

HEREDITER NEUROMUSCULARIS BETEGSÉGEK SZŰRÉSE MOLEKULÁRIS GENETIKAI MÓDSZEREKKEL HAZAI ROMA POPULÁCIÓBAN

Herczegfalvi Ágnes¹, Pikó Henriett², Karcagi Veronika²

¹Magyarországi Református Egyház Bethesda Gyermekkorháza, Neurológia Osztály, Budapest

²Országos Környezet-egészségügyi Intézet, Molekuláris Genetikai és Diagnosztikai Osztály, Budapest

SCREENING OF HEREDITARY NEUROMUSCULAR DISORDERS IN THE ROMA POPULATION LIVING IN HUNGARY

Herczegfalvi Á, MD, PhD; Pikó H; Karcagi V, MD, PhD
Idegyogy Sz 2008;61(11–12):426–430.

Számos genetikai betegség esetében bizonyítást nyert, hogy azok bizonyos népcsoportokban gyakrabban fordulnak elő, illetve az adott népcsoportra specifikus mutációk jellemzőek (izolált alapító populációk). A finn és az askenázi zsidó népesség képviseli a legjobb példákat az egyedülálló betegségek génjeinek azonosítására, ahol a hosszú távú kutatási erőfeszítések és jó minőségű orvosi szolgáltatások jelentős eredményeket értek el a betegellátásban, valamint a populációsztintű hordozósági szűrési programok megteremtésében.

A roma populációk öröklődő betegségei már régóta ismertek. Ennek genetikai hátterét az elmúlt évtized molekuláris genetikai vizsgálatai tették teljessé. Hazánk lakosságának több mint 6%-a roma népcsoportba tartozik, akiknek többsége rendkívül rossz egészségügyi körülmények között él. Feladatunk tűztük ki ezért a magyarországi romák öröklődő neuromuscularis betegségeinek feltérképezését, a veszélyeztetett családok felvilágosítását, a lehetséges prevenció alapjainak kidolgozását, amely kiemelt népegészségügyi feladat. Neuromuscularis betegségekből szerzett tapasztalataink alapján hat, gyakori, autoszómális recesszív módon öröklődő betegség vizsgálatát végeztük el a roma népességben: Hereditár motoros és szenzoros neuropathia Lom és Russe típusa, congenitalis cataracta facialis diszormorfizmus szindróma (CCFDN), Limb-Girdle muscularis dystrophy 2C (LGMD2C), congenitalis myasthenia szindróma, valamint spinalis izomatropia. A mutációk azonosítását követően, a prénatalis vizsgálatok felajánlásával, valamint a családtagok hordozóságának szűrésével hozzájárulunk a súlyos kórképek ismétlődési kockázatának a csökkentéséhez.

Kulcsszavak: roma alapító mutációk, hereditár motoros és szenzoros neuropathia Lom típus (HMSNL), hereditár motoros és szenzoros neuropathia Russe típus (HMSNR), congenitalis cataracta facialis diszormorfizmus szindróma (CCFDN), Limb-Girdle muscularis dystrophy 2C (LGMD2C), congenitalis myasthenia szindróma (CMS), spinalis izomatropia (SMA)

Recent medical genetic research has identified a number of novel, or previously known, but rare conditions, caused by private founder mutations. The Finnish and Ashkenazi Jew populations provide the best examples for identifying genes in unique genetic disorders. In these populations, research efforts and high-level medical services resulted in intense improvements of medical care and in organization of population-based screening programs.

Hereditary disorders of the Roma populations are known for a long time. The genetic background of these diseases has been established by extensive molecular genetic studies. The Romas represent 6% of the Hungarian population and live under extremely bad health conditions. Therefore, our aim was to map the incidence of the hereditary neuromuscular disorders among the Hungarian Roma population. Moreover, we intended to provide proper information, genetic counseling and possible prevention strategies for the families at risk, which should represent a primer task in public health. Because of our experience in neuromuscular disorders, we choose six, frequent, autosomal recessive disorders for these clinical and genetic studies: hereditary motor and sensory neuropathy type Lom (HMSNL), hereditary motor and sensory neuropathy type Russe (HMSNR), congenital cataracts facial dysmorphism syndrome (CCFDN), Limb-Girdle muscular dystrophy 2C (LGMD2C), congenital myasthenic syndrome (CMS) and spinal muscular atrophy (SMA). Following identification of the founder mutations, the possibility of prenatal diagnosis and carrier screening for family members will contribute to the decrease of the recurrence risk for these severe, mostly untreatable disorders.

Keywords: gypsy founder mutations, hereditary motor and sensory neuropathy type Lom (HMSNL), hereditary motor and sensory neuropathy type Russe (HMSNR), congenital cataracts facial dysmorphism syndrome (CCFDN), Limb-Girdle muscular dystrophy 2C (LGMD2C), congenital myasthenic syndrome (CMS), spinal muscular atrophy (SMA)

Levelező szerző (correspondent): Dr. Herczegfalvi Ágnes PhD,
Magyarországi Református Egyház Bethesda Gyermekkorháza, Neurológia;
1143 Budapest, Ilka u. 57. Telefon: (1) 363-3901, fax: (1) 383-0575. E-mail: herczegfalvi@bethesda.hu

Érkezett: 2008. augusztus 25. Elfogadva: 2008. szeptember 11.

www.lam.hu

A romák mintegy 1000 éve érkeztek a Balkánra és ezzel egy időben jelentek meg Európában is. Számuk a kutatások adatai alapján mintegy 8-10 millióra tehető Európában. Magyarországra az első roma csoportok a XVII. században érkeztek. A XIX. század második felében mintegy 280 000 cigány élt már a királyi Magyarországon. Az 1971-ben végzett országos kutatás alapján¹ számuk 320 000 fő volt. Az 1971-ben, 1993-ban és 1994-ben végzett szociológiai felmérés szerint a cigány lakosság száma 20 év alatt csaknem 50%-kal emelkedett. Becsült számuk jelenleg mintegy 600 000-re tehető, ami hazánk lakosságának 6%-át jelenti. Az egyes előrejelzések alapján 2015-re a csökkenő összlakosságon belül a cigányság aránya 8% körül lesz Magyarországon¹. A romák ma is sokszor telepeken szegregáltak élnek. Manapság is jellemzőjük a szegénység, az eltérő kulturális, szociális és etnikai vonások, a rokonházasságok. Mindezek a demográfiai és biológiai sajátosságok genetikailag is izolált populáció, founder vagy alapító populáció kialakulásához vezettek. A jelenlegi genetikai kutatások során számos új vagy már korábban is létező, de ritka betegség genetikai hátterét tisztázták.

A romák a legérdekesebb, ámbar legkevesbé vizsgált alapító populációt alkotják Európában. Ázsiai (indiai) származásúak, mára egész Európa területén migrálódtak. Populációs történetük a „genetikai üvegnyak” események következménye, amely szigorú alapító hatáshoz és korlátozott genetikai diverzitáshoz vezetett. Egyedülálló genetikai örökségük csak nemrég került az érdeklődés középpontjába, és számos új betegség, valamint alapító mutáció gyors felfedezéséhez vezetett. A betegek nagyszámú homogén csoportja lehetőséget adott genotípus-fenotípus összefüggések feltárásához is.

A Luba Kalaydjieva²⁻⁴ professzor által vezetett bulgáriai úttörő kutatások számos új neurológiai kórkép azonosításához és jellemzéséhez vezettek: hereditary motor and sensory neuropathy type Lom (HMSNL)^{3, 4} és type Russe (HMSNR)⁴, congenital cataracts facial dysmorphism (CCFDN) syndrome⁵. Közös európai vizsgálatok ugyanakkor ismert, de ritka kórképekben egyedi, alapító mutációk leírásához vezettek^{6, 7}, például a Limb-Girdle muscular dystrophy 2C (LGMD2C), congenitalis myasthenia syndrome (CMS) és a spinalis muscularis atrophia (SMA)⁸ betegségekben. A bulgáriai romák körében végzett átfogó klinikai epidemiológiai felmérések alapján az autoszomális recesszív neuromuscularis betegségek nagy előfordulási gyakoriságára, valamint súlyos orvosi és szociális következményükre derült fény^{9, 10}. A molekuláris genetikai kutatások és a betegséget okozó mutációk azonosításának gyors fejlődése tette lehetővé a molekuláris epidemiológiai vizsgálatokat. A hordozószűrés és a genetikai ta-

nácsadási programok, amelyet bolgár neurológusok és genetikusok kezdeményeztek a roma közösségekben, jó fogadtatásra találtak és bebizonyították az állandó egészségvédelmi oktatási kampány, valamint a célzott genetikai szűrés szükségességét, amely hozzájárul a genetikai információ hatékonyabb felhasználásához a családtervezésben.

Neuromuscularis betegségekben szerzett tapasztalataink révén hat, gyakori autoszomális recesszív módon öröklődő betegség vizsgálatát végeztük el a roma népességben.

Herediter neuromuscularis betegségek a roma populációban

CONGENITALIS MYASTHENIA SZINDRÓMA (CMS)

Az acetil-kolin receptor (AchR) ϵ alegységének 12. exonjában homozigóta bázispár-deléció (ϵ 1267delG) fordul elő, amely *alapító mutáció* a romák körében. Előzetes populációgenetikai vizsgálatok alapján 4,9%-os heterozigótagyakoriságot tapasztaltak.

SPINALIS IZOMATROPHIA (SMA)

Többéves tapasztalat alapján a betegség gyakrabban fordul elő a roma populációban a gyakori rokonházasságok miatt. Kiemelt feladat a betegség-hordozószűrésének mielőbbi bevezetése, valamint az érintett családok részére a prenatalis vizsgálatok felajánlása.

VÉGTAGÖVI IZOMDYSTROPHIA (LGMD2C)

A szintén *alapító mutáció* miatt a roma lakosság körében gyakoribb előfordulású LGMD2C típusú végtagövi izomdystrophia (úgynevezett sarcoglycanopathia) betegségben megvalósítjuk a betegek genetikai diagnosztizálását és a fokozott kockázatnak kitett populáció hordozószűrését.

CONGENITALIS CATARACTA, FACIALIS DYSMORPHIA NEUROPATHIA (CCFDN)

A (18q23-qter)-hordozószűrés ráta a roma populációban 6,9%. Jellemző tünetei: facialis dysmorphia, amely a betegek 80%-ában fordul elő. Hypogonadismus, kyp-hoscoliosis, pes cavus, pes equinovarus még a jellemző tünetek. Szemtünetek, például congenitalis zonularis cataracta a betegek 100%-ában észlelhető, továbbá előfordulhat még microcornea, nystagmus, strabismus. Neuropathia a betegség kezdetén nem mindig észlelhető. Az alsó végtagi motoros, szenzoros tünetek kifejezettek (demyelinisációs polyneuropathia), ké-

1. táblázat. A molekuláris genetikai vizsgálatok eredményei

Betegség	Gén	Mutáció aminosavcsere	Család/beteg
Limb–Girdle muscularis dystrophia 2C (LGMD2C)	γ -sarcoglycan	C283Y	négy családban hat beteg, ebből négy igazolt
Herediter szenzomotoros neuropathia Lom típus (HSMNL)	N-myc downstream-regulated gene 1 (NDGR1)	R148X	öt családban öt beteg, ebből három igazolt, hét családtag, ebből három heterozigóta
Herediter szenzomotoros neuropathia Russe típus (HSMNR)	10q22 locusban, gén még ismeretlen	–	egy beteg homozigóta, egy beteg heterozigóta a feltételezett mutációra
Congenitalis cataracta facialis diszmozgás neuropathia szindróma (CCFDN)	RNS polimeráz II C-terminal-domain phosphatase (CTDP1)	IVS6+389C→T	hat családban hét beteg, ebből két igazolt, hat családtag
Congenitalis myasthenia szindróma (CMS)	acetil-kolin receptor ϵ alegysége (CHRNE)	1267delG frameshift	47 családban 65 beteg, ebből 63 ϵ 1267delG, két betegben ϵ 1267delG + ϵ C812T összetett mutáció, 90 családtag, ebből 78 heterozigóta
SMA	survival of motoneuron gén (SMN1)	7. (és 8.) exon homozigóta deléciója	37 családban 47 beteg, ebből 33 deléció, 87 családtag, 17 prenatalis vizsgálat, ebből 14 egészséges

sőbb a felső végtagi gyengeség is megjelenik. Tremor, ataxia és choreiform mozgások jellemzőek. A betegek a harmadik évtized táján válnak mozgásképtelenné, valamint a mentális retardáció kifejezett lehet.

HEREDITER MOTOROS-SZENZOROS NEUROPATHIA

A (HMSN-L) (8q24) és (HMSN-R) (10q23) demyelinációs polyneuropathia halláscsökkenéssel, amelyet először Bulgáriában élő roma populációban írtak le. Haplotípus-analízis segítségével lokalizálták a gént a 8q24 locuson. A perifériás idegek biopsziájából végzett neuropatológiai vizsgálatok a myelin pusztulását mutatták, hagymastruktúra-képződés nélkül.

AUTOSZOMÁLIS RECESSÍV PERIFÉRIÁS NEUROPATHIA (CMT4C)

Az (5q32) számos európai roma populációban, különösen a spanyol területeken élők körében fellelhető perifériás neuropathia vizsgálata új mutáció – p.Arg1109X – felfedezését eredményezte a CMT4C génben. Feltételezhető, hogy számos más európai országban fellelhető ez a mutáció, amelynek vizsgálata közelebb visz az alapító mutáció-hoz.

Betegek és módszerek

2003-tól kezdődően öt év alatt összesen 144 roma beteg jelentkezett vizsgálatra. A betegeket az or-

szág egész területéről küldték neuromuscularis betegség gyanúja miatt.

A részletes anamnéziszfelvétel után klinikai elektrofiziológiai vizsgálatokat végeztünk megközelítő diagnózis felállítása céljából. A klinikai vizsgálatok eredményét számítógépben rögzítettük. Az elektrofiziológiai vizsgálatokat négycsatornás Keypoint elektromiográfiás (EMG) -készülékkel (Dantec) végeztük, amely során egy vagy több perifériás ideget (motoros és szenzoros) és legalább kettő vagy több izmot (proximalis, distalis) vizsgáltunk tüelektróddal, standard módszer szerint.

Az anamnézis adatain kívül családfafelvétel történt (a betegségek családon belüli megjelenésének kiderítésére), és törekedtünk a romák népcsoportok szerinti besorolására is. *Azokat a betegeket soroltuk ebbe a csoportba, akik roma származásúnak vallották magukat.*

Ebből a célból kérdőívet állítottunk össze, amelyet az első vizsgálat során a családdal együtt kitöltöttünk. A kérdőív szempontjainak összeállításában segítségünkre voltak a hazai szociológiai kutatások eredményei (Kemény I. és munkatársai adatai).

Ezt követően neuromuscularis betegség gyanúja esetén az érintettek megfelelő felvilágosítása (a klinikai, elektrofiziológiai és genetikai vizsgálatokról, azok hasznáról a gyermek és a család számára) és beleegyező nyilatkozat aláírása után került sor a vérvételekre. Izombetegség gyanúja esetén először tájékoztató vizsgálatokat végeztünk (szérumban kreatinkináz, alanin-aminotranszferáz, aszpartát-

aminotranszferáz). CMS esetén AchR-ellenes ellenanyag-meghatározás is történt. Elektrofiziológiai vizsgálatokat [elektroencefalogram (EEG), elektromiográfia (EMG), decrement] végeztünk, és a rutinvizsgálatokkal együtt vért vettünk molekuláris genetikai vizsgálatra (illetve DNS-izolálásra), diagnosztikai céllal és majdani génbank létrehozására, az adatvédelemre vonatkozó szabályok betartásával. Így összesen 100 családból 131 beteg és 190 családtag vérmintáját gyűjtöttük össze.

Következő lépésként elvégeztük a molekuláris genetikai vizsgálatokat polimeráz-lánreakció (PCR), reverz transzkriptáz (RT) módszerekkel.

Az alábbi alapító mutációkat vizsgáltuk: Limb-Girdle muscularis dystrophia 2C (LGMD2C)- γ -szarkoglikán gén, C283Y-mutáció¹¹, hereditár motoros és szenzoros neuropathia Lom típus (HSMNL), N-myc downstream-regulated gene 1 (NDGR1) gén, R148X-mutáció^{12, 13}, hereditár motoros és szenzoros neuropathia Russe típus (HSMNR) 10q22 locusban, a gén még ismeretlen^{3, 7}, congenitalis cataracta facialis dysmorphismus neuropathia szindróma (CCFDN), RNA polimerase II C-terminal-domain phosphatase (CTDP1) gén, IVS6+389C→T mutáció^{14, 15}, congenitalis myasthenia szindróma (CMS) acetil-kolin receptor ϵ alegysége (CHRNE) gén, 1267delG frameshift mutáció^{16, 17}, SMA survival of motoneuron gén (SMN1) gén 5q13.1 locus 7. (és 8.) exon homizigóta deléciója¹⁸⁻²¹.

A vizsgálatokba ritka betegség esetén a külföldi partnereket is bevontunk a már korábban kialakult európai és nemzetközi együttműködések keretein belül (LMU Genzentrum, München; University of Western Australia, Perth).

Eredmények

A kitűzött feladatoknak megfelelően elvégeztük a roma populáció célzott klinikai és molekuláris genetikai diagnosztikai vizsgálatát hat, gyakori autoszomális recesszív módon öröklődő betegségben kiemelten a roma népességben. A vizsgálatok során fontosnak tartottuk a romák népcsoportok szerinti besorolását (a nyelvhasználat alapján), amelynek populációgenetikai jelentősége van. A laboratóriumi vizsgálatok során csak az LGMD-csoportba sorolt betegek esetében (hat beteg) igazoltunk emelkedett szérumszintű CK-értéket (normálérték <100 U/l), a többi esetben az normális volt.

Az elektrofiziológiai vizsgálatok eredményei az egyes betegek esetében megerősítették a feltételezett diagnózist (motoros, szenzoros idegvezetési sebesség mérése, proximális, distális izmok túlelektrodás vizsgálata). A CMS-ben (65 beteg) szenvedők csoportjában minden új esetben repetitív ingerléses vizs-

gálat is történt. Az AchR-ellenes ellenanyag vizsgálata során normális (<1,0 pm/btx) eredményt kaptunk.

A molekuláris genetikai vizsgálatok eredményeit az **1. táblázatban** foglaltuk össze.

Vizsgálataink alapján a CMS fordult elő a legnagyobb számban (49,6%) a vizsgált roma populációban. A jellegzetes klinikai tüneteket mutató betegek mindegyike esetében igazoltuk a founder mutációt.

Az SMA betegség nem romaspecifikus, de betegek között gyakrabban (35,87%) fordult elő, feltehetően a roma populációban gyakori rokonháztasságok miatt. A többi betegség (LGMD2C, HSMNL, HSMNR, CCFDN) közel egyenlő arányban volt reprezentált beteganyagunkban (összesen 14,53%). A vizsgált kis betegszám nem elegendő messzemenő következtetések levonására.

A további vizsgálatok és az eredmények értékelése, új betegségek feltérképezése szükséges a veszélyeztetett családok kiszűréséhez és az alapító mutációk igazolásához.

Megbeszélés

Az Európai Unió irányadó elvei között előkelő helyet foglal el az esélyegyenlőség, illetve a kisebbségek védelme és tiszteletben tartása. Ezt a megállapítást az egészségügy területén is meghatározónak tartjuk, ugyanis nehezített a társadalomból kirekesztett lakossági csoportok, illetve a telepeken lakók hozzáférése az alapvető egészségügyi szolgáltatásokhoz (házi orvosi ellátás, sürgősségi betegellátás, szűrő-gondozó vizsgálatok). Ezek pontos feltárása, illetve a társadalomból kirekesztett lakossági csoportokat ellátó rendszer pontos feltérképezése elengedhetetlen a szükséges lépések megtervezéséhez. Szükséges lenne a társadalomból kirekesztett lakossági csoportok, ezen belül a romákra irányuló fokozottabb és/vagy nagyobb kiterjedtségű szűrővizsgálatok rendszeres végrehajtása.

A veszélyeztetett népcsoportra jellemző betegségspektrum, előfordulási gyakoriság és mutációhordozósági frekvencia ismerete olyannyira fontos, hogy ezen túl az országos újszülöttkori kötelező szűrések bevezetése is. Ez, bizonyos betegségek esetében, megteremti a korán megkezdett gyógyszeres terápia lehetőségét. A genetikai szűrővizsgálatok bevezetése a tünetmentes heterozigóták azonosítására megteremtené továbbá a genetikai tanácsadás és a prevenció lehetőségét is a veszélyeztetett populációban.

Feladatul tűztük ki a magyarországi romák öröklődő neuromuscularis betegségeinek a feltérképezését, a veszélyeztetett családok felvilágosítását, a lehetséges prevenció alapjainak kidolgozását, amely kiemelt népegészségügyi feladat.

Kiterjedt klinikai és genetikai munkánk során 100 család 131 betegét vizsgáltuk meg, és közülük 75 esetben (55,6%) sikerült igazolni az ismert alapító mutációt a betegség hátterében. A congenitalis myasthenia szindróma esetében a patológiás folyamat ismerete (AchR-receptor kóros működése) egyedülálló lehetőséget ad a betegség gyógyszeres kezelésére és a beteg életvitelének jelentős javítására. A genetikai tanácsadás és a prenatális vizsgálat ebben a betegségben lehetővé teszi a prevenciót. A többi, jelenleg nem gyógyítható betegségben a szekunder prevenció biztosítása segíthet az érintett családokon. A vizsgálatok eredményének birtokában lehetővé válik a veszélyeztetett családok felvilágosítása és prenatális vizsgálatok felajánlása a mutációk azonosítását követően ezekben a súlyos kórképekben.

KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

Köszönettel tartozunk számos kollégának, gyermekneurológusoknak, gyermekgyógyászoknak, gyógygy-

tornászoknak, akik a betegeket ambulanciánkra irányították és később, már a diagnózis birtokában gondjukat viselték, viselik. Köszönetet mondunk az ÁEK Hematológiai és Immunológiai Intézet Molekuláris Diagnosztikai Osztály Genetikai Laboratóriuma vezetőjének, dr. Tordai Attilának és munkatársainak, akik az AchR-ellenes ellenanyag-meghatározást végezték, segítve diagnosztikai munkánkat.

Köszönet illeti továbbá Czibalmos Andrásné, Gogolak Ferencné és Gönczi Józsefné asszisztenseket, akik a molekuláris genetikai vizsgálatokban segítettek munkánkat. Nagyra értékeljük Sós Gabriella segítségét a családok adatainak rögzítésében.

Külön köszönjük Kemény István értékes tanácsait, útmutatását a roma populáció szociológiai aspektusainak jobb megértésében, a romák népcsoportok szerinti besorolásában és az ehhez szükséges kérdőív kialakításában.

A kutatómunka az ETT pályázattal (197/2006) nyert kutatási támogatás segítségével készült.

IRODALOM

1. Kemény I. A magyarországi romák. Változó Világ 31, Press Publica,
2. Kalaydjieva L, Voit T. HMSNL in a 13-year-old Bulgarian girl. Baethmann M, Gohlich-Ratmann G, Schroder JM. *Neuromuscul Disord* 1998;8(2):90-4.
3. Hantke J, Rogers T, French L, Tournev I, Guerguelcheva V, Urtizbera JA, et al. Refined mapping of the HMSNR critical gene region—construction of a high-density integrated genetic and physical map. *Neuromuscul Disord* 2003;9(9):729-36.
4. Thomas PK, Kalaydjieva L, Youl B, Rogers T, Angelicheva D, King RM, et al. Hereditary motor and sensory neuropathy-Russe: new autosomal recessive neuropathy in Balkan Gypsies. *Ann Neurol* 2001;50:452-7.
5. Merlini L, Gooding R, Lochmüller H, Müller-Felber W, Walter MC, Angelicheva D, et al. Genetic identity of Marinesco-Sjögren myoglobinuria and CCFDN syndromes. *Neurology* 2002;58:231-6.
6. Navarro C, Teixeira S. Neuromuscular disorders in the Gypsy ethnic group: a short review. *Acta Myol* 2003;22:11-4.
7. Kalaydjieva L, Gresham D, Calafell F. Genetic studies of the Roma (Gypsies): a review. *BMC Medical Genetics* 2001;2:5.
8. Jordanova A, Kargaci V, Kremensky I, Litvinenko I, Uzunovac M, Turnev D, et al. Spinal muscular atrophy among the Roma (Gypsies) in Bulgaria and Hungary. *Neuromuscular Disorders* 2002;12:378-5.
9. Kalaydjieva L, Morar B, Chaix R, Tang H. Newly discovered founder population: the Roma/Gypsies. *BioEssays* 2005;27:1084-94.
10. Tournev I, Kalaydjieva L, Youl B, et al. Congenital cataracts facial dysmorphism neuropathy syndrome, a novel complex genetic disease in Balkan Gypsies: clinical and electrophysiological observations. *Ann Neurol* 1999;45:742-50.
11. Merlini L, Kaplan JC, Navarro C, Barois A, Bonneau D, Brasa J, et al. Homogeneous phenotype of the Gypsy limb-girdle MD with the gamma-sarcoglycan C283Y mutation. *Neurology* 2000;54:1075-9.
12. Kalaydjieva L, King R, Gresham D, Molnar M, Tournev I, Angelicheva D, et al. Hereditary motor and sensory neuropathy Lom. *Acta Myologica* 2001c;XX:192-201.
13. Kalaydjieva L, Gresham D, Gooding R, Heather L, Baas F, deJonge R, et al. N-myc downstream-regulated gene 1 is mutated in hereditary motor and sensory neuropathy – Lom. *Am J Hum Genet* 2000;67:47-58.
14. Varon R, Gooding R, Steglich Ch, et al. Partial deficiency of the C-terminal-domain phosphatase of RNA polymerase II is associated with congenital cataracts facial dysmorphism neuropathy syndrome. *Nat Genet* 2003;2:185-9.
15. Tournev I, Kalaydjieva L, Youl B, Ishpekova B, Guerguelcheva V, Kamenov O, et al. Congenital cataracts facial dysmorphism neuropathy syndrome, a novel complex genetic disease in Balkan Gypsies: clinical and electrophysiological observations. *Ann Neurol* 1999;45:742-50.
16. Morar B, Gresham D, Angelicheva D, Tournev I, Gooding R, Guerguelcheva V, et al. Mutation history of the Roma/Gypsies. *Am J Hum Genet* 2004;75:596-609.
17. Abicht A, Stucka R, Karcagi V, Herczegfalvi A, Horvath R, Mortier W, et al. A common mutation (epsilon1267delG) in congenital myasthenic patients of Gypsy ethnic origin. *Neurology* 1999;53:1564-9.
18. van der Steege G, Grootsholten PM, van der Vlies P, Draaijers TG, Osinga J, Cobben JM, et al. PCR-based DNA test to confirm clinical diagnosis of autosomal recessive spinal muscular atrophy. *Lancet* 1995;345(8955):985-6.
19. van der Steege G, Grootsholten M, Cobben JM, et al. Apparent gene conversions involving the SMN gene in the region of the spinal muscular atrophy locus on chromosome 5. *Am J Hum Genet* 1996;59:834-8.
20. Lefebvre S, Burlet P, Liu Q, Bertrand S, Clermont O, Munnich A, et al. Correlation between severity and SMN protein level in spinal muscular atrophy. *Nature Genet* 1997;16:265-9.
21. Jordanova A, Stoyanova V, Uzunova M, Litvinenko I, Kremensky I. Deletion analysis in Bulgarian patients with SMA. *Hum Mutat* 1998;12:33-8.