una età più avanzata rispetto ai tipici pazienti con CMT1, le mutazioni che causano questi casi ad esordio tardivo si sono rivelate difficili da identificare. Invece, le mutazioni del gene MFN2, la causa più comune di CMT2 identificata fino ad oggi, causano una neuropatia assonale che ha prevalentemente un esordio nell'infanzia. Tutti gli altri tipi di CMT2 sono rari; rimangono ancora da scoprire molte altre cause genetiche.

### CMT2A1 (OMIM 118210)

In una famiglia (CMT2A1) è stata identificata una mutazione dominante in KIF1B, il gene che codifica le isoforme a e b della chinesina-1B (Zhao et al. 2001). La chinesina-1B è un "motore molecolare" per il trasporto assonale anterogrado. Poiché i topi eterozigoti per una mutazione loss of function sviluppano neuropatia e la mutazione identificata in questa famiglia provoca perdita di funzione, alla base della neuropatia vi è probabilmente una haplotype insufficiency.

L'età di esordio clinico varia da 3 a 15 anni. La debolezza è confinata agli arti inferiori, colpendo i gruppi muscolari di tibiale anteriore/ peronei e tibiale posteriore. Lo studio delle conduzioni nervose in un ragazzo di 11 anni ha dimostrato una risposta del nervo surale assente, ed una denervazione cronica lunghezza-dipendente. Una biopsia del nervo surale dimostrava un diminuito numero di fibre mieliniche.

### CMT2A2 (OMIM 609260)

Mutazioni dominanti in Mitofusina 2 (MFN2) causano la CMT2A2. Mitofusina 2 è localizzata sulla membrana esterna dei mitocondri ed è necessaria per la loro normale fusione (Chen et al. 2003). Questa influenza la loro funzione, giacché i mitocondri isolati da colture di fibroblasti di pazienti CMT2A2 producono ATP meno efficientemente rispetto a quelli normali.

La maggior parte delle mutazioni MFN2 sono state identificate in individui con una



grave neuropatia assonale, con esordio nell'infanzia (Verhoeven et al. 2006). Questi pazienti hanno maggiore debolezza prossimale e atrofia rispetto ai pazienti con CMT1, suggerendo il termine di Severe Early Onset Axonal Neuropathy (Grave Neuropatia Assonale ad Esordio Precoce) (Nicholson et al. 2008). Molti pazienti con esordio precoce diventano dipendenti dalla sedia a rotelle. Mutazioni MFN2 sono state ritrovate anche in pazienti CMT2 con un esordio giovanile e la penetranza può essere variabile anche all'interno della famiglia. Alcuni pazienti hanno neuropatie ottiche, mielopatia e anche disfunzione cerebrale. Le ampiezze dei potenziali sensitivi e motori sono ridotte o assenti, e le velocità di conduzione motoria sono normali o rallentate a 37 m/s. Le biopsie dimostrano la perdita delle grosse fibre mieliniche e cluster di rigenerazione assonale.

#### CMT2B (OMIM 600882)

Mutazioni dominanti in RAB7 causano la CMT2B. RAB7 è associato con gli "endosomi tardivi" (late endosomes), compresi quelli che mediano il trasporto assonale retrogrado di fattori di crescita. Le mutazioni che causano CMT2 alterano la struttura della tasca di legame per GDP e GTP, aumentando così il loro tasso on e off di legame; questo potrebbe colpire il trasporto assonale retrogrado (McCray et al, 2010.).

I pazienti affetti presentano ipostenia musolare lunghezza-dipendente e grave perdita di sensibilità, sono comuni ulcere distali dei piedi che spesso portano ad amputazioni delle dita. Studi elettrofisiologici e biopsie di nervo evidenziano perdita assonale, che è sia lunghezza che tempo-dipendente. Così, la CMT2B condivide un quadro clinico simile con l'HSAN1, anche se il dolore spontaneo non è una caratteristica di CMT2B (Auer-Grumbach, 2008).

#### CMT2C (OMIM 606071)

Alcune mutazioni dominanti in TRPV4 causano la CMT2C; queste sono distinte da altre mutazioni dominanti che causano anomalie dello sviluppo osseo (OMIM 113500, 184252, 156530). TRPV4 è un canale cationico che si trova in molti tipi cellulari, compresi gli assoni. I mutanti dominanti di TRPV4 possono generare un canale anomalo che danneggia gli assoni, causando in tal modo una neuropatia assonale (Landouere et al. 2010).

I pazienti sono variamente colpiti (Zimon et al., 2010). I pazienti più gravemente compromessi hanno una grave debolezza prossimale e distale, un coinvolgimento delle corde vocali e perfino artrogriposi e scoliosi. In confronto le anomalie sensitive sono lievi.

#### CMT2D (OMIM 601472)

Mutazioni dominanti nel gene Glycyl-tRNA sintetasi (GARS) provocano la CMT2D. GARS codifica per l'enzima che catalizza il legame della glicina al suo tRNA. Vi è un solo gene GARS, ed è espresso in ogni tipo di cellula e presumibilmente necessario per la funzione cellulare. Non è noto come le mutazioni GARS causino una neuropatia assonale.

Pazienti con CMT2D hanno una neuropatia motoria più che sensitiva, al punto che alcuni casi (anche appartenenti alla stessa famiglia) sono stati considerati avere HMN V (Sivakumar et al. 2005). Nei pochi casi segnalati, l'insorgenza varia dall'infanzia all'adolescenza. La caratteristica distintiva della CMT2D è che la debolezza dei muscoli intrinseci della mano è sproporzionatamente maggiore rispetto a quella presente nella regione distale degli arti inferiori, ma questo non vale nei casi con esordio nell'infanzia (James et al. 2006).

#### CMT2E (OMIM 162280)

Mutazioni dominanti in NEFL causano CMT2E. NEFL codifica la più piccola delle tre subunità che compongono i neurofilamenti, l'elemento citoscheletrico predominante negli assoni.

L'età di esordio e il fenotipo clinico variano considerevolmente (Jordanova et al. 2003). In una grande famiglia Russa, si sono avute manifestazioni cliniche evidenti nella 2<sup>a</sup> o 3<sup>a</sup> decade, seguite da lenta progressione, con velocità di conduzione motoria del nervo mediano lievemente ridotta o normale (38-52 m/s). Altre mutazioni causano un esordio precoce (anche un fenotipo simile alla neuropatia di Déjèrine-Sottas) e le conduzioni motorie possono essere rallentate fino al range demielinizzante; questi pazienti sono stati denominati CMT1F, ma questa non è un classica neuropatia demielinizzante poiché le biopsie di nervo non mostrano rilevante rimielinizzazione. Piuttosto, le biopsie dimostrano perdita delle grosse fibre mieliniche, e le biopsie di pazienti che hanno mutazioni “demielinizzanti” mostrano assoni anormalmente ingrossati contenenti gruppi di neurofilamenti disorganizzati.

#### CMT2F (OMIM 606595)

E' stato riportato che mutazioni dominanti in HSPB1 causano CMT2F; altre mutazioni producono un fenotipo più esclusivamente motorio, HMN Iib (vedi sotto). HSPB1 codifica per la proteina da shock termico di 27 kDa (HSP27), che è una delle numerose piccole proteine chaperone con diverse funzioni cellulari. HSP27 interagisce direttamente con HSP22, che è implicata nella CMT2L (e HMN IIa).

La comparsa clinica della debolezza muscolare varia tra la seconda e la quarta decade, ed in seguito diventa prominente nei muscoli distali degli arti inferiori e quindi dei superiori.

#### CMT2G (OMIM 608591)

Sulla base dell'analisi di un'unica grande famiglia con CMT2 (Nelis et al. 2004), il gene per CMT2G è stato mappato in 12q12-q13.3,

#### CMT2H (OMIM 607731)

CMT2H si basa su una singola famiglia con consanguineità i cui membri affetti hanno una grave neuropatia assonale e mielopatia. Essa mappa nella regione del gene GDAP1.

### CMT2I (OMIM 606677) and CMT2J (607736)

Molte differenti mutazioni dominanti in MPZ causano una neuropatia assonale a trasmissione dominante, a volte è indicata come CMT2-I, CMTJ o CMT2-P0; la più comune e meglio nota di queste è Thr124Met (De Jonghe et al. 1999.). Gli individui sono clinicamente normali almeno fino all'età adulta, quindi sviluppano quella che è stata spesso definita una "neuropatia assonale" all'età di 30-50 anni. La neuropatia è spesso dolorosa e la debolezza può progredire fino al punto che è necessaria una sedia a rotelle; pupille scarsamente reattive e perdita dell'udito completano il quadro clinico. Le conduzioni nervose motorie dei nervi mediano/ulnare in genere mostrano tipicamente un lieve rallentamento (25-40 m/s) dopo l'insorgenza della malattia, ma ciò può essere legato più alla perdita assonale che alla de/rimielinizzazione. Le biopsie dimostrano una riduzione del numero di fibre mieliniche e "cluster" di rigenerazione assonale. CMT2I designa famiglie in cui anomalie pupillari e perdita dell'udito sono assenti; questi sono presenti in famiglie con CMT2J.

### CMT2K (OMIM 607831)

Mutazioni dominanti in GDAP1 causano CMT2K. GDAP1 è un componente della membrana mitocondriale esterna, ed è indispensabile per la fissione normale dei mitocondri (vedi sezione su CMT4A).

L'esordio clinico varia dall'infanzia alla fanciullezza, e debolezza e perdita di sensibilità peggiorano con il tempo. Le conduzioni motorie non sono rallentate.

### CMT2L (OMIM 608673)

Mutazioni dominanti in HSPB8 causano CMT2L (Tang et al, 2005); altre mutazioni HSPB8 causano l'HMN IIa (vedi sotto). HSPB8 codifica l'HSP (proteina di shock termico) di 22 kDa, che è una delle numerose piccole proteine chaperone con varie funzioni cellulari. HSP22 interagisce direttamente con HSP27, che è colpita nella CMT2F (e HMN IIb).

Nell'unica famiglia riportata fino ad oggi, l'esordio clinico della debolezza muscolare variava tra i 15 e i 33 anni. L'ipostenia si è sviluppata dapprima nei muscoli distali degli arti inferiori e quindi in quelli distali degli arti superiori.

### CMT2M

Questo è un nome alternativo per la DI-CMTB

### CMT2N

Mutazioni dominanti nell'Alanyl TRNA sintetasi (AARS) causano CMT2N (Latour et al. 2010). AARS codifica per l'enzima che catalizza il legame dell'alanina con il suo tRNA. Il gene AARS è espresso in ogni tipo di cellula e si presume sia necessario per la funzione cellulare. Non è noto come le mutazioni AARS causino neuropatia assonale.

Mutazioni AARS sono state descritte in due famiglie. La neuropatia è piuttosto variabile - l'età di insorgenza clinica varia dai 10 ai 54 anni, e tre individui (età 9, 30, e 50 anni) sono asintomatici; la neurofisiologia clinica era normale anche per i due più vecchi. Altri membri della famiglia, al contrario, hanno debolezza e perdita di sensibilità distalmente negli arti superiori e inferiori; le velocità motorie del nervo mediano variano da 32 m/s a normali.

### Amiotrofia Neuralgica Ereditaria (OMIM 162100)

L'Amiotrofia Neuralgica Ereditaria (HNA) è qui considerata in quanto neuropatia assonale non-sindromica, anche se con parecchie caratteristiche peculiari che la differenziano dalla CMT2.

Mutazioni dominanti in SEPT9 causano HNA. SEPT9 appartiene alla grande famiglia di GTPasi formanti filamenti, i cui membri hanno diverse funzioni cellulari (Hall e Russell, 2004). Mutazioni puntiformi sono state trovate in alcune famiglie, ma a causa di un effetto fondatore, la mutazione più comune nel Nord America è una duplicazione di 38 kB, che include l'esone nel quale si trovano le mutazioni puntiformi (Landsverk et al. 2009). I trascritti da pazienti con la duplicazione contengono due repeats di questo esone.

Ad eccezione della giovane età di insorgenza e della maggiore frequenza di attacchi, le caratteristiche cliniche dei pazienti con HNA sono simili ai pazienti con amiotrofia neuralgica idiopatica (van Alfen e van Engelen, 2006), che è malattia più comune (e non causata da mutazioni SEPT9). Entrambi i gruppi di pazienti hanno attacchi di intenso dolore in collo, braccio/a, e/o spalla/e, seguiti da debolezza muscolare e perdita di sensibilità nella distribuzione della parte interessata del plesso brachiale. Può venire colpito qualsiasi segmento del plesso brachiale e dei tronchi nervosi correlati, ma vi è una predilezione per la parte superiore, e particolarmente per il nervo toracico lungo. L'elettrofisiologia clinica è coerente con una neuropatia focale acuta, e le biopsie suggeriscono un processo infiammatorio che causa un infarto vascolare del nervo/i interessato/i. Pertanto, le mutazioni SEPT9 probabilmente causano neuropatia in maniera non-cell autonomous.

Auer-Grumbach M (2008) Hereditary sensory neuropathy type I. *Orphanet J Rare Dis* 3:7.

Chen HDR, Detmer SA, Ewald AJ, Griffin EE, Graser SE, Chan DC (2003) Mitofusins Mfn1 and Mfn2 coordinately regulate mitochondrial fusion and are essential for embryonic development. *J Cell Biol* 160:189-200.

De Jonghe P, Timmerman V, Ceuterick C, Nelis E, De Vriendt E, Lofgren A, Vercruyssen A, Verellen C, Van Maldergem L, Martin JJ, Van Broeckhoven C (1999) The Thr124Met mutation in the peripheral myelin protein zero (MPZ) gene is associated with a clinically distinct Charcot-Marie-Tooth phenotype. *Brain* 122:281-290.

Hall PA, Russell SE (2004) The pathobiology of the septin gene family. *J Pathol* 204:489-505.

James PA, Cader MZ, Muntoni F, Childs A-M, Crow YJ, Talbot K (2006) Severe childhood SMA and axonal CMT due to anticodon binding domain mutations in the GARS gene. *Neurology* 67:1710-1712.

Jordanova A, De Jonghe P, Boerkoel CF, Takashima H, De Vriendt E, Ceuterick C, Martin J-J, Butler IJ, Mancias P, Papasozomenos SC, Terespolsky D, Potochi L, Brown CW, Shy M, Rita DA, Tournev I, Kremensky I, Lupski JR, Timmerman V (2003) Mutations in the neurofilament light chain gene (NEFL) cause early onset severe Charcot-Marie-Tooth disease. *Brain* 126:590-597.

Landouren G, Zdebik AA, Martinez TL, Burnett BG, Stanescu HC, Inada H, Shi YJ, Taye AA, Kong LL, Munns CH, Choo SS, Phelps CB, Paudel R, Houlden H, Ludlow CL, Caterina MJ, Gaudet R, Kleta R, Fischbeck KH, Sumner CJ (2010) Mutations in TRPV4 cause Charcot-Marie-Tooth disease type 2C. *Nat Genet* 42:170-U109.

Landsverk ML, Ruzzo EK, Mefford HC, Buysse K, Buchan JG, Eichler EE, Petty EM, Peterson EA, Knutzen DM, Barnett K, Farlow MR, Caress J, Parry GJ, Quan D, Gardner KL, Hong M, Simmons Z, Bird TD, Chance PF, Hannibal MC (2009) Duplication within the SEPT9 gene associated with a founder effect in North American families with hereditary neuralgic amyotrophy. *Hum Mol Genet* 18:1200-1208.

Latour P, Thauvin-Robinet C, Baudalet-Mery C, Soichot P, Cusin V, Faivre L, Locatelli MC, Mayencon M, Sarcey A, Broussolle E, Camu W, David A, Rousson R (2010) A major determinant for binding and aminoacylation of tRNA<sup>Ala</sup> in cytoplasmic alanyl-tRNA synthetase is mutated in dominant axonal Charcot-Marie-Tooth disease. *Amer J Hum Genet* 86:77-82.

McCray BA, Skordalakes E, Taylor JP (2010) Disease mutations in Rab7 result in unregulated nucleotide exchange and in appropriate activation. *Hum Mol Genet* 19:1033-1047.

Nelis E, Berciano J, Verpoorten N, Coen K, Dierick I, VanGerwen V, Combarros O, DeJonghe P, Timmerman V (2004) Autosomal dominant axonal Charcot-Marie-Tooth disease type 2 (CMT2G) maps to chromosome 12q12-q13.3. *J Med Genet* 41:193-197.

Nicholson GA, Magdelaine C, Zhu D, Grew S, Ryan MM, Sturtz F, Vallat JM, Ouvrier RA (2008) Severe early-onset axonal neuropathy with homozygous and compound heterozygous MFN2 mutations. *Neurology* 70:1678-1681.

Sivakumar K, Kyriakides T, Puls I, Nicholson GA, Funalot B, Antonellis A, Sambuughin N, Christodolou K, Beggs JL, Zamba-Papanicolaou E, Ionasescu V, Dalakas MC, Green ED, Fischbeck K, Goldfarb LG (2005) Phenotypic spectrum of disorders associated with glycyl-tRNA synthetase mutations. *Brain* 128:3304-3414.

Tang BS, Zhao GH, Luo W, Xia K, Cai F, Pan Q, Zhang RX, Zhang FF, Liu XM, Chen B, Zhang C, Shen L, Jiang H, Long ZG, Dai HP (2005) Small heat-shock protein 22 mutated in autosomal dominant Charcot-Marie-Tooth disease type 2L. *Hum Genet* 116:222-224.

van Alfen N, van Engelen BGM (2006) The clinical spectrum of neuralgic amyotrophy in 246 cases. *Brain* 129:438-450.

Verhoeven K, Claeys KG, Zuchner S, Schroder JM, Weis J, Ceuterick C, Jordanova A, Nelis E, DeVriendt E, VanHul M, Seeman P, Mazanec R, Saifi GM, Szigeti K, Mancias P, Butler IJ, Kochanski A, Ryniewicz B, DeBlecker J, VandenBergh P, Verellen C, VanCoster R, Goemans N, AuerGrumbach M, Robberecht W, Rasic VM, Nevo Y, Tournev I, Guergueltcheva V, Roelens F, Vieregge P, Vinci P, Moreno MT, Christen HJ, Shy ME, Lupski JR, Vance JM, DeJonghe P, Timmerman V (2006) MFN2 mutation distribution and genotype/phenotype correlation in Charcot-Marie-Tooth type 2. *Brain* 129:2093-2102.

Zhao C, Takita J, Tanaka Y, Setou M, Nakagawa T, Takeda S, Yang HW, Terada S, Nakata T, Takei Y, Saito M, Tsuji S, Hayashi Y, Hirokawa N (2001) Charcot-Marie-Tooth disease type 2A caused by mutation in a microtubule motor KIF1Bb. *Cell* 105:587-597.

Zimon M, Baets J, Auer-Grumbach M, Berciano J, Garcia A, Lopez-Laso E, Merlini L, Hilton-Jones D, McEntagart M, Crosby AH, Barisic N, Boltshauser E, Shaw CE, Landouren G, Ludlow CL, RGaudet, Houlden H, Reilly MM, Fischbeck KH, Sumner CJ, Timmerman V, Jordanova A, Jonghe PD (2010) Dominant mutations in the cation channel gene transient receptor potential vanilloid 4 cause an unusual spectrum of neuropathies. *Brain* (in press).

## ALTRI TIPI DI CMT

## CMT Dominante-Intermedia

Poiché le velocità di conduzione motorie sono un mezzo tradizionale per classificare i pazienti con CMT, Davis e colleghi hanno proposto (Davis et al. 1977), il termine "dominante-intermedio" per i pazienti con CMT a trasmissione dominante e velocità di conduzione motorie del nervo mediano comprese tra 25 e 45 m/s, includendo probabilmente alcune famiglie CMT1X. Kennerson e coautori (Kennerson et al., 2001) hanno adottato questo termine per includere famiglie in cui vi è incertezza se la neuropatia sia principalmente assonale o demielinizzante giacché i membri affetti hanno velocità di conduzione "intermedie" (25-54 m/s nella loro famiglia indice). Si noti che CMT1X (che è chiaramente una neuropatia demielinizzante in modelli animali), corrispondente a questa descrizione, non è di solito classificata come un DI-CMT. Molte famiglie con CMT1B potrebbero anche essere classificate come DI-CMT, ma questo di solito non accade, giacché la vasta gamma di fenotipi causati da mutazioni dominanti MPZ è ben descritto. Allo stesso modo, alcune famiglie con CMT2E, CMT2N, e probabilmente anche altre, potrebbero essere classificate come DI-CMT.

### DI-CMTA (606483)

Una sola famiglia, mappata su 10q24.1-q25.1, definisce questa entità nosologica (Verhoeven et al. 2001). L'esordio clinico della debolezza muscolare si verifica entro l'età di 10 anni e la velocità di conduzione motoria del nervo mediano varia tra 25-45 m/s.

### DI-CMTB (OMIM 696482)

Alcune mutazioni dominanti in Dinamina 2 (DNM2) causano DI-CMTB; queste sono distinte da altre mutazioni dominanti che causano la miopatia centronucleare. Dinamina 2 è una GTPasi necessaria per l'endocitosi e altre funzioni cellulari; è un enzima essenziale ed è espresso in tutte le cellule. Non è noto come mutazioni dominanti causino una neuropatia.

In sei famiglie, l'età di insorgenza variava da 2 a 51 anni (Claeys et al. 2009). I pazienti dimostravano una progressiva debolezza e perdita di sensibilità distali tipiche della CMT; in alcune famiglie la progressione era marcata e i pazienti diventavano dipendenti dalla sedia a rotelle. I valori di velocità di conduzione motorie del nervo mediano variavano tra 25 m/s e valori normali (> 50 m / s); le risposte sensitive erano relativamente conservate. Le biopsie del nervo surale hanno dimostrato una perdita di fibre mieliniche e cluster di rigenerazione assonale. L'analisi al teasing delle fibre di una famiglia hanno evidenziato internodi mielinici accorciati; questo farebbe prevedere una riduzione della velocità di conduzione. Due famiglie avevano neutropenia associata e una famiglia aveva un'insolita cataratta.

### DI-CMTC (OMIM 608323)

Mutazioni dominanti in Tyrosyl-tRNA sintetasi (YARS) causano DI-CMTC. YARS catalizza l'amminoacilazione della tirosina al suo tRNA. È un enzima essenziale ed è espresso in tutte le cellule. Non è noto come mutazioni dominanti causino la neuropatia.

Sono state descritte due famiglie (Jordanova et al. 2003). In una, l'esordio si è verificato tra il primo e il secondo decennio di vita, con il progressivo sviluppo di debolezza e perdita di sensibilità in sede distale degli arti. La risposta motoria del nervo mediano aveva velocità compresa tra 30 e 40 m/s. Biopsie di nervo surale hanno dimostrato una perdita di fibre mieliniche correlata all'età e cluster di rigenerazione assonale. Nell'altra famiglia l'esordio è occorso tra i 7 e 59 anni, con debolezza muscolare confinata distalmente agli arti inferiori; le velocità motorie del nervo mediano variavano tra i 33 m/s e valori di normalità.

Clayes KG, Zuchner S, Kennerson M, Berciano J, Garcia A, Verhoeven K, Storey E, Merory JR, Bienfait HME, Lammens M, Nelis E, Baets J, DeVriendt E, Berneman ZN, DeVeuster I, Vance JM, Nicholson G, Timmerman V, DeJonghe P (2009) Phenotypic spectrum of dynamin 2 mutations in Charcot-Marie-Tooth neuropathy. *Brain* 132:1741-1752.

Davis DJF, Bradley WG, Madrid R (1977) The peroneal muscular atrophy syndrome - clinical, genetic, electrophysiological and nerve biopsy studies. 1. Clinical, genetic, and electrophysiological findings and classification. *J Génét Hum* 26:311-349.

Jordanova A, Thomas FP, Guergue-Itcheva V, Tourney I, Gondim FAA, Ishpekova B, De Vriendt E, Jacobs A, Litvinenko I, Ivanova N, Buzhov B, De Jonghe P, Kremensky I, Timmerman V (2003) Dominant intermediate Charcot-Marie-Tooth type C maps to chromosome 1p34-p35. *Amer J Hum Genet* 73:1423-1430.

Kennerson ML, Zhu D, Gardner RJM, Storey E, Merory J, Robertson SP, Nicholson GA (2001) Dominant intermediate Charcot-Marie-Tooth neuropathy maps to chromosome 19p12-p13.2. *Amer J Hum Genet* 69:883-888.

Verhoeven K, Villanova M, Rossi A, Malandrini A, De Jonghe P, Timmerman V (2001) Localization of the gene for the intermediate form of Charcot-Marie-Tooth to chromosome 10q24.1-q25.1. *Amer J Hum Genet* 69:889-894

## CMT4

Le neuropatie ereditarie demielinizzanti recessive sono denominate CMT4 (Parman et al. 2004; Vallat et al, 2005). Tutte causano una grave neuropatia; molti pazienti alla fine necessitano di sedia a rotelle. Le forme CMT4A/GDAP1 e CMT4C/SH3TC2 sembrano essere le più comuni. La CMT4F ha maggiore coinvolgimento sensitivo rispetto alle altre; CMT4B1, CMT4B2, e CMT4C hanno reperti patologici caratteristici. Tranne che per la periassina, molti altri tipi di cellule esprimono i geni associati alla CMT4; le cellule di Schwann mielinizzanti esprimono tutti i geni associati alla CMT4, pertanto la demielinizzazione è cell autonomous.

### CMT4A (OMIM 214400)

Mutazioni recessive in GDAP1 causano CMT4A. GDAP1 è una proteina che è localizzata sulla membrana esterna dei mitocondri ed è necessaria per la loro normale fissione (Niemann et al., 2005).

Anche se alcune mutazioni recessive di GDAP1 causano fenotipi più lievi, gli

individui con CMT4A hanno un esordio precoce (in genere a 2 anni), neuropatia progressiva che si traduce in una grave debolezza prossimale e distale, e può causare la perdita della capacità di camminare e una paresi delle corde vocali (Bouhouche et al., 2007). Le risposte dei nervi sensitivi sono assenti, e le risposte nervose motorie mostrano gradi variabili di rallentamento. Le biopsie mostrano una marcata perdita di assoni mielinizzati e, occasionalmente, rudimentali bulbi di cipolla. Altre mutazioni GDAP1 causano CMT dominante assonale (CMT2K) o neuropatia assonale recessiva (AR-CMT2C/CMT2B3). Poiché manca una definitiva evidenza che mutazioni GDAP1 recessive causino neuropatia demielinizzante, CMT4A può essere un termine improprio.

#### CMT4B-1 (OMIM 601382) and CMT4B-2 (OMIM 604563)

Mutazioni recessive in MTMR2 e MTMR13 causano CMT4B-1 e CMT4B-2 rispettivamente (Previtali et al. 2007). MTMR2 e MTMR13 formano un tetramero in cui MTMR2 richiede la fosfatasi "inattiva" MTMR13 per defosforilare il 3' fosfato del PI (3) P e PI (3,5) P2, evento che "marca" vescicole e organelli per la coordinazione del traffico di membrana e l'omeostasi. I mutanti MTMR2 e MTMR13 associati alla CMT4B non funzionano, e topi con alterazioni omozigoti genetiche mirate di Mtmr2 o Mtmr13 confermano un meccanismo di loss of function come causa della demielinizzazione. L'ablazione di Mtmr2 nelle cellule di Schwann da sola è sufficiente a causare demielinizzazione, ma resta da stabilire perché questo accada. Nella CMT4B1, l'esordio clinico è tra i 2 e 3 anni, con difficoltà nel cammino. Debolezza distale e perdita di sensibilità peggiorano fino al punto che il paziente smette di deambulare indipendentemente intorno ai 20 anni. Spesso si sviluppa coinvolgimento facciale, bulbare e diaframmatico. Precocemente nella malattia le risposte sensitive sono assenti o ridotte, e le conduzioni motorie del nervo mediano sono rallentate, 15-20 m/s. Le biopsie di nervo mostrano una perdita di assoni mielinizzati, e un unfolding delle guaine mieliniche è una caratteristica importante in tutti, eccetto uno dei casi riportati di CMT4B1.

Per la CMT4B2, l'esordio clinico avviene entro i 10 anni, con difficoltà nel cammino. Debolezza distale e perdita di sensibilità peggiorano fino al punto che il paziente smette di deambulare autonomamente tra i 10-43 anni. Precocemente nella malattia le risposte sensitive sono assenti o ridotte, e le conduzioni nervose motorie del nervo mediano sono rallentate 16-21 m/s. Le biopsie nervose mostrano un ridotto numero di assoni mielinizzati, e un unfolding delle guaine mieliniche. Esordio precoce di glaucoma e perdita di udito sono caratteristiche aggiuntive in alcune famiglie.

#### CMT4C (OMIM 601596)

Mutazioni recessive in SH3TC2 causano CMT4C. SH3TC2 è un effettore di Rab11, che regola il riciclo degli endosomi. I mutanti SH3TC2 non interagiscono con Rab11, con conseguente riduzione del riciclo endosomiale, che sembra quindi essere richiesto per una normale mielinizzazione (Roberts et al. 2010). Rimane inspiegato come mai le cellule di Schwann mielinizzanti siano selettivamente colpite, essendo SH3TC2 ampiamente espresso.

L'esordio clinico si verifica in genere durante l'infanzia, ma sono state anche



riportati casi con esordio intorno ai 30 anni. Il grado di debolezza è altrettanto variabile, e il decorso usuale consiste in una progressione lenta. Alcuni pazienti diventano dipendenti dalla sedia a rotelle. La scoliosi è una caratteristica frequente della CMT4C, e in alcuni pazienti sono state osservate neuropatie di vari nervi cranici. Le risposte sensitive sono assenti e la velocità di conduzione nervosa motoria agli arti superiori varia tra 14-34 m/s con ampiezze ridotte. Le biopsie nervose mostrano una riduzione del numero di assoni mielinizzati, bulbi di cipolla (che possono essere per lo più costituiti da lamina basale) e un peculiare rivestimento delle fibre amieliniche.

#### CMT4D (OMIM 601455)

Mutazioni recessive in NDRG1 causano CMT4D. NDRG1 appartiene alla superfamiglia delle idrolasi a/b, ma i residui catalitici cruciali non sono presenti. Cellule di Schwann mielinizzanti, ma non i neuroni, esprimono NDRG1 (Berger et al. 2004), peraltro la sua funzione nelle cellule di Schwann mielinizzanti è sconosciuta. CMT4D è stata trovata principalmente nella etnia "Roma" (Kalaydjieva et al, 1998.); un effetto fondatore ha causato una mutazione comune. Clinicamente si presenta come un disturbo del cammino tra i 2 e i 10 anni, seguito dalla difficoltà ad usare le mani, e atrofia in eguale misura. Nelle estremità distali la sensibilità è ridotta. I danni all'udito sono comuni, e spesso si osserva scoliosi. Le conduzioni motorie sono ~10 m/s e le risposte sensitive sono assenti. Le biopsie mostrano un ridotto numero di assoni mielinici e prominenti bulbi di cipolla.

#### CMT4E (OMIM 605253)

Mutazioni recessive in EGR2 causano CMT4E. EGR2 codifica un fattore di trascrizione, EGR2/Krox20, che, insieme ad un altro fattore di trascrizione, Sox10, aumenta l'espressione di molti geni correlati alla mielina. Fino ad oggi è stata trovata un'unica famiglia, in cui tre fratelli hanno una neuropatia demielinizzante grave (diagnosticati come Neuropatia Ipomielinizzante Congenita) causata da una mutazione omozigote Ile268Asn (Warner et al., 1998). I bambini colpiti erano ipotonici alla nascita e avevano sviluppo motorio ritardato. Le ampiezze motorie erano estremamente basse o nulle e la velocità di conduzione era di 3 m/s. Una biopsia ha rivelato una marcata riduzione della quantità di assoni mielinici. Topi omozigoti per la mutazione Ile268Asn inoltre non riescono a mielinizzare, presumibilmente perché questo mutante EGR2 non riesce ad interagire con Nab2, un co-attivatore trascrizionale (Baloh et al. 2009).

#### CMT4F (OMIM 145900)

Mutazioni recessive in PRX causano la CMT4F. PRX codifica periassina, una proteina citoplasmatica che si esprime esclusivamente in cellule di Schwann mielinizzanti. Insieme con DRP2, la periassina sembra essere parte di un complesso che interagisce con il complesso dei distroglicani. Topi privi di PRX hanno canali citoplasmatici difettosi all'esterno della guaina mielinica (chiamati bande di Cajal); questo può rallentare il trasporto intracellulare e risultare in internodi mielinici

abnormemente brevi (e di conseguenza, una conduzione rallentata) (Court et al. 2004), ma resta da dimostrare come tutto questo porti a demielinizzazione.

Gli individui più colpiti hanno ritardo motorio, con sviluppo di debolezza distale delle gambe e atrofia entro i 10 anni e debolezza alle mani entro i 15, seguita da continua e lenta progressione. Inoltre, i pazienti possono avere una atassia sensitiva e parestesie distali. Le risposte motorie e sensitive sono spesso assenti; quando la risposta motoria è presente, la velocità di conduzione è estremamente rallentata (2-3 m/s). Le biopsie nervose mostrano un grave impoverimento di assoni mielinizzati, ed anche bulbi di cipolla. Sono stati segnalati anche alcuni casi più lievi (omozigote sia per una Arg715stop o una mutazione Arg1070stop): i pazienti affetti presentano sempre un esordio precoce di disturbo di deambulazione, ma progressione più lenta, risposte motorie conservate nelle braccia, e più veloce velocità di conduzione motoria (10-20 m/s). Gli effetti più lievi di queste mutazioni possono essere dovuti alla conservazione dell'isoforma breve della periassina; mutazioni che causano il fenotipo più grave influenzano le isoforme sia brevi che lunghe.

#### CMT4G (OMIM 605285)

CMT4G è il nome dato alla CMT-Russe in OMIM. Si tratta di una neuropatia autosomica recessiva che si trova soprattutto negli zingari di etnia "Roma". Essa è stata mappata 10q23.2. Si nota debolezza distale nelle gambe tra 8-16 anni, progressione con l'età fino a quasi completa paralisi delle gambe, accompagnata da deformità del piede. La debolezza delle mani comincia agli inizi dei 20 anni e progredisce anch'essa con l'età. Le risposte nervose sensitive sono assenti e le velocità di conduzione motorie mediane si aggirano sui 33 m/s, senza prolungamento delle latenze distali. Le biopsie nervose sensitive mostrano la perdita delle grosse fibre mieliniche e un notevole numero di gruppi di assoni rigenerati (Thomas et al. 2001). CMT4G sembra essere stata erroneamente classificata: ha più le caratteristiche di una neuropatia assonale primaria che quelle di una neuropatia demielinizzante primaria.

#### CMT4H (OMIM 609311)

Mutazioni recessive in FGD4 causano CMT4H (Delague et al, 2007; Stendel et al, 2007). FGD4 codifica la frabina, un fattore di scambio, ampiamente espresso, per Cdc42, del nucleotide guanina (GEF), una delle piccole rhoGTPasi (tra cui Rac1 e RhoA) che regolano la morfogenesi cellulare, compresa la mielinizzazione. Poiché la forma GTP-legata di Cdc42 è attiva, ci si attende che la perdita di funzione della frabina diminuisca l'attività di Cdc42. La minore demielinizzazione osservata nella CMT4H rispetto ai nervi privi di Cdc42 (nei topi) suggerisce che Cdc42 abbia altri GEFs. Ad ulteriore supporto del ruolo delle RhoGTPasi nella mielinizzazione vi è l'identificazione di una mutazione in un altro GEF, ARHGEF10, in una sindrome asintomatica autosomica dominante con NCV rallentate e guaine mieliniche lievemente più sottili (Verhoeven et al. 2003).

I pazienti sono colpiti clinicamente nella prima decade, o anche da bambini, con grave debolezza distale e perdita di sensibilità. La progressione è lenta. Può essere

presente scoliosi grave. Le risposte sensitive sono assenti, e le risposte motorie agli arti superiori dimostrano un marcato rallentamento (<13 m/s). Le biopsie mostrano grave perdita di assoni mielinizzati e unfolding mielinici che ricordano quelli visti nella CMT4B1 e CMT4B2.

#### CMT4J (OMIM 611228)

Mutazioni recessive in FIG4 causano CMT4J (Chow et al. 2007). FIG4 codifica una PI(3,5) P2 5' fosfatasi. Come MTMR2/13, FIG4 è una fosfatasi, ma forma un complesso con Vac14 e Fab1 chinasi che in definitiva attiva la produzione di PI(3,5) P2. Pertanto, la perdita della funzione FIG4 o Vac14 produce meno, non di più, PIP2 nel lievito e nelle cellule dei vertebrati - l'opposto di quanto ci si aspetta in CMT4B1 e CMT4B2. Oltre al suo particolare fenotipo clinico, si sospetta che anomalie neuronali contribuiscano al fenotipo clinico. Topi Fig4-carenti e privi di Vac14 hanno un neuropatia diffusa (compresi i neuroni sensitivi e motori) con caratteristici vacuoli intracellulari. Tuttavia, ci sono prove convincenti di demielinizzazione in alcuni pazienti con mutazioni FIG4 in eterozigosi composta che producono parziale loss of function nel lievito, e nei topi con mutazioni FIG4 omozigoti, ma il contributo della demielinizzazione al quadro clinico non è chiaro.

Almeno alcuni dei casi di CMT4J sono clinicamente distinti dalla CMT, con bruschi cali di forza, e un aspetto elettrofisiologico di una neuropatia motoria. I sintomi sensitivi sono assenti e i segni sono minimi (Zhang et al. 2008). In linea con questo quadro di neuropatia motoria predominante, altre mutazioni FIG4 causano malattia del motoneurone (Chow et al. 2009).

Baloh RH, Strickland A, Ryu E, Le N, Fahrner T, Yang M, Nagarajan R, Milbrandt J (2009) Congenital hypomyelinating neuropathy with lethal conduction failure in mice carrying the Egr2 I268N mutation. *J Neurosci* 29:2312-2321.

Berger P, Sirkowski EE, Scherer SS, Suter U (2004) Expression analysis of the N-myc downstream-regulated gene 1 (NDRG1) indicates that myelinating Schwann cells are the primary disease target in Hereditary Motor and Sensory Neuropathy-Lom. *Neurobiol Dis* 17:290-299.

Bouhouche A, Birouk N, Azzedine H, Benomar A, Durosier G, Ente D, Muriel MP, Ruberg M, Slassi I, Yahyaoui M, Dubourg O, Ouazzani R, Le Guern E (2007) Autosomal recessive axonal Charcot-Marie-Tooth disease (ARCMT2): phenotype-genotype correlations in 13 Moroccan families. *Brain* 130:1062-1075.

Chow CY, Zhang Y, Dowling JJ, Jin N, Adamska M, Shiga K, Szigeta K, Shy ME, Zhang X, Li J, Lupski JR, Weisman LS, Meisler MH (2007) Mutation of FIG4 causes neurodegeneration in the pale tremor mouse and patients with CMT4J. *Nature* 448:68-72.

Chow CY, Landers JE, Bergen SK, Sapp PC, Grant AE, Jones JM, Everett L, Lenk GM, McKenna-Yasek DM, Weisman LS, Figlewicz D, Brown RH, Meisler MH (2009) Deleterious variants of FIG4, a phosphoinositide phosphatase, in patients with ALS. *Amer J Hum Genet* 84:85-88.

Court FA, Sherman DL, Pratt T, Garry EM, Ribchester RR, Cottrell DF, Fleetwood-Walker SM, Brophy PJ (2004) Restricted growth of Schwann cells lacking Cajal bands slows conduction in myelinated nerves. *Nature* 431:191-195.

Delague V, Jacquier A, Hamadouche T, Poitelon Y, Baudot C, Boccaccio I, Chouery E, Chaouch M, Kassouri N, Jabbour R, Grid D, Megarbane A, Haase G, Levy N (2007) Mutations in FGD4 encoding the Rho GDP/GTP exchange factor FRABIN cause autosomal recessive Charcot-Marie-Tooth type 4H. *Amer J Hum Genet* 81:1-16.

Kalaydjieva L, Nikolova A, Turnev I, Petrova J, Hristova A, Ishpekova B, Petkova I, Shmarov A, Stancheva S, Middleton L, Merlini L, Trogu A, Muddle JR, King RHM, Thomas PK (1998) Hereditary

motor and sensory neuropathy - LOM, a novel demyelinating neuropathy associated with deafness in gypsies - Clinical, electrophysiological and nerve biopsy findings. *Brain* 121:399-408.

Niemann A, Ruegg M, LaPadula V, Schenone A, Suter U (2005) Ganglioside-induced differentiation associated protein 1 is a regulator of the mitochondrial network: new implications for Charcot-Marie-Tooth disease. *J Cell Biol* 170:1067-1078.

Parman Y, Battaloglu E, Baris I, Bilir B, Poyraz M, BissarTadmouri N, Williams A, Ammar N, Nelis E, Timmerman V, DeJonghe P, Necefov A, Deymeer F, Serdaroglu P, Brophy PJ, Said G (2004) Clinicopathological and genetic study of early-onset demyelinating neuropathy. *Brain* 127:2540-2550.

Previtali SC, Quattrini A, Bolino A (2007) Charcot-Marie-Tooth type 4B demyelinating neuropathy: deciphering the role of MTMR phosphatases. *Expert Reviews Mol Med* 9:1-16.

Roberts RC, Peden AA, Buss F, Bright NA, Latouche M, Reilly MM, Kendrick-Jones J, Luzio JP (2010) Mistargeting of SH3TC2 away from the recycling endosome causes Charcot-Marie-Tooth disease type 4C. *Hum Mol Genet* 19:1009-1018.

Stendel C, Roos A, Deconinck T, Pereira J, Castagner F, Niemann A, Kirschner J, Korinthenberg R, Ketelsen UP, Battaloglu E, Parman Y, Nicholson G, Ouvrier R, Seeger J, De Jonghe P, Weis J, Kruttgen A, Rudnik-Schoneborn S, Bergmann C, Suter U, Zerres K, Timmerman V, Relvas JB, Senderek J (2007) Peripheral nerve demyelination caused by a mutant Rho GTPase guanine nucleotide exchange factor, frabin/FGD4. *Amer J Hum Genet* 81:158-164.

Thomas PK, Kalaydjieva L, Youl B, Rogers T, Angelicheva D, King RHM, Guergueltcheva V, Colomer J, Lupu C, Corches A, Popa G, Merlini L, Shmarov A, Muddle JR, Nourallah M, Tournev I (2001) Hereditary motor and sensory neuropathy-Russe: New autosomal recessive neuropathy in Balkan gypsies. *Ann Neurol* 50:452-457.

Vallat JM, Tazir M, Magelaine C, Sturtz F, Grid D (2005) Autosomal-recessive Charcot-Marie-Tooth diseases. *J Neuropathol Exp Neurol* 64:363-370.

Verhoeven K, De Jonghe P, VandePutte T, Nelis E, Zwijsen A, Verpoorten N, DeVriendt E, Jacobs A, Van Gerwen V, Francis A, Ceuterick C, Huylebroeck D, Timmerman V (2003) Slowed conduction and thin myelination of peripheral nerves associated with mutant Rho guanine-nucleotide exchange factor 10. *Amer J Hum Genet* 73:926-932.

Warner LE, Mancias P, Butler IJ, McDonald CM, Keppen L, Koob KG, Lupski JR (1998) Mutations in the early growth response 2 (EGR2) gene are associated with hereditary myelinopathies. *Nat Genet* 18:382-384.

Zhang X, Chow C, Sahenk Z, Shy ME, Meisler MH, Li J (2008) Mutation of FIG4 causes a rapidly progressive, asymmetric neuronal degeneration. *Brain* 131:59-70.

### AR-CMT2: Neuropatia Autosomica Recessiva Assonale (o CMT2B1-5)

Queste sono tutte malattie rare; la maggior parte sono state trovate solo in poche famiglie. Il termine, " neuropatia assonale grave, ad esordio precoce " (Seoan), descrive bene le persone con AR-CMT2C/CMT2B3, AR-CMT2D/CMT2B4 e AR-CMT2E/CMT2B5.

AR-CMT2A/CMT2B1 (OMIM 605588)

Mutazioni recessive di LMNA causano AR-CMT2A/CMT2B1. LMNA codifica un componente dell'involucro nucleare e mutazioni LMNA dominanti sono associate una varietà di sindromi.

La maggioranza degli individui affetti proviene dal nord Africa, dove la mutazione Arg298Cys è comune (Tazir et al. 2004). Per questa mutazione l'età di esordio clinico varia tipicamente da 12 a 24 anni. La progressione può essere sorprendentemente rapida: i muscoli dell'avambraccio possono essere colpiti nel giro di pochi mesi dopo l'esordio, e l'indebolimento delcingolo pelvico nell'arco di 4 anni. Alcuni pazienti, tuttavia, non progrediscono fino al coinvolgimento prossimale degli arti. Gli studi elettrofisiologici sono pienamente coerenti con una neuropatia assonale che colpisce

le fibre mieliniche motorie e sensitive

#### AR-CMT2B/CMT2B2 (OMIM 605589)

Mutazioni recessive in MED25 causano AR-CMT2B/CMT2B2 (Leal et al. 2009). MED25 è una subunità del co-fattore umano attivatore-reclutato (human activator-recruited co-factor), il cui ruolo nella biologia neuronale resta da determinare.

Gli individui affetti hanno avuto esordio clinico tra i 28 e i 42 anni, e sviluppato debolezza e atrofia dei muscoli distali degli arti superiori e inferiori, così come perdita di sensibilità distale. Le risposte nervose sensitive erano tipicamente assenti e le conduzioni motorie dimostravano diversi gradi di rallentamento.

#### AR-CMT2C/CMT2B3 (no OMIM)

Mutazioni recessive in GDAP1 causano AR-CMT2C/CMT2B3, anche se questo deve ancora essere riconosciuto ufficialmente in OMIM (con relativa assegnazione di un numero). GDAP1 è una proteina che è localizzata sulla membrana esterna dei mitocondri, ed è necessaria per la normale fissione (Niemann et al. 2005).

Anche se alcune mutazioni recessive di GDAP1 causano fenotipi più lievi, gli individui con AR-CMT2C/CMT2B3 hanno un esordio precoce (in genere entro i 2 anni), neuropatia progressiva che si traduce in una grave debolezza prossimale e distale, e può causare incapacità di camminare e paresi delle corde vocali (Bouhouche et al. 2007). Le risposte nervose sensitive sono assenti, e le risposte nervose motorie mostrano gradi variabili di rallentamento. Altre mutazioni GDAP1 causano CMT dominante assonale (CMT2K). Deve essere chiarito se altre mutazioni recessive GDAP1 causino veramente una, neuropatia demielinizzante primaria (CMT4A).

#### AR-CMT2D/CMT2B4 (no OMIM)

Mutazioni recessive in MFN2 causano AR-CMT2C/CMT2B4 (Nicholson et al. 2008), anche se questo deve ancora essere riconosciuto ufficialmente dall' OMIM (con relativa assegnazione di un numero). MFN2 è una proteina che è localizzata sulla membrana esterna dei mitocondri ed è necessaria per la normale fusione (vedere sezione CMT2A2).

L'esordio clinico avviene entro i 3 anni e la neuropatia progredisce causando una profonda debolezza distale, atrofia e perdita di sensibilità. Le risposte sensitive sono assenti e le risposte motorie sono minimamente rallentate.

#### AR-CMT2E/CMT2B5 (no OMIM)

Mutazioni recessive in NEFL causano CMT2B5 (Yum et al. 2009), anche se questo deve essere ancora riconosciuto ufficialmente dall' OMIM (e un numero assegnato). NEFL codifica per la subunità leggera, una delle tre subunità che compone i neurofilamenti, che sono l'elemento predominante del citoscheletro negli assoni.

La neuropatia può essere clinicamente rilevata prima dei 2 anni, con ipotonia e ritardo motorio nello sviluppo. Debolezza e perdita di sensibilità progrediscono durante l'infanzia, portando a grave debolezza distale e anche prossimale, e perdita di sensibilità. Le risposte nervose sensitive scompaiono durante l'infanzia, e le risposte motorie e sensitive sono rallentate pienamente nel range demielinizante (~20 m/s). Le biopsie di nervo dimostrano assenza di grosse fibre mieliniche, e gli assoni mancano di neurofilamenti. Sulla base delle analisi di topi e quaglie che presentano mutazioni recessive di Nefl, probabilmente alla base della rallentata conduzione ci sarebbe l'incapacità degli assoni mielinizzati di ingrandirsi normalmente durante lo sviluppo; non si tratta di una vera neuropatia demielinizante.

### Neuropatia Assonale Gigante (OMIM)

Mutazioni recessive in Gigaxonina (GAN) causano neuropatia giganto-assonale, con assoni giganti (Bomont et al. 2000). La Gigaxonina è necessaria per l'ubiquitinazione e la degradazione della catena leggera della proteina 1B associata ai microtubuli (Yang et al. 2007).

In origine i pazienti con neuropatia giganto-assonale sono stati descritti come caratterizzati da esordio infantile di neuropatia assonale, con segni associati a carico del primo motoneurone, del cervelletto, e capelli crespi. Alcuni pazienti, tuttavia, hanno una malattia molto più lieve, con poche manifestazioni cliniche nel SNC, ragion per cui questo disturbo è qui trattato. L'elettrofisiologia dimostra perdita assonale distale e le biopsie di nervo rivelano le caratteristiche figure assionali dilatate contenenti grandi fasci di neurofilamenti (Yang et al. 2007).

Bomont P, Cavalier L, Blondeau F, Hamida CB, Belal S, Tazir M, Demir E, Topaloglu H, Korinthenberg R, Tuysuz B, Landrieu P, Hentati F, Koenig M (2000) The gene encoding gigaxonin, a new member of the cytoskeletal BTB/kelch repeat family, is mutated in giant axonal neuropathy. *Nat Genet* 26:370-374.

Bouhouche A, Birouk N, Azzedine H, Benomar A, Durosier G, Ente D, Muriel MP, Ruberg M, Slassi I, Yahyaoui M, Dubourg O, Ouazzani R, Le Guern E (2007) Autosomal recessive axonal Charcot-Marie-Tooth disease (ARCMT2): phenotype-genotype correlations in 13 Moroccan families. *Brain* 130:1062-1075.

Leal A, Huehne K, Bauer F, Sticht H, Berger P, Suter U, Morera B, Del Valle G, Lupski JR, Ekici A, Pasutto F, Ende S, Barrantes R, Berghoff C, Berghoff M, Neundorfer B, Heuss D, Dorn T, Young P, Santolin L, Uhlmann T, Meisterernst M, Sereda M, Meyer zu Horste G, Nave KA, Ries A, Rautenstrauss B (2009) Identification of the variant Ala335Val of MED25 as responsible for CMT2B2: molecular data, functional studies of the SH3 recognition motif and correlation between wild-type MED25 and PMP22 RNA levels in CMT1A animal models. *Neurogenetics* 10:275-287.

Nicholson GA, Magdelaine C, Zhu D, Grew S, Ryan MM, Sturtz F, Vallat JM, Ouvrier RA (2008) Severe early-onset axonal neuropathy with homozygous and compound heterozygous MFN2 mutations. *Neurology* 70:1678-1681.

Niemann A, Ruegg M, LaPadula V, Schenone A, Suter U (2005) Ganglioside-induced differentiation associated protein 1 is a regulator of the mitochondrial network: new implications for Charcot-Marie-Tooth disease. *J Cell Biol* 170:1067-1078.

Tazir M, Azzedine H, Assami S, Sindou P, Nouioua S, Zemmouri R, Hamadouche T, Chaouch M, Feingold J, Vallat JM, Le Guern E, Grid D (2004) Phenotypic variability in autosomal recessive axonal Charcot-Marie-Tooth disease due to the R298C mutation in lamin A/C. *Brain* 127:154-163.

Yang Y, Allen E, Ding J, Wang W (2007) Giant axonal neuropathy. *Cell Mol Life Sci* 64:601-609.

Yum SW, Zhang J-x, Mo K, Li J, Scherer SS (2009) A novel recessive NEFL mutation causes a severe, early-onset axonal neuropathy. *Ann Neurol* 66:759-770.

## Forme di CMT X-linked

Ci sono sei neuropatie ereditarie X-linked. CMT1X è una neuropatia demielinizzante, ed è discussa sopra. HMN X-linked associata a mutazioni ATP7A (non OMIM) è discussa di seguito.

### CMTX1 (OMIM 302800)

Questo è un nome alternativo per la CMT1X. Il nome CMT1X indica che questa è un neuropatia demielinizzante, non sindromica.

### CMTX2 (OMIM 302801)

CMTX2 mappa Xp22.2 ed è associata a ritardo mentale. Poiché la neuropatia è oscurata da altri elementi di questa sindrome, non è corretto vedere questo disturbo come una forma di CMT.

### CMTX3 (OMIM 302802)

CMTX3 mappa Xq26-q28. Le prime famiglie avevano ritardo mentale e spasticità, ma un'altra non li presentava (Huttner et al. 2006). Maschi affetti hanno una denervazione cronica lunghezza-dipendente, a cominciare dagli arti inferiori nella prima decade; le mani sono colpite più tardivamente. Dolore e parestesie spesso precedono la perdita di sensibilità ed il rallentamento della conduzione nel range intermedio (25-57 m/s). Le risposte sensitive sono tipicamente assenti. Le donne possono essere colpite lievemente.

### CMTX4 (OMIM 310940)

CMTX4 (o sindrome Cowchock) mappa in Xq24-q26; è caratterizzata da neuropatia, perdita dell'udito e ritardo mentale. A causa della natura sindromica di questo disturbo, non è corretto considerare questo disturbo come una forma di CMT.

### CMTX5 (OMIM 301070)

CMTX5 fa parte di un certo numero di sindromi associate a mutazioni in PRPS1 (de Brouwer et al. 2010), ed è associata a sordità e neuropatia ottica (Kim et al., 2007). A causa della natura sindromica di questo disturbo, non è corretto vedere questo disturbo come una forma di CMT.

De Brouwer APM, van Bokhoven H, Nabuurs SB, Arts WF, Christodoulou J, Duley J (2010) PRPS1 mutations: four distinct syndromes and potential treatment. *Am J Human Gen* 86:506-518.  
Huttner IG, Kennerson ML, Reddel SW, Radovanovic D, Nicholson GA (2006) Proof of genetic heterogeneity in X-linked Charcot-Marie-Tooth disease. *Neurology* 67:2016-2021.

Kim HJ, Sohn KM, Shy ME, Krajewski KM, Hwang M, Park JH, Jang SY, Won HH, Choi BO, Hong SH, Kim BJ, Suh YL, Ki CS, Lee SY, Kim SH, Kim JW (2007) Mutations in PRPS1, which encodes the phosphoribosyl pyrophosphate synthetase enzyme critical for nucleotide biosynthesis, cause hereditary peripheral neuropathy with hearing loss and optic neuropathy (CMTX5). *Amer J Hum Genet* 81:552-558.

## Neuropatie Ereditarie Sensitive e Autonomiche e (HSAN)

Nell'HSAN sono colpiti i neuroni e/o gli assoni sensitivi (e variabilmente quelli autonomici).

I Motoneuroni/assoni sono relativamente o completamente risparmiati, tranne che nell'HSAN1. Con la probabile eccezione di NGFB, i geni mutanti sono espressi dai neuroni e probabilmente hanno effetti cell autonomous. Una diminuita sensibilità al dolore è comune a tutte queste malattie, con le tremende conseguenze di una ritardata guarigione, artropatie di Charcot, infezioni, osteomieliti, e amputazioni. Non tutte le cause di un'alterata sensibilità al dolore e/o funzione autonoma, tuttavia, sono associate a neuropatia. Mutazioni recessive in SCN9A, che codifica per il canale Na<sup>+</sup> voltaggio-dipendente, Nav1.7, causa l'assenza di dolore, ma non neuropatia (Indifferenza Congenita al Dolore; OMIM 253000). Non sono elencate, in quanto non è adeguatamente documentata una neuropatia associata, l'Eritromelalgia Primaria (OMIM 133020, causata da mutazioni dominanti in SCN9A), la Sindrome da Dolore Parossistico Estremo (OMIM 167400, causata da mutazioni dominanti in SCN9A), la Sindrome da Sudorazione indotta dal freddo 1 (OMIM 272430, causata da mutazioni recessive in CRLF1), e da Sudorazione indotta da Freddo 2 (OMIM 610313, causata da mutazioni recessive in CLCF1). L'HSAN associata a paraplegia spastica (OMIM 256840, causata da mutazioni recessive in CCT5), non è elencata, perché è una condizione sindromica. Poiché sono state trovate mutazioni in questi geni solo in circa il 20% dei pazienti affetti, molte altre cause rimangono ancora da scoprire (Rotthier et al. 2009). Complessivamente, l'HSAN è il tipo più raro di neuropatia ereditaria; HSAN1, 3, e 4 sembrano essere i sottotipi più comuni.

### HSAN1 (OMIM 162400)

Mutazioni dominanti in SPTLC1 causano HSAN1 (Dawkins et al. 2001). SPTLC1 codifica per la subunità 1 della catena lunga della serina palmitoiltransferasi, l'enzima che catalizza la condensazione di serina e palmitoil-CoA, che è la prima e limitante tappa nella sintesi de novo di ceramide. I mutanti permettono ad altri aminoacidi di essere incorporati al posto della serina (Eichler et al. 2009), ma resta da determinare come ciò si traduca in neuropatia.

Secondo Auer-Grumbach (Auer-Grumbach, 2008), "la caratteristica principale e costante ... è la riduzione della sensibilità, principalmente a carico delle parti distali degli arti superiori e inferiori." L'esordio varia tra il secondo e il quinto decennio, con progressione cronica. Col progredire della malattia, la perdita della sensibilità dolorifica porta a a lesioni trascurate, che possono condurre a osteomielite e



addirittura all'amputazione. Fratture spontanee e articolazioni di Charcot complicano ulteriormente le cose. La debolezza, lunghezza-dipendente, causata dalla perdita assonale motoria insorge successivamente. HSAN1 condivide un quadro clinico simile con CMT2B, tranne per il fatto che alcuni pazienti HSAN1 provano dolore spontaneo. Studi elettrofisiologici documentano perdita di assoni sensitivi e motori in maniera lunghezza- e tempo-dipendente, alcuni pazienti hanno caratteristiche di demielinizzazione (Houlden et al, 2006.). Le biopsie nervose confermano questi risultati elettrofisiologici e le autopsie mostrano una marcata perdita di neuroni sensitivi.

#### HSAN2A (OMIM 201300)

Mutazioni recessive in WNK1 causano HSAN2. WNK1 è un membro della famiglia delle Chinasi Lisina-carenti, e regola la funzione dei canali ionici e trasportatori in una varietà di tipi di cellule, e presumibilmente anche nei neuroni/assoni. Sebbene una delezione totale di WNK1 possa essere letale, la perdita della sola funzione neuronale di WNK, causata da mutazioni in un esone principalmente espresso da neuroni del sistema nervoso periferico, provoca l'HSAN2A (Shekarabi et al. 2008). Una progressiva perdita della sensibilità, inclusa la dolorifica, inizia durante l'infanzia, e può sfociare in ulcere, osteomielite, e amputazione. Non si osserva una palese disfunzione autonoma. Le risposte sensitive sono assenti, mentre le risposte motorie sono normali, e le biopsie nervose sensitive dimostrano una grave perdita di fibre mieliniche ed amieliniche.

#### HSAN2B (OMIM 613115)

Mutazioni recessive in FAM134B causano HSAN2. FAM134B codifica per una proteina del cis-Golgi, ed è fortemente espressa nei neuroni sensitivi, autonomici e del SNC (Kurth et al. 2009). Sensibilità alterata, ulcere mutilanti e artropatia iniziano durante l'infanzia. La conduzione nervosa e le biopsie sembrano mostrare una perdita di assoni sensitivi in maniera lunghezza-dipendente

#### HSAN3/ Disautonomia Familiare/Sindrome di Riley-Day (OMIM 223900)

Mutazioni recessive in IKBKAP causano HSAN3. Molti pazienti sono omozigoti per una mutazione in un sito donatore di splicing; ciò provoca una diminuzione cellulo-specifica nei livelli di proteina IKBKAP. IKBKAP è un componente del complesso Elongator, che ha diverse funzioni cellulari, compresa l'acetilazione dei microtubuli (che aumenta la loro stabilità) e la maturazione neuronale (Creppe et al. 2009). HSAN3 si trova quasi esclusivamente in individui ebrei dell'Europa orientale, 1/30 sono eterozigoti per la mutazione nel sito donatore di splicing (Axelrod e Gold-von Simson, 2007). HSAN3 può essere riconosciuta nei neonati, che hanno ipotermia, problemi di deglutizione, mancanza di lacrimazione, ipotensione posturale, mancanza di papille fungiformi, assenza dei riflessi tendinei profondi, e anomalie al test dell'istamina. Disturbi della motilità gastrointestinale e aspirazione nelle vie respiratorie sono comuni, ed episodi di vomito o di ipertensione possono essere

invalidanti. La perdita della sensibilità al dolore non è così marcata come in altre forme di HSAN ed anche ulcere trofiche, osteomielite e amputazioni sembrano essere meno comuni, ma artropatie di Charcot e fratture non riconosciute sono comunque un problema. Test sensitivi ripetuti indicano che la funzione delle varie modalità sensitive, comprese quelle veicolate dalle grandi fibre mieliniche, diminuisce con l'età. I pochi dati elettrofisiologici indicano che le risposte motorie sono normali, mentre le risposte sensitive sono ridotte e probabilmente scompaiono con l'età. Le biopsie nervose sensitive dimostrano una perdita selettiva di fibre amieliniche e le autopsie dimostrano una perdita di neuroni sensitivi e di alcuni tipi di neuroni autonomici.

#### HSAN4/ Sindrome CIPA (OMIM 256800)

Mutazioni recessive in NTRK1 causano HSAN4. NTRK1 codifica per TrkA, un recettore per il nerve growth factor (NGF), ma anche per la neurotrofina-3. Sulla base della neurobiologia dei topi privi di Ntrk1, i neuroni sensitivi autonomi e quelli piccoli sensitivi probabilmente muoiono in utero, sicché l'HSAN4 è davvero un neuropatia congenita. Questi neuroni, e i neuroni colinergici del prosencefalo basale, esprimono TrkA; l'NGF è probabilmente fornito da altre cellule nel loro ambiente (Bibel e Barde, 1999).

L'acronimo CIPA sta per Congenital Insensitivity to Pain with Anhidrosis (Insensibilità Congenita al Dolore con Anidrosi). In aggiunta a queste caratteristiche, i pazienti possono sviluppare inspiegabili febbri elevate, ulcere, osteomielite, e amputazioni. I pazienti hanno intelligenza ridotta, e spesso mostrano un comportamento auto-mutilante. Le conduzioni sensitive e motorie sono normali poiché non sono interessati i grandi assoni mielinici; le biopsie nervose sensitive dimostrano assenza di assoni amielinici e piccoli assoni mielinici - queste appartengono ai neuroni di cui è nota la dipendenza dall'NGF per la loro sopravvivenza durante lo sviluppo.

#### HSAN5 (OMIM 162030)

In una sola famiglia sono state trovate mutazioni recessive in NGFB come causa di HSAN5. NGFB codifica l'NGF, il principale ligando per il recettore TrkA. L'NGF maturo è un dimero, prodotto dalla scissione proteolitica del pro-NGF. La maggior parte della proteina mutante rimane come pro-NGF (Larsson et al. 2009), che è un ligando per il recettore neurotrofico a bassa affinità, p75, ma non per TrkA. Come nei topi privi di Ntrk1, i neuroni autonomici e quelli piccoli sensitivi probabilmente muoiono in utero nei topi privi di Ngfb, cosicché è verosimile che l'HSAN5 sia un neuropatia congenita (Bibel e Barde, 1999).

La nostra conoscenza di questo disturbo proviene da una sola famiglia con una mutazione missenso Arg211Trp (Einarsdottir et al. 2004). I pazienti che sono omozigoti per questa mutazione sviluppano artropatia di Charcot durante l'infanzia, ma a differenza dei pazienti con HSAN4, hanno una limitata sensibilità al dolore, producono il sudore, e hanno una normale intelligenza; queste discrepanze possono essere dovute alla conservazione del signalling TrkA mediato dalla proteina mutante o da un ligando alternativo, la neurotrofina-3, rispettivamente, nei neuroni nocicettivi, simpatici e colinergici del prosencefalo basale. Le conduzioni nervose sensitive e motorie sono normali; le biopsie mostrano una perdita di assoni

amielinici e piccoli assoni mielinici - proprio quelli di cui è nota la dipendenza dall' NGF per la sopravvivenza durante lo sviluppo. Alcuni pazienti adulti che sono eterozigoti per questa mutazione NGFB sviluppano artropatie di Charcot e sintomi variabili di neuropatia, ma nelle loro biopsie nervose sensitive sono assenti un numero sorprendente di assoni amielinici e mielinici piccoli (Minde et al. 2009). Resta da stabilire se il fenotipo di pazienti eterozigoti sia dovuto ad haplotype insufficiency (insufficienza di aplotipo) o ad un effetto dominante della proteina mutante.

### HSAN con tosse e reflusso gastro-esofageo (OMIM 608088)

HSAN con tosse e reflusso gastro-esofageo è una malattia autosomica dominante che mappa a 3p22-p24 (Spring et al. 2005). I pazienti affetti hanno tosse, probabilmente a causa di una grave reflusso senza paralisi delle corde vocali, e neuropatia sensitiva. I test elettrofisiologici hanno dimostrato ridotte ampiezze sensitive, e le biopsie nervose sensitive hanno mostrato perdita di assoni mielinizzati.

Auer-Grumbach M (2008) Hereditary sensory neuropathy type I. *Orphanet J Rare Dis* 3:7.  
Axelrod FB, Gold-von Simson G (2007) Hereditary sensory and autonomic neuropathies: type II, III, and IV. *Orphanet J Rare Dis* 2:39.  
Bibel M, Barde Y-A (1999) Neurotrophins: key regulators of cell fate and cell shape in the vertebrate nervous system. *Genes Dev* 14:2919-2937.  
Creppe C, Malinouskaya L, Volvert M-L, Gillard M, Close P, Malaise O, Laguesse S, Cornez I, Rahmouni S, Ormenese S, Belachew S, Malgrange B, Chapelle J-P, Siebenlist U, Moonen G, Chariot A, Nguyen L (2009) Elongator controls the migration and differentiation of cortical neurons through acetylation of  $\alpha$ -Tubulin. *Cell* 136:551-564.

Dawkins JL, Hulme DJ, Brahmabhatt SB, Auer-Grumbach M, Nicholson GA (2001) Mutations in SPTLC1, encoding serine palmitoyltransferase, long chain base subunit-1, cause hereditary sensory neuropathy type I. *Nat Genet* 27:309-312.

Eichler FS, Hornemann T, McCampbell A, Kuljis D, Penno A, Vardeh D, Tamrazian E, Garofalo K, Lee HJ, Kini L, Selig M, Frosch M, Gable K, von Eckardstein A, Woolf CJ, Guan GM, Harmon JM, Dunn TM, Brown RH (2009) Overexpression of the wild-type SPT1 subunit lowers desoxysphingolipid levels and rescues the phenotype of HSAN1. *J Neurosci* 29:14646-14651.

Einarsdottir E, Carlsson A, Minde J, Toolanen G, Svensson O, Solders G, Homgren G, Holmberg D, Holmberg M (2004) A mutation in the nerve growth factor beta gene (NGFB) causes loss of pain perception. *Hum Mol Genet* 13:799-805.

Houlden H, King R, Blake J, Groves M, Love S, Woodward C, Hammans S, Nicoll J, Lennox G, O'Donovan DG, Gabriel C, Thomas PK, Reilly MM (2006) Clinical, pathological and genetic characterization of hereditary sensory and autonomic neuropathy type 1 (HSAN I). *Brain* 129:411-425.

Kurth I, Pamminger T, Hennings JC, Soehendra D, Huebner AK, Rotthier A, Baets J, Senderek J, Topaloglu H, Farrell SA, Nürnberg G, Nürnberg P, Jonghe PD, Gal A, Kaether C, Timmerman V, Hübner CA (2009) Mutations in FAM134B, encoding a newly identified Golgi protein, cause severe sensory and autonomic neuropathy. *Nat Genet* 41:1179-1181.

Larsson E, Kuma R, Norberg A, Minde J, Holmberg M (2009) Nerve growth factor R221W responsible for insensitivity to pain is defectively processed and accumulates as proNGF. *Neurobiol*

Disease 33:221-228.

Minde J, Andersson T, Fulford M, Aguirre M, Nennesmo I, Remahl IN, Svensson O, Holmberg M, Toolanen G, Solders G (2009) A novel NGFB point mutation: a phenotype study of heterozygous patients. *J Neurol Neurosurg Psychiatr* 80:188-195.

Rotthier A, Baets J, De Vriendt E, Jacobs A, Auer-Grumbach M, Levy N, Bonello-Palot N, Kilic SS, Weis J, Nascimento A, Swinkels M, Kruyt MC, Jordanova A, De Jonghe P, Timmerman V (2009) Genes for hereditary sensory and autonomic neuropathies: a genotype-phenotype correlation. *Brain* 132:2699-2711.

Shekarabi M, Girard N, Riviere J-B, Dion P, Houle M, Toulouse A, Lafreniere RG, Vercauteren F, Hince P, Laganriere J, Rochefort D, Faivre L, Samuels M, Rouleau G

(2008) Mutations in the nervous system-specific HSN2 exon of WNK1 cause hereditary sensory neuropathy type II. *J Clin Invest* 118:2496-2505.

Spring PJ, Kok C, Nicholson GA, Ing AJ, Spies JM, Bassett ML, Cameron J, Kerlin P, Bowler S, Tuck R, Pollard JD (2005) Autosomal dominant hereditary sensory neuropathy with chronic cough and gastro-oesophageal reflux: clinical features in two families linked to chromosome 3p22-p24. *Brain* 128:2797-2810.

## Neuropatie Ereditarie Motorie (HMN)

L'attuale classificazione è basata sui sette tipi di "neuronopatie ereditarie motorie distali" proposto da Harding (Harding, 1993), in base alle loro caratteristiche cliniche e al meccanismo di trasmissione ereditaria. "Atrofia muscolare spinale distale" è un nome alternativo. Esse possono essere pensate come neuropatie lunghezza-dipendenti dei soli assoni motori, sebbene gli assoni sensitivi possano essere minimamente coinvolti. Se è presente anche una mielopatia (presumibilmente causata da un'assonopatia lunghezza-dipendente di assoni discendenti al midollo spinale), come avviene in HMN V, HMN Jerash, e ALS4, allora questa deve essere distinta dalla sclerosi laterale amiotrofica ereditaria. Una causa genetica è stata trovata in 17/110 di probandi (15%) di pazienti con HMN, e in percentuale un po' più alta per quelli con forma associata a mielopatia (Dierick et al. 2008), cosicché rimangono da scoprire molte cause. Complessivamente, l'HMN può rendere conto di ~10% dei pazienti che sono stati identificati come affetti da CMT (Harding e Thomas, 1980). Mentre si può spiegare concettualmente la vulnerabilità selettiva dei neuroni sensitivi e autonomici nell'HSAN4 e 5, rimane invece inspiegabile la ragione per cui essi siano risparmiati nelle varie forme di HMN.

### HMN I (OMIM 182960)

Il termine di HMN I è stato proposto per una neuropatia motoria ereditaria dominante con esordio tra i 2-20 anni. Anche se ci sono sparsi resoconti clinici di soggetti con questo fenotipo, l'unica causa genetica è stata trovata in una paziente

con una mutazione Pro182Ser in HSPB1, che aveva deambulazione steppante prima dei 10 anni (Kijima et al. 2005).

### HMN II (OMIM 158590, 608634, 613376)

HMN II è stata proposta come neuropatia motoria ereditaria dominante con insorgenza in età adulta. Mutazioni dominanti in HSPB8, HSPB1 e HSPB3 causano questo fenotipo, e sono chiamati HMN IIa, IIb e IIc, rispettivamente. HSPB8, HSPB1 e HSPB3 codificano la proteina 22 da shock termico (HSP22), 27 (HSP27), e 27 kDa, rispettivamente, ognuna delle quali codifica per un membro della famiglia degli 11 “small” HSP. Queste proteine formano tra di loro complessi oligomerici e sono utili a diverse funzioni cellulari, ma il fenotipo comune di queste diverse mutazioni dominanti suggerisce un percorso finale comune verso una neuropatia assonale.

In quattro famiglie con HMN IIa sono state identificate due differenti mutazioni missenso che colpiscono lo stesso aminoacido (Lys141Asn e Lys141Glu) in HSPB8 (Irobi et al. 2004). La mutazione Lys141Asn è stata trovata in due grandi famiglie. In una famiglia, l'età di insorgenza variava tra 14-35 anni. La neurofisiologia clinica ha dimostrato una denervazione lunghezza-dipendente e nessun coinvolgimento dei nervi sensitivi, e la biopsia di un nervo sensitivo in un paziente era normale. (Si noti che la mutazione Lys141Asn è stata riportata anche nell'unica famiglia CMT2L segnalata fino ad oggi (Tang et al, 2005); a differenza dei pazienti HMN IIa, gli individui affetti avevano evidenza clinica, elettrofisiologica ed istologica di coinvolgimento sensitivo assonale). Le HSP22 mutanti mostrano una incrementata interazione con HSP27, che porta alla formazione di aggregati nelle cellule transfettate.

Nove diverse mutazioni missense dominanti in HSPB1 causano HMN IIb (Evgrafov et al, 2004; Houlden et al, 2008); una mutazione (Ser135Phe) è stata riportata anche come causa di CMT2F. L'esordio clinico varia tra i 20 e i 50 anni, ad eccezione di un paziente (con una mutazione Pro182Ser), che aveva steppage prima dei 10 anni (Kijima et al, 2005.); questo potrebbe essere considerato l'unico esempio geneticamente confermato di HMN I. Una mutazione omozigote recessiva (Leu99Met) ha prodotto un fenotipo simile, che dovrebbe probabilmente essere chiamato HMN III, anche se l'età di insorgenza è più avanzata rispetto ai 2-20 anni utilizzati nella classificazione di Harding (1993). L'EMG dimostra grave denervazione nei muscoli ipostenici distali e le anomalie sensitive sono minime o nulle anche se alcuni pazienti hanno ampiezze surali diminuite (Houlden et al. 2008), a sottolineare ancora una volta la difficoltà di separare l'HMN II dalla CMT2. Mutanti HSP27 formano aggregati patologici e possono avere interazioni anomale con le proteine del citoscheletro.

Basandosi sulla osservazione che mutazioni in due differenti HSP causano HMN II, Kolb et al (Kolb et al. 2010) hanno sequenziato i geni di 10 diverse “small” HSP in una coorte di 28 pazienti che avevano una neuropatia assonale inspiegabile. Essi hanno identificato una mutazione in HSPB3 in due sorelle con HMN. La probanda ha sviluppato debolezza distale agli arti inferiori intorno ai 20 anni e aveva anomalie sensitive minime a 51 anni, tra cui una normale ampiezza sensitiva del surale. L'EMG mostrava denervazione acuta e cronica nei muscoli distali.

### HMN III (non OMIM) and HMN IV (OMIM 607088)

HMN III e IV sono state proposte come forme ereditarie recessive di HMN, distinte in base alla loro età di insorgenza e alla gravità. Sono denominate anche Atrofia Muscolare Spinale, Distale, Autosomica Recessiva, 3 (DSMA3) in OMIM. Oltre al paziente con una mutazione omozigote (Leu99Met), un gene che causa questo fenotipo è stato mappato in 11q13 in una grande famiglia, in cui i membri affetti avevano avuto l'esordio clinico tra l'infanzia e l'età adulta (Viollet et al. 2002), così da comprendere sia l'HMN III che la IV.

### HMN V (OMIM 600794)

HMN V è stata proposta come HMN ereditaria dominante con predominanza agli arti superiori. Mutazioni dominanti in Gars (Antonellis et al. 2003) o BSCL2 (Windpassinger et al., 2004) causano questo fenotipo. GARS catalizza la amminoacilazione della glicina al suo tRNA ed è un enzima essenziale espresso in tutte le cellule. Come mutazioni dominanti possano causare una neuropatia motoria (o CTM2D) non è noto.

I pazienti con mutazioni GARS tipicamente presentano debolezza dei muscoli intrinseci della mano, seguiti da quelli distali degli arti inferiori, con esordio clinico tra il secondo e il quarto decennio di vita, con lenta progressione. Alcuni pazienti hanno sensibilità ridotta, forse con diverso grado a seconda della mutazione, contribuendo alla difficoltà nel distinguere HMN V da CMT2D.

BSCL2 codifica per la seipina. Mutazioni loss of function in omozigosi causano lipodistrofia generalizzata congenita di tipo 2, mentre due diverse mutazioni dominanti (Asn88Ser e Ser90Leu), entrambe le quali alterano la glicosilazione, causano HMN V. I mutanti non glicosilati si accumulano nel reticolo endoplasmatico e probabilmente inducono un'unfolded protein response che è presumibilmente dannosa per alcuni tipi neuronali (per esempio, i neuroni motori) che hanno gli assoni più lunghi (Ito e Suzuki, 2007).

Con mutazioni in BSCL2 è spesso presente una mielopatia concomitante (Auer-Grumbach et al, 2005.); questa è nota come sindrome di Silver (OMIM 270685). Anche all'interno della stessa famiglia, una mutazione dominante BSCL2 può produrre un quadro clinico di marcata debolezza dei muscoli intrinseci della mano, con o senza paraparesi spastica, mentre altri membri possono avere paraparesi spastica senza debolezza delle mani (SPG17). Considerati tutti questi fenotipi insieme, l'esordio clinico è raro prima dei 10 anni, e alcuni pazienti non hanno manifestazioni cliniche fino ai 60. Una progressione estremamente lenta è la regola; solo un paziente ha perso la capacità di deambulare.

### HMN VI/SMARD1 (OMIM 604320)

Mutazioni recessive in IGHMBP2 causano HMN VI/SMARD1 (atrofia muscolare spinale con distress respiratorio di tipo 1) / Atrofia muscolare spinale distale di tipo 1. IGHMBP2 è una DNA e RNA elicasi associata ai ribosomi nel citoplasma dei neuroni (Guenther et al. 2009). Le mutazioni associate a HMN VI causano la perdita dell'attività elicasica.

I neonati affetti hanno basso peso alla nascita, difficoltà respiratorie, debolezza distale, contratture, ernia diaframmatica. In un'analisi gerarchica clusterizzata, "la combinazione di 'manifestazione di insufficienza respiratoria tra 6 settimane e 6 mesi' E ('presenza di ernia diaframmatica' O 'parto pretermine') ha predetto la presenza di mutazioni IGHMBP2 con una sensibilità del 98% e una specificità del 92%"(Guenther et al. 2007). Le risposte sensitive sono assenti, e le risposte motorie, se presenti, dimostrano rallentata conduzione che si spiega probabilmente con il sottosviluppo dei diametri assonali osservato nelle biopsie di nervo (similmente ai pazienti con mutazioni NEFL omozigoti recessive). Le biopsie mostrano anche perdita assonale. In un caso autoptico non sembrava esserci perdita di motoneuroni. Quindi l'HMN VI sembra essere una neuropatia assonale congenita letale, ma ci possono essere eccezionalmente pazienti, con una neuropatia grave, che sopravvivono (Joseph et al. 2009).

#### HMN VII (OMIM 158580)

Mutazioni dominanti in DCTN1 causano HMN VIIa, che è caratterizzata da debolezza distale e paralisi delle corde vocali. DCTN1 codifica la subunità p150Glued della dinactina, che è il motore per il trasporto assonale retrogrado. La proteina mutante Gly59Ser ha ridotto legame con i microtubuli e ciò probabilmente si traduce in minore trasporto assonale retrogrado (Puls et al. 2003). Altre mutazioni DCTN1 sono state descritte in pazienti con malattia sporadica del motoneurone; resta da dimostrare se queste mutazioni siano patogene.

E' stata riportata una sola famiglia (Puls et al. 2005). Disfagia, stridore, o debolezza della mano sono i sintomi iniziali, con esordio tra i 23 e i 44 anni; la debolezza si sviluppa successivamente negli arti inferiori ma i pazienti non necessitano di sedia a rotelle. L'abduzione della corda vocale di sinistra è più debole rispetto alla destra, probabilmente a causa della maggiore lunghezza del nervo laringeo ricorrente sinistro. L'abduzione breve del pollice (innervato dal nervo mediano) è più debole e con un potenziale d'azione composto del muscolo più piccolo rispetto all'adduttore del mignolo (innervato dall'ulnare). La valutazione clinica sensitiva e le risposte sensitive sono normali, ma le biopsie cutanee mostrano alcune lievi anomalie. L'autopsia su un paziente affetto ha mostrato "colorazione più intensa e granuli più grossolani e di forma più irregolare" di dinactina e dineina nei motoneuroni dell'ipoglosso.

Una mutazione in 2q14 provoca HMN VIIb (McEntagart et al., 2001). Nell'unica famiglia riportata, debolezza e atrofia si sviluppano tipicamente nella seconda decade, seguita da debolezza distale nelle gambe. La raucedine si sviluppa prima o dopo l'insorgenza della debolezza nelle mani.

#### HMN X-linked associate a mutazioni ATP7A (non OMIM)

Alcune mutazioni in ATP7A causano HMN X-linked (Kennerson et al. 2010). ATP7A codifica per un trasportatore di rame. Le mutazioni con completa loss of function dell'ATP7A causano la Malattia di Menkes (OMIM 309400), e le mutazioni con parziale loss of function causano la Sindrome del Corno Occipitale (OMIM 304150); in nessuna delle due è stata riportata una neuropatia motoria. Inoltre, a differenza

delle due sopraccinate, rame sierico e livelli di ceruloplasmina sono normali nei pazienti con HMN distale X-linked. I mutanti ATP7A associati con HMN distale X-linked sono mutazioni missenso di amminoacidi nel dominio transmembrana; i mutanti avevano un movimento ritardato dal trans-Golgi alla membrana plasmatica in risposta alla presenza di rame.

Debolezza e atrofia in sede distale e minime alterazioni sensitive costituiscono i reperti clinici, con esordio all'età di 1-10 anni per la mutazione Thr994Ile e 10-60 anni per la mutazione Pro1386Ser. I dati elettrofisiologici rispecchiano questi reperti clinici.

#### ALS4 (OMIM 602433)

Mutazioni dominanti in SETX causano HMN/ALS4 (Chen et al. 2004). Queste mutazioni sono distinte dalle mutazioni autosomiche recessive che causano l'atassia con aprassia oculomotoria di tipo 2 (OMIM 208920), una sindrome che include una preminente neuropatia assonale (Anheim et al. 2009). SETX codifica per la senatassina, una DNA e RNA elicasi correlata a IGHMBP2. La senatassina è sparsa attraverso tutta la cellula, ma è particolarmente concentrata nel nucleolo delle cellule differenziate non proliferanti (Chen et al. 2006).

I pazienti in genere diventano sintomatici nella seconda decade, con difficoltà a camminare, seguita da debolezza e atrofia dei muscoli distali degli arti superiori e inferiori. I pazienti che si ritenevano asintomatici avevano segni di coinvolgimento del primo e secondo motoneurone (Rabin et al. 1999). La debolezza era progressiva nei pazienti sintomatici, e coinvolgeva i muscoli prossimali. Spesso vi sono aumento dei riflessi tendinei profondi e risposte cutaneo-plantari in estensione. Gli esami sensitivi sono minimamente alterati e le risposte nervose sensitive sono normali. Le risposte motorie distali hanno ampiezze ridotte o sono assenti, con denervazione lunghezza-dipendente all'esame ad ago. Le autopsie mostrano perdita di assoni mielinizzati nei nervi/radici sia motori che sensitivi, e lieve coinvolgimento del tratto corticospinale laterale.

#### HMN tipo Jerash (OMIM 605726)

HMN tipo Jerash è una neuropatia motoria distale autosomica recessiva che è stata descritta in una famiglia Giordana e mappata in 9p21.1-p12 (Christodoulou et al. 2000). L'esordio clinico è all'età di 6-10 anni, con atrofia e debolezza distali. I pazienti più giovani hanno una mielopatia, ma questi segni progressivamente scompaiono con il progredire della malattia. Gli esami clinici sensitivi sono normali, le risposte nervose sensitive sono normali, e le biopsie di nervo surale mostrano una lieve perdita di fibre mieliniche. Le risposte motorie sono ridotte o assenti nei muscoli distali, con rallentamento della conduzione.

1. Anheim M, Monga B, Fleury M, Charles P, Barbot C, Salih M, Delaunoy JP, Fritsch M, Arning L, Synofzik M, Schols L, Sequeiros J, Goizet C, Marelli C, Ber IL, Koht J, Gazulla J, Bleecker JD, Mukhtar M, Drouot N, Ali-Pacha L, Benhassine T, M. Chbicheb, M'Zahem A, Hamri A,



- Chabrol B, Pouget J, Murphy R, Watanabe M, Coutinho P, Tazir M, Durr A, Brice A, Tranchant C, Koenig M (2009) Ataxia with oculomotor apraxia type 2: clinical, biological and genotype/phenotype correlation study of a cohort of 90 patients. *Brain* 132:2688-2698.
2. Antonellis A, Ellsworth RE, Sambuughin N, Puls I, Abel A, Lee-Lin SQ, Jordanova A, Kremensky I, Christodoulou K, Middleton LT, Sivakumar K, Ionasescu V, Funalot B, Vance JM, Goldfarb LG, Fischbeck KH, Green ED (2003) Glycyl tRNA synthetase mutations in Charcot-Marie-Tooth disease type 2D and distal spinal muscular atrophy type V. *Amer J Hum Genet* 72:1293-1299.
  3. Auer-Grumbach M, Schlotter-Weigel B, Lochmuller H, Strobl-Wildemann G, Auer-Grumbach P, Fischer R, Offenbacher H, Zwick EB, Robl T, Hartl G, Hartung H-P, Wagner K, Windpassinger C (2005) Phenotypes of the N88S Berardinelli-Seip congenital lipodystrophy 2 mutation. *Ann Neurol* 57:415-427.
  4. Chen Y-Z, et al. (2004) DNA/RNA helicase gene mutations in a form of juvenile amyotrophic lateral sclerosis (ALS4). *Am J Hum Genet* 74:1128-1135.
  5. Chen YZ, Hashemi SH, Anderson SK, Huang Y, Moreira MC, Lynch DR, Glass IA, Chance PF, Bennett CL (2006) Senataxin, the yeast Sen1p orthologue: Characterization of a unique protein in which recessive mutations cause ataxia and dominant mutations cause motor neuron disease. *Neurobiol Disease* 23:97-108.
  6. Christodoulou K, Zamba E, Tsingis M, Mubaidin A, Horani K, AbuSheik S, El Khateeb M, Kyriacou K, Kyriakides T, Al Qudah AK, Middleton L (2000) A novel form of distal hereditary motor neuropathy maps to chromosome 9p21.1-p12. *Ann Neurol* 48:877-884.
  7. Dierick I, Baets J, Irobi J, Jacobs A, De Vriendt E, Deconinck T, Merlini L, Van den Bergh P, Rasic VM, Robberecht W, Fischer D, Morales RJ, Mitrovic Z, Seeman P, Mazanec R, Kochanski A, Jordanova A, Auer-Grumbach M, Helderma-van den Enden ATJM, Wokke JHJ, Nelis E, De Jonghe P, Timmerman V (2008) Relative contribution of mutations in genes for autosomal dominant distal hereditary motor neuropathies: a genotype-phenotype correlation study. *Brain* 131:1217-1227.
  8. Evgrafov OV, Mersiyanova I, Irobi J, Van Den Bosch L, Dierick I, Leung CL, Schagina O, Verpoorten N, VanImpe K, Fedotov V, Dadali E, Auer-Grumbach M, Windpassinger C, Wagner K, Mitrovic Z, Hilton-Jones D, Talbot K, Martin JJ, Vasserman N, Tverskaya S, Polyakov A, Liem RKH, Gettemans J, Robberecht W, De Jonghe P, Timmerman V (2004) Mutant small heat-shock protein 27 causes axonal Charcot-Marie-Tooth disease and distal hereditary motor neuropathy. *Nat Genet* 36:602-606.
  9. Guenther U-P, Varon R, Schlicke M, Dutrannoy V, Volk A, Hubner C, von Au K, Schuelke M (2007) Clinical and mutational profile in spinal muscular atrophy with respiratory distress (SMARD): defining novel phenotypes through hierarchical cluster analysis. *Hum Mutat* 28:808-815.
  10. Guenther UP, Handoko L, Lagerbauer B, Jablonka S, Chari A, Alzheimer M, Ohmer J, Plottner O, Gehring N, Sickmann A, von Au K, Schuelke M, Fischer U (2009) IGHMBP2 is a ribosome-associated helicase inactive in the neuromuscular disorder distal SMA type 1 (DSMA1). *Hum Mol Genet* 18:1288-1300.
  11. Harding AE, Thomas PK (1980) Hereditary distal spinal muscular atrophy. *J Neurol Sci* 45:337-348.
  12. Harding AE (1993) Inherited neuronal atrophy and degeneration predominantly of lower motor neurons. In: *Peripheral Neuropathy*, 3rd Edition (Dyck PJ, Thomas PK, Griffin JW, Low PA, Poduslo JF, eds), pp 1051-1064. Philadelphia: W.B. Saunders. Harding AE, Thomas PK (1980) Hereditary distal spinal muscular atrophy. *J Neurol Sci* 45:337-348.
  13. Houlden H, Laura M, Wavrant-De Vrieze F, Blake J, Wood N, Reilly MM (2008) Mutations in the HSP27 (HSPB1) gene cause dominant, recessive, and sporadic distal HMN/CMT type 2.

Neurology 71:1660-1668.

14. Irobi J, Van Impe K, Seeman P, Jordanova A, Dierick I, Verpoorten N, Michalik A, De Vriendt E, Jacobs A, Van Gerwen V, Vennekens K, Mazanec R, Tournev I, Hilton-Jones D, Talbot K, Kremensky N, Van Den Bosch L, Robberecht W, Vandekerckhove J, Van Broeckhoven C, Gettemans J, De Jonghe P, Timmerman V (2004) Hot-spot residue in small heat-shock protein 22 causes distal motor neuropathy. *Nat Genet* 36:597-601.
15. Ito D, Suzuki N (2007) Molecular pathogenesis of seipin/BSCL2-related motor neuron diseases. *Ann Neurol* 61:237-250. Joseph S, Robb SA, Mohammed S, Lillis S, Simonds A, Manzur AY, Walter S, Wraige E (2009) Interfamilial phenotypic heterogeneity in SMARD1. *Neuromusc Disord* 19:193-195.
16. Joseph S, Robb SA, Mohammed S, Lillis S, Simonds A, Manzur AY, Walter S, Wraige E (2009) Interfamilial phenotypic heterogeneity in SMARD1. *Neuromusc Disord* 19:193-195.
17. Kennerson M, Nicholson GA, Kaler SG, Kowalski B, Mercer JFB, Tang J, Llanos RM, Chu S, Takata R, Speck-Martins C, Baets J, Almeida-Souza L, Fischer D, Timmerman V, Taylor PE, Scherer SS, Ferguson TA, Bird TD, De Jonghe P, Feely SME, Shy ME, Garbern JY (2010) Missense mutations in the copper transporter gene ATP7A cause X-linked distal hereditary motor neuropathy. *Am J Hum Genet* 86:343-352.
18. Kijima K, Numakura C, Goto T, Takahashi T, Otagiri T, Umetsu K, Hayasaka K (2005) Small heat shock protein 27 mutation in a Japanese patient with distal hereditary motor neuropathy. *J Hum Genet* 50:473-476.
19. Kolb SJ, Snyder PJ, Poi EJ, Renard EA, Bartlett A, Gu S, Sutton S, Arnold WD, Freimer ML, Lawson VH, Kissel JT, Prior TW (2010) Mutant small heat shock protein B3 causes in motor neuropathy. *Neurology* 74:502-506.
20. McEntagart M, Norton N, Williams H, Teare MD, Dunstan M, Baker P, Houlden H, Reilly M, Wood N, Harper PS, Futreal PA, Williams N, Rahman N (2001) Localization of the gene for distal hereditary motor neuronopathy VII (DHMN-VII) to chromosome 2q14. *Amer J Hum Genet* 68:1270-1276.
21. Puls I, Jonnakuty c, LaMonte BH, Holzbaur ELF, Tokito M, Mann E, Floeter MK, Bidus K, Drayna D, Oh SJ, Brown RHJ, Ludlow CL, Fischbeck KH (2003) Mutant dynactin in motor neuron disease. *Nat Genet* 33:455-456.
22. Puls I, Oh SJ, Sumner CJ, Wallace KE, Floeter MK, Mann EA, Kennedy WR, Wendelschafer-Crabb G, Vortmeyer A, Powers R, Finnegan M, Holzbaur ELF, Fischbeck KH, Ludlow CL (2005) Distal spinal and bulbar muscular atrophy caused by dynactin mutation. *Ann Neurol* 57:687-694.
23. Rabin BA, Griffin JW, Crain BJ, Scavina M, Chance PF, Cornblath DR (1999) Autosomal dominant juvenile amyotrophic lateral sclerosis. *Brain* 122:1539-1550.
24. Tang BS, Zhao GH, Luo W, Xia K, Cai F, Pan Q, Zhang RX, Zhang FF, Liu XM, Chen B, Zhang C, Shen L, Jiang H, Long ZG, Dai HP (2005) Small heat-shock protein 22 mutated in autosomal dominant Charcot-Marie-Tooth disease type 2L. *Hum Genet* 116:222-224.
25. Viollet L, Barois A, Rebeiz JG, Rifai Z, Burlet P, Zarhrate M, Vial E, Dessainte M, Estouret B, Kleinknecht B, Pearn J, Adams RD, Urtizbera JA, Cros DP, Bushby KMD, Munnich A, Lefebvre S (2002) Mapping of autosomal recessive chronic distal spinal muscular atrophy to chromosome 11q13. *Ann Neurol* 51:585-592.
26. Windpassinger C, Auer-Grumbach M, Irobi J, Patel H, Petek E, Horl G, Malli R, Reed JA, Dierick I, Verpoorten N, Warner TT, Proukakis C, Van den Bergh P, Verellen C, Van

Maldergem L, Merlini L, DeJonghe P, Timmerman V, Crosby AH, Wagner K (2004) Heterozygous missense mutations in BSCL2 are associated with distal hereditary motor neuropathy and Silver syndrome. *Nat Genet* 36:271-276.